На правах рукописи

Якушева
Янина Анатольевна

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* PAL. В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ КАРБАМИНОВЫМИ ПЕСТИЦИДАМИ

03.02.08 — Экология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Краснодар — 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор,
Пескова Татьяна Юрьевна (г. Краснодар)

Официальные оппоненты: **Романова Елена Борисовна**,
доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», профессор кафедры экологии (г. Нижний Новгород)
Замалетдинов Ренат Ирекович,
кандидат биологических наук, Институт управления, экономики и финансов Казанского (Приволжского) федерального университета, старший преподаватель кафедры природообустройства и водопользования (г. Казань)

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» (г. Саранск)

Защита состоится «29» апреля 2015 г. в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.101.14 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет», адрес: 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «КубГУ» и на сайте: http://www.kubsu.ru/.

Автореферат разослан «25» февраля 2015 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета Букарева Ольга Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Земноводные — удобный модельный объект для оценки экологического состояния наземных и водных экосистем. Способность поглощать и накапливать ксенобиотики (в том числе и пестициды), высокая чувствительность клеток к разного рода воздействиям, разнообразные реакции многих систем органов, которые можно достаточно легко фиксировать, позволяют использовать данную группу позвоночных в качестве биоиндикаторов состояния окружающей среды [Кожуро, Семенчик, Афонин, 2003].

В ряду наиболее распространённых факторов, влияющих на популяции амфибий в результате человеческой деятельности, ведущее место занимают разрушение среды обитания (биотопов) и химическое загрязнение. Изменения химического состава водной среды оказывают стрессирующее действие на земноводных, жизнедеятельность которых непосредственно связана с водоёмами, что приводит к изменению их морфологических и морфофизиологических параметров, происходят изменения количественных и качественных параметров внутренней среды организма.

Рассматривая загрязнители как факторы среды Л. А. Лесников [1970], выделяет три типа прямого воздействия загрязнения. Первый — гибель определённой части популяции: молодых, половозрелых самок и самцов или особей одного пола (чаще самцов). Второй — загрязнение влияет на физиологическое состояние организмов, например, на обмен веществ. При этом происходит сокращение варьирования признаков, определяющих нормальное состояние особей. Третий — нарушение процессов овогенеза и эмбриогенеза, приводящее к прекращению размножения или появлению нежизнеспособного потомства. Наиболее сильное воздействие оказывается при постоянном присутствии загрязнителей в водоёме.

В настоящее время в сельском хозяйстве широко используются пестициды различной природы, в том числе и карбаминовые. Эта группа пестицидов появилась достаточно давно, их влияние на сельскохозяйственных животных и растений было изучено [Оськина, 1984; Часовников, 2003]. Однако воздействие карбаминовых пестицидов на представителей фауны «дикой природы», то есть неценных в сельскохозяйственном смысле животных изучено отрывочно.

Карбаминовые пестициды попадают в водоёмы в результате сброса воды с рисовых полей (ялан), смыва с обрабатываемых территорий дождевыми и паводковыми водами (эптам), обнаруживаются в оросительных каналах, реках и водохранилищах (севин) [Перевозченко, 1975]. Их летальные и сублетальные концентрации изменяют численность животных в природных водоёмах, а эффективные концентрации влияют на обмен веществ, изменяя гематологические, иммунные, эндокринные, репродуктивные показатели.

При изучении влияния токсикантов на земноводных необходимо исследование популяционных характеристик того или иного вида в природных условиях (численность, структура популяции половая, возрастная, фенетическая и др.), то есть проведение биоиндикационных исследований. Одновременно целесообразно в ходе биотестирования поллютанта экспериментальным путём определить

степень влияния различных концентраций того же токсиканта на животных. Изучение в лабораторных условиях воздействия стрессирующего фактора на выживаемость животных на ранних этапах онтогенеза, исследование физиологических особенностей взрослых особей даёт возможность выявить репрезентативные биологические показатели карбаминового загрязнения водоёмов.

Степень разработанности темы. Хотя земноводные достаточно часто используются для проведения эколого-токсикологических исследований влияния токсикантов различной природы, но специальных комплексных работ по изучению воздействия карбаминовых пестицидов на земноводных ранее не проводилось.

Цель и задачи исследования. *Цель диссертационного исследования* — определить динамику организменных и популяционных показателей озёрной лягушки под действием различных концентраций карбаминовых пестицидов феноксикарба и карбарила.

Для достижения цели были решены следующие *задачи*:

1. Выявить численность и структуру популяций озёрной лягушки в чистых и загрязнённых карбаминовыми пестицидами водоёмах.
2. Определить степень зрелости гонад самок и самцов озёрной лягушки из водоёмов с различным уровнем загрязнения карбаминовыми инсектицидами.
3. Определить особенности характеристик раннего онтогенеза озёрной лягушки под действием различных концентраций карбаминовых пестицидов.
4. Экспериментальным путём оценить изменения гематологических показателей озёрной лягушки, происходящих под влиянием карбарила и феноксикарба.
5. Определить пороговые, эффективные и летальные концентрации указанных пестицидов для озёрной лягушки.

Научная новизна исследования. Впервые прослежены особенности влияния одних и тех же концентраций карбаминовых пестицидов (в пределах 1—10 ПДК) на озёрную лягушку на уровне целого организма и его отдельных органов. Установлены гематологические показатели взрослых особей озёрной лягушки, определена динамика развития головастиков озёрной лягушки в тех же концентрациях. Выявлены особенности репродуктивной системы половозрелых самцов и самок из чистых и загрязнённых карбаминовыми пестицидами водоёмов. Дифференцированы адаптивные и патологические процессы, происходящие под влиянием карбаминовых пестицидов в организме озёрной лягушки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлены изменения основных цитогематологических и репродуктивных показателей озёрной лягушки под влиянием карбаминовых инсектицидов различных концентраций. Рассмотрены особенности развития головастиков озёрной лягушки в растворах указанных пестицидов. Выявлены отличия в структуре популяций озёрной лягушки из чистого и загрязнённого карбаминовыми препаратами водоёмов.

Основные положения и выводы диссертации используются в учебном процессе кафедр зоологии, водных ресурсов и аквакультуры ФГБОУ ВПО «КубГУ».

Методология и методы исследования. Методология данной диссертационной работы базируется на комплексном использовании двух подходов, применяемых в эколого-токсикологических исследованиях — лабораторному

биотестированию токсикантов (карбаминовых пестицидов) и полевым исследованиям в водоёмах.

Основными лабораторными методами, использованными в работе, являются методы проведения экспериментов с личинками бесхвостых амфибий [Пястолова, 1989], а также проведения гематологических экспериментов с взрослыми особями [Кудрявцев, Кудрявцева, 1969; Кост, 1973] и приготовления срезов гонад по методике [Ромейс, 1954; Роскин, Левинсон, 1957]. При проведении полевых исследований был использован метод количественного учёта земноводных [Щербак, 1989].

Положения, выносимые на защиту.

1. В водоёмах, загрязнённых карбаминовыми пестицидами, отмечена более низкая численность, а также иное соотношение особей разных морф, полов и возрастных групп в популяциях озёрной лягушки по сравнению с популяциями из чистых водоёмов.

2. Карбаминовые пестициды оказывают на озёрную лягушку дозозависимое воздействие. Феноксикарб оказывает более сильное токсическое воздействие, чем карбарил.

3. Физиологические изменения озёрной лягушки (репродуктивная система, гематологические показатели) можно использовать для диагностики карбаминового загрязнения биотопов.

4. Озёрная лягушка адаптируется к концентрациям карбаминовых пестицидов равных 1 ПДК на всех стадиях онтогенеза, к концентрациям 2—4 ПДК адаптируются только взрослые особи, в концентрациях равных 10 ПДК у лягушек отмечены только патологические процессы.

Степень достоверности и апробация результатов. *Личный вклад соискателя*. Автор в 2009—2013 гг. лично провела полевые исследования на водоёмах. Все работы, связанные с камеральной обработкой полевого материала, с постановкой и проведением экспериментов и интерпретацией полученных данных, а также с написанием текста диссертации, осуществлены автором по плану, согласованному с научным руководителем. Доля личного участия автора в сборе материала, написании и подготовке публикаций составляет 50—100 %.

Результаты исследований были представлены и обсуждались на конференциях различных уровней, в том числе: на XXII, XXIII, XXIV, XXV Межреспубликанских научно-практических конференциях «Актуальные вопросы экологии и охраны экосистем южных регионов России и сопредельных территорий», г. Краснодар, 2009—2012 гг.; Всероссийской научной конференции с международным участием «Проблемы изучения и сохранения позвоночных животных антропогенных водоёмов», г. Саранск, 2010; Всероссийской научной конференции «ЭкоБиотех — 2011», г. Уфа, 2011.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 6 работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Объём и структура диссертационной работы. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста, содержит 16 рисунков и 18 таблиц. Состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы из 223 источников, в том числе 109 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Анализ современного состояния проблемы

В главе приведён большой объём литературных сведений о влиянии пестицидов различной природы (хлорорганических, фосфорорганических, пиретроидных, карбаминовых) на земноводных — их накоплению в организме, изменению индивидуальных характеристик личинок и взрослых особей. Проведён сравнительный анализ воздействия пестицидов различных типов на земноводных, установлена высокая специфичность ответных реакций особей одного вида при действии пестицидов различной химической природы.

Глава 2. Материал и методы исследования

Объект исследования — озёрная лягушка (*Pelophylax ridibundus* PAL., 1771). Для исследования воздействия на озёрную лягушку были взяты два пестицида из группы карбаминовых препаратов — карбарил и феноксикарб. Карбаминовые пестициды относятся к пестицидам третьего поколения. Карбарил — $C_{12}H_{11}NO_2$, N-метил-O-(нафтил-1)карбамат, представляет собой белое кристаллическое вещество, растворимое в воде (50 *мг/л*) и во многих органических растворителях. ПДК в воде санитарно-бытового назначения 0,02 *мг/л*, в воде рыбохозяйственных водоёмов 0,0005 *мг/л*; в почве 0,05 *мг/кг*. Период полураспада в полевых условиях не определён. Период полураспада в лабораторных условиях составляет 16 *сут*, период 90%-ного распада — 107 *сут* [Пестицид карбарил, 2009 а, б].

Феноксикарб — $C_{17}H_{19}NO_4$, 2-(4-Феноксифенокси)этил-O-этилкарбамат. Белое кристаллическое вещество без запаха, хорошо растворимое во многих органических растворителях. ПДК в воде рыбохозяйственных водоёмов 0,005 *мг/л*. Период полураспада в полевых условиях составляет 5,94 *сут*, период 90%-ного распада — 22,4 *сут*. Период полураспада в лабораторных условиях составляет 1,55 *сут*, период 90%-ного распада — 26,1 *сут* [Пестицид феноксикарб, 2009 а, б].

Определение карбаминовых пестицидов в воде проводили методом адсорбционной тонкослойной жидкостной хроматографии [Чмиль, Васягина, 1989] в лаборатории регуляторов роста растений ВНИИБЗР РАСХН.

Исследования и эксперименты проводили в течение 2009—2013 гг. Полевые исследования осуществляли в 2 водоёмах (рис. 1). Различия по основным гидрохимическим показателям (*pH*, БПК, ХПК, нитриты, нитраты, аммоний, фосфаты) этих водоёмов находятся в пределах статистической ошибки. Но водоёмы существенно различаются по уровню пестицидного загрязнения. Первый водоём — р. Кочеты в у ст-цы Старомышастовской (степная зона Западного Предкавказья), уровень карбаминовых пестицидов в водах р. Кочеты находится в пределах ПДК. Второй водоём — искусственный пруд (размеры 70×30 *м*), расположенный в фермерском фруктовом саду у ст-цы Медвёдовской, здесь карбаминовые препараты используются для борьбы с вредителями винограда и плодовых деревьев. Весной в водоёме отмечены величины в 2 ПДК для обоих

пестицидов. В этих водоёмах исследовали численность и структуру популяций (половую, возрастную и фенетическую) озёрной лягушки. Учёт животных проводился маршрутным методом. Длина маршрута на р. Кочеты — 500 *м*, а на искусственном пруду — по всему периметру водоёма — 200 *м*.

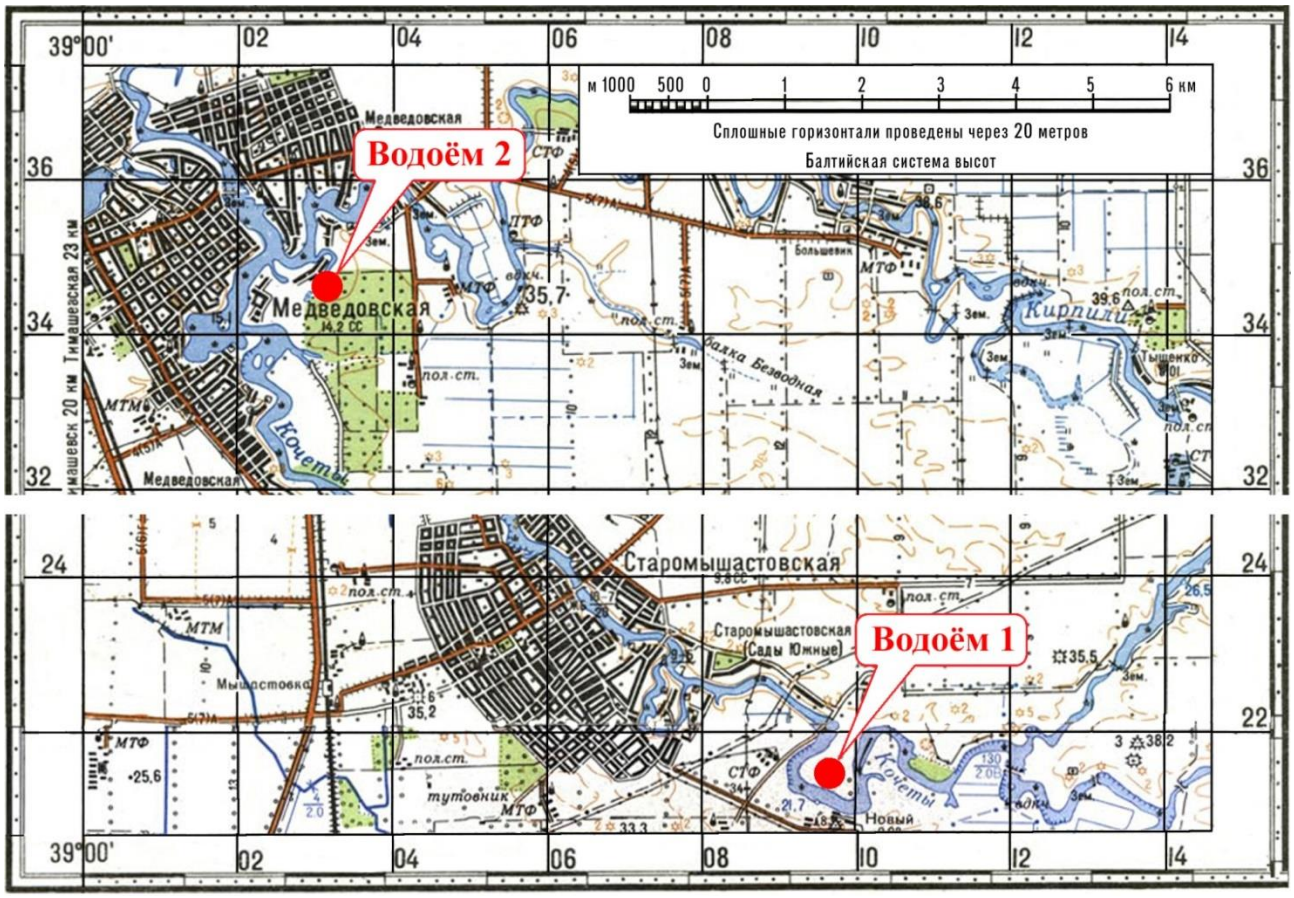


Рисунок 1 — Места сбора материала

Гонады собранных в природных условиях лягушек фиксировали 4%-ным формалином. У каждой особи определяли длину и массу тела, а также взвешивали семенники и яичники. Рассчитывали индекс гонад [Шварц, Смирнов, Добринский, 1968]. Цвет яичников устанавливали по шкале цветов А.С. Бондарцева [1954].

Гистологические срезы гонад готовили по общепринятой методике [Ромейс, 1954; Роскин, Левинсон, 1957]. Всего сделано 381 гистологический препарат, из них 188 препаратов семенников и 193 препарата яичников озёрной лягушки. Стадии зрелости гонад определяли с помощью соответствующих шкал зрелости яичников [Жукова, Бокова, 1976] и семенников [Жукова, Невзорова, 1979]. Стадии зрелости яйцеклеток и сперматозоидов определяли по О.Ф. Сакун, Н.А. Буцкой [1968].

С микропрепаратов сделаны фотографии. Фотографии срезов семенников сделаны с общим увеличением в 490 крат, фотографии срезов яичников 1, 2 и 3 стадий — в 168 крат; срезов яичников 4 и 5 стадий — в 74 крат.

Для изучения влияния инсектицидов на головастиков озёрной лягушки в водоёмах в окрестностях г. Краснодара была собрана икра, из которой в лаборатории вылуплялись головастики. В начале опыта все головастики были на

32—34 стадии по Н.В. Дабагян, Л.Н. Слепцовой [1975]. Условия лабораторного содержания головастиков соответствуют рекомендованным О.А. Пястоловой [1989]. Эксперимент заканчивался по достижении животными метаморфоза или их гибели. Фиксировали смертность личинок, темпы их роста, дни достижения основных стадий развития и метаморфоза [Дабагян, Слепцова, 1975], также измеряли общую длину и массу тела головастиков.

В опыте использованы следующие концентрации пестицидов: карбарил — 0,0005, 0,001 и 0,002 *мг/л*; феноксикарб — 0,005, 0,01 и 0,02 *мг/л*, то есть для каждого пестицида использовали концентрации, составляющие 1, 2 и 4 ПДК.

Гематологические исследования проводили в лабораторных условиях на половозрелых озёрных лягушках, помещённых на 5 *сут* в растворы пестицидов следующих концентраций: карбарил — 0,0005, 0,001, 0,002 и 0,005 *мг/л*; феноксикарб — 0,005, 0,01, 0,02 и 0,05 *мг/л*, то есть для каждого пестицида использовали концентрации, составляющие 1, 2, 4 и 10 ПДК. Основные характеристики красной и белой крови определяли с помощью стандартных методов фиксации, окраски мазков крови, их микроскопического исследования [Кост, 1973; Кудрявцев, Кудрявцева, 1969].

Сделаны фотографии мазков крови озёрной лягушки в контроле и разных вариантах опыта с помощью цифрового фотоаппарата. Фотографии сделаны при увеличении в 560 крат. Полученные цифровые данные обработаны стандартными статистическими методами [Лакин, 1980].

Общий объём материала: гематологические показатели определены у 180 *ос*., размеры и стадии зрелости гонад — у 381 *ос*., изучение личиночного развития при воздействии карбаминовых пестицидов — у 280 *ос*. Численность установлена на основании 32 учётов, структура популяции определена на основании 30 учётов (для определения фенетической структуры учтено 515 *ос*., половой структуры — 713 *ос*., возрастной структуры — 713 *ос*.).

Глава 3. Численность и структура популяции озёрной лягушки в водоёме, загрязнённом карбаминовыми инсектицидами

Данные, характеризующие летнюю динамику численности озёрной лягушки в исследованных водоёмах, приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Численность озёрной лягушки в двух исследованных водоёмах в 2009 г. (*ос*./100 *м*)

Время исследования	Река Кочеты	Пруд, загрязнённый пестицидами	Критерий Стьюдента
Июнь	94,5 ± 4,05	83,5 ± 3,50	2,05
Июль	113,7 ± 5,12	96,0 ± 3,88	2,76*
Август	136,6 ± 9,23	78,5 ± 4,96	4.59*
Сентябрь	125,5 ± 8,74	69,5 ± 4,07	5,81*
Примечание — (*) отмечены статистически достоверные различия			

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что с июля по сентябрь численность озёрной лягушки в более чистом водоёме (р. Кочеты) статистически достоверно

превышает численность этого вида в пруду, загрязнённом карбаминовыми пестицидами, в 1,2—1,8 раз: только в июне различия численности земноводных в двух водоёмах находятся в пределах статистической ошибки, но наблюдается тенденция к снижению численности озёрной лягушки в пруду.

В р. Кочеты численность лягушки достоверно возрастает в июле по сравнению с июнем. Эта тенденция продолжается и в августе, хотя различия данных за эти два месяца находятся в пределах статистической ошибки, в сентябре численность остаётся на уровне августа, превышая июньскую в 1,3 раза. В целом динамика численности в чистом водоёме заключается в возрастании числа особей сразу после завершения метаморфоза и выхода сеголеток.

В загрязнённом карбаминовыми пестицидами (2 ПДК) пруду увеличения численности озёрной лягушки в июле по сравнению с июнем не наблюдается, а в августе происходит уменьшение численности по сравнению с июлем, которое продолжается и в сентябре. Сентябрьская численность статистически достоверно в 1,2 раза ниже июньской. По-видимому, происходит миграция взрослых лягушек из загрязнённого пруда.

В условиях Западного Предкавказья в популяциях озёрной лягушки отмечено два фенотипа по окраске спины — со светлой дорсомедиальной полосой на спине (striata) и без полосы на спине (non-striata, или maculata).

Соотношение особей озёрной лягушки фенотипов striata и maculata в исследуемых водоёмах показано в таблице 2. В р. Кочеты в первый год достоверно преобладание бесполосных особей, их 59,6 %, а на следующее лето в популяции озёрной лягушки особи обеих морф встречались в равном количестве.

Таблица 2 — Соотношение полосатых и бесполосых особей озёрной лягушки в исследуемых водоёмах (числитель — абсолютная величина, знаменатель — в процентах от общего числа особей)

Водоём	Время исследования	Морфа striata	Морфа maculata
Пруд, загрязнённый пестицидами	Сентябрь 2009 г.	35* / 59,3	24 / 40,7
	Май 2010 г.	38* / 77,6	11 / 22,4
	Август 2010 г.	59* / 76,6	18 / 23,4
Река Кочеты	Сентябрь 2009 г.	46* / 40,4	68 / 59,6
	Май 2010 г.	52 / 49,1	54 / 50,9
	Август 2010 г.	59 / 53,6	51 / 46,4
Примечание — звёздочкой (*) отмечены статистически достоверные различия численности особей двух морф в водоёме			

В загрязнённом пестицидами пруду в оба года исследования среди земноводных преобладает морфа striata. Так, в первый год исследования соотношение полосатых и бесполосных особей составляет 1 : 0,68. Во второй год исследования в конце весны и конце лета полосатые преобладают в ещё большей степени (1 : 0,29 и 1 : 0,30 соответственно).

Аналогичные данные получены озёрной лягушке из различных водоёмов Западного Предкавказья [Жукова, Пескова, 1998в; Жукова, 2005; Пескова, 2002]. Возрастная структура исследуемых популяций озёрной лягушки показана в таблице 3.

Соотношение возрастных групп, определённое нами, является примерным (по пикам на вариационной кривой по длине тела лягушек), так как проводилось в полевых условиях, поэтому мы приводим не конкретный возраст животного, а только его экологический возраст (возрастную группу). Из таблицы 3 видно, что в сентябре 2009 г., в пруду и в р. Кочеты возрастная структура одинакова — преобладают сеголетки и неполовозрелые особи (примерно в равных долях в обоих водоёмах), на долю половозрелых приходится лишь 13,5 и 19,5 % от общего числа особей.

Таблица 3 — Соотношение возрастных групп (сеголетки, неполовозрелые, половозрелые) озёрной лягушки в исследуемых водоёмах (числитель — абсолютное количество, знаменатель — в процентах)

Время исследования	Возрастная группа		
	Сеголетки	Неполовозрелые	Половозрелые
Пруд, загрязнённый пестицидами			
Сентябрь 2009 г.	35 / 44,9	28 / 35,9	15 / 19,2
Май 2010 г.	0 / 0	49 / 66,2	25 / 33,8
Август 2010 г.	26 / 44,1	13 / 22,0	20 / 33,9
Река Кочеты			
Сентябрь 2009 г.	60 / 38,4	75 / 48,1	21 / 13,5
Май 2010 г.	0 / 0	50 / 47,6	55 / 52,4
Август 2010 г.	48 / 46,2	24 / 23,1	32 / 30,7

Весной следующего года в водоёмах соотношение неполовозрелых и половозрелых особей статистически достоверно различается (χ^2 = 6,07 при $\chi^2_{ст}$ = 3,84), в реке особей этих групп поровну, а в пруду, загрязнённом карбаминовыми пестицидами, вдвое больше неполовозрелых лягушек по сравнению с половозрелыми особями.

В августе 2010 г. соотношение особей различных возрастных групп одинаково в обоих исследованных водоёмах (χ^2 = 0,17 при $\chi^2_{ст}$ = 5,99). При этом количество неполовозрелых особей в загрязнённом водоёме в 2010 г. в 2,1 раза меньше, чем в предыдущем году, а в р. Кочеты — в 3,1 раза меньше. Таким образом, численность неполовозрелых лягушек варьирует по годам сильнее, чем численность других возрастных групп, что может быть связано с их меньшей устойчивостью к факторам среды.

В целом, проведённые исследования свидетельствуют о том, что различия возрастной структуры озёрной лягушки в двух исследуемых водоёмах наблюдаются весной, а осенью они сглаживаются за счёт появления большого числа сеголеток.

Половая структура исследованных популяций озёрной лягушки, показана в таблице 4, из которой видно, что в популяциях из р. Кочеты и пруда, загрязнённого карбаминовыми пестицидами, обнаружены статистически достоверные различия в соотношении полов. В р. Кочеты на протяжении двух лет исследования достоверно больше самцов (вдвое), а в пруду — наоборот больше самок (также вдвое).

Таблица 4 — Соотношение полов в популяциях озёрной лягушки из исследованных водоёмов (числитель — абсолютное число особей, знаменатель — в процентах к общему числу особей)

Время исследования	Пруд, загрязнённый пестицидами		Река Кочеты	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Сентябрь 2009 г.	59 / 38,1	96* / 61,9	106 / 67,9	50* / 32,1
Май 2010 г.	26 / 35,1	48* / 64,9	54 / 63,5	51* / 36,5
Август 2010 г.	37 / 31,6	80* / 68,4	67 / 64,4	37* / 35,6
Примечание — звёздочкой (*) отмечены различия статистически достоверные при сравнении числа самцов и самок				

Ранее [Пескова, 2000б] было установлено, что в популяциях озёрной лягушки и краснобрюхой жерлянки в нашем регионе отмечена аналогичная тенденция изменения половой структуры при обитании в различных водоёмах — в чистом водоёме преобладают самцы, а в загрязнённом — самки.

Таким образом, при обитании в водоёме с водой, загрязнённой карбаминовыми пестицидами (2 ПДК), по сравнению с чистым водоёмом наблюдаются сниженная общая численность озёрной лягушки в 1,2—1,8 раза (в разные месяцы), а также изменённые популяционные характеристики: в фенетической структуре — преобладание особей морфы striata (в 1,5 —3,3 раза в разные сезоны), в половой структуре — преобладание самок по сравнению с самцами (в 1,6—2,1 раза в разные сезоны), в возрастной структуре — весной преобладание неполовозрелых лягушек (их вдвое больше) по сравнению с половозрелыми.

Глава 4. Физиологическое состояние гонад озёрной лягушки под действием карбарила и феноксикарба

С целью экологического мониторинга популяций животных под антропогенным воздействием необходимо контролировать все звенья жизненного цикла и, прежде всего, процесс репродукции [Иванова, Пастухова, Оленев, 1993].

Когда в природу попадают токсиканты, обладающие стерилизующим эффектом и длительным остаточным действием, они нарушают нормальный процесс репродукции. Известно, что применение карбарила для уничтожения вредных насекомых и клещей привело к нарушению репродуктивной системы грызунов, у которых отмечали существенные нарушения сперматогенеза у самцов, увеличение числа аномальных беременностей, патологии развития эмбрионов [Денисова, 1976; Крылова, 1975].

Мы исследовали состояние половой системы земноводных, испытывающих на себе хроническое влияние того же пестицида, отдельно у самцов и самок. У исследованных особей в обеих популяциях были обнаружены гонады всех степеней зрелости. Количество особей (абсолютное и относительное), имеющих гонады 1—5 стадий зрелости, в исследованных популяциях весной 2010 г. показаны в таблице 5.

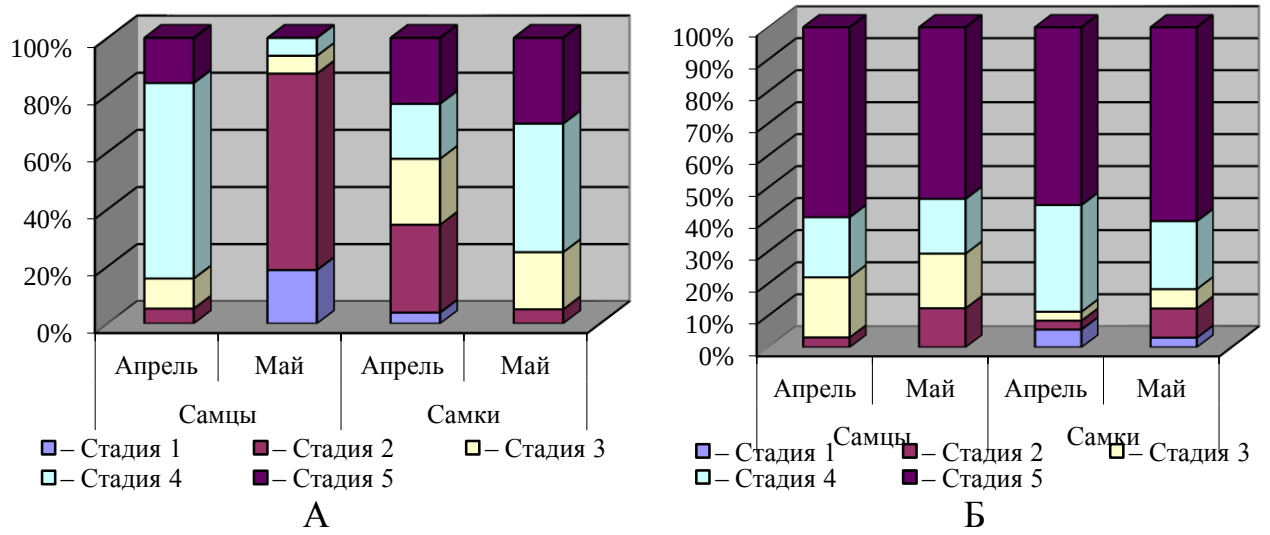
Весной очень редко были встречены особи обоих полов с гонадами первой стадии. Т.И. Жукова, В.Б. Широкова [1979] в своих исследованиях половозрелых

озёрных лягушек весной вообще не встречали особей с гонадами 1—2 стадий зрелости. Это обстоятельство позволило авторам предположить, что к концу второго года жизни у всех особей гонады развиты не ниже, чем до 3-й стадии. Ранние стадии зрелости гонад обнаружены ими у озёрных лягушек позднее — с июня по ноябрь. Следовательно, эти стадии имеются лишь при повторных циклах созревания гонад, по крайней мере, у лягушек с размерами тела не менее 48 *мм*.

Таблица 5 — Количество озёрных лягушек с гонадами различной степени зрелости в двух популяциях (числитель — абсолютное число, знаменатель — в процентах к общему числу самцов или самок)

Месяц	Пол	Стадия зрелости гонад				
		1	2	3	4	5
Популяция р. Кочеты (окрестности ст-цы Старомышастовской)						
Апрель	Самцы	0	1 / 5,3	2 / 10,5	13 / 68,4	3 / 15,8
	Самки	1 / 3,8	8 / 30,8	6 / 23,1	5 / 19,2	6 / 23,1
Май	Самцы	3 / 18,8	11 / 68,8	1 / 6,2	1 / 6,2	0
	Самки	0	1 / 5,3	4 / 21,0	9 / 47,4	5 / 26,3
Популяция искусственного водоёма (окрестности ст-цы Медвёдовской)						
Апрель	Самцы	0	1 / 3,2	6 / 18,7	6 / 18,7	19 / 59,4
	Самки	2 / 5,6	1 / 2,8	1 / 2,8	12 / 33,3	20 / 55,5
Май	Самцы	0	5 / 12,2	7 / 17,1	7 / 17,1	22 / 53,6
	Самки	1 / 3,0	3 / 9,1	2 / 6,1	7 / 21,2	20 / 60,6

На рисунке 2 представлено графическое отображение соотношения числа самцов и самок с гонадами различной степени зрелости в чистом (А) и загрязнённом пестицидами (Б) водоёме в апреле и мае.



А Б

Рисунок 2 — Соотношение самцов и самок с гонадами разной степени зрелости в популяциях озёрной лягушки из чистого (А) и загрязнённого (Б) водоёмов

У самок в чистой популяции доля особей с гонадами разной степени зрелости одинакова в апреле и мае (χ^2 = 6,92 при $\chi^2_{ст}$ = 9,49) — рисунок 2А. В оба

месяца много готовых к размножению самок с яичниками 4 и 5 стадии зрелости. В апреле их доля составляет 42,3 %, к ним ещё надо добавить 23,1 % особей с яичниками 3 стадии зрелости, которые успеют дозреть, эти особи будут участвовать в размножении. В мае преобладают особи, со зрелыми гонадами готовых к размножению, их 73,7 %. Таким образом, в апреле происходит эффективное размножение, т. к. отмечено много самцов и самок со зрелыми гонадами, а в мае возможность успешного размножения уменьшается (отсутствует достаточное количество самцов со зрелыми семенниками).

В искусственном пруду, загрязнённом карбаминовыми пестицидами относительное количество особей обоих полов с гонадами различной степени зрелости одинаково в оба месяца (соответственно χ^2 = 1,96 и 2,86 при $\chi^2_{ст}$ = 9,49) — рисунок 2Б. И в апреле, и в мае только 18,7 и 17,1 % самцов готовы к размножению, тогда как готовых к размножению самок отмечено 81,8—88,8 %. Судя по данным рисунка 2Б размножение в пруду эффективным не будет, так как возможность оплодотворения невелика. Карбаминовые пестициды задерживают созревание гонад только самцов, отмеченная асинхронность приводит к снижению репродуктивных возможностей земноводных в данном водоёме.

Под влияние хлорорганических пестицидов в апреле также происходит задержка созревания самцов, которая к маю исчезает — количество половозрелых самцов и самок примерно одинаково [Жукова, Кубанцев, 1980].

Мы определили абсолютные и относительные размеры гонад самцов и самок озёрных лягушек 1—5 стадии зрелости гонад из исследованных нами популяций, а также средние значения индексов гонад озёрных лягушек в каждой популяции в целом (таблица 6). У самцов не отмечены статистически достоверные различия по средней величине индекса семенников в апреле и мае, в обоих исследованных водоёмах. У самок озёрной лягушки величина среднего индекса яичников только в загрязнённом водоёме одинакова в оба месяца, а в чистом водоёме данный индекс в мае в 2 раза больше, чем в апреле.

Таблица 6 — Средние значения индексов гонад (‰) озёрной лягушки в исследованных популяциях (весна 2010 г.)

Месяц исследования	Чистый водоём		Загрязнённый водоём	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Апрель	0,8	21,3	0,9	46,4
Май	0,7	42,6	0,8	46,4

Мобилизация защитных функций организма при отравлении приводит к увеличению индексов внутренних органов на фоне их патологических изменений. Это свидетельствует о дополнительных энергетических затратах организма [Моисеенко, 2000]. Мы полагаем, что относительно более крупные яичники озёрной лягушки при обитании в условиях загрязнения являются подтверждением данного заключения.

Видимо, отмеченный в водоёмах уровень карбаминового загрязнения (2 ПДК для каждого из инсектицидов) является сравнительно невысоким для озёрной лягушки. У них происходит компенсаторное увеличение относитель-

ных размеров яичников у самок и, по крайней мере, не уменьшаются относительные размеры семенников у самцов, следовательно обеспечивается возможность воспроизводства при отмеченном нами уменьшении численности половозрелых амфибий в пруду.

Судя по нашим данным, влияние карбаминовых препаратов на половую систему озёрной лягушки проявляется не в изменении величины гонад (абсолютное значение и индекс гонад), а в изменении продолжительности и сроков размножения.

В популяции из р. Кочеты лягушки размножаются в апреле, в мае эффективность размножения уменьшается — из-за малого числа самцов с зрелыми семенниками. В популяции из искусственного пруда сроки размножения сдвинуты на май.

Глава 5. Влияние карбаминовых инсектицидов в эксперименте на головастиков озёрной лягушки

Инсектициды часто накапливаются в водоёмах, где происходит размножение и развитие земноводных [Alvarez, 1995]. В главе 4 мы определили изменения, происходящие с репродуктивной системой озёрной лягушки под влиянием карбаминовых пестицидов. В данной главе мы рассмотрим влияние тех же пестицидов на ранние стадии индивидуального развития озёрной лягушки. Мы определяли такие показатели как уровень смертности личинок, продолжительность метаморфоза, темп роста и темп развития в эксперименте при экспозиции в растворах карбаминовых инсектицидов концентраций, соответствующих 1—4 ПДК.

Динамика смертности головастиков озёрной лягушки в исследованных растворах инсектицидов показана на рисунке 3.

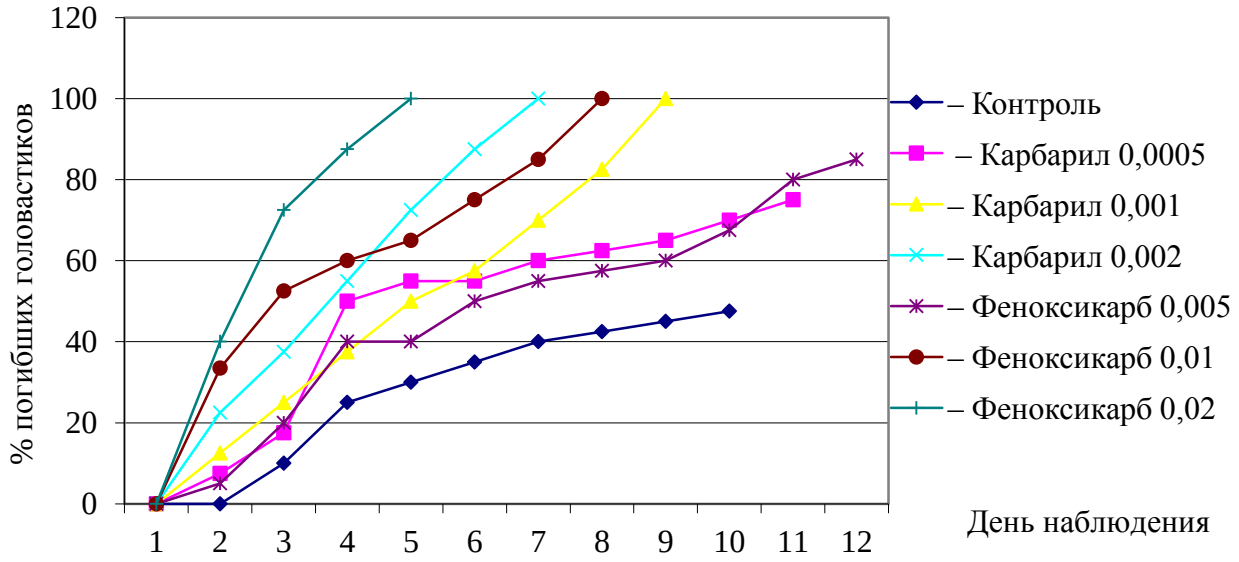


Рисунок 3 — Кривые смертности головастиков озёрной лягушки (% погибших) в контроле и растворах карбаминовых инсектицидов различных использованных концентраций

В контроле (чистая вода) 50%-ной гибели головастиков озёрной лягушки не наблюдалось, заканчивают метаморфоз 52,5 % особей на 63-й день. Наиболее поздно 50%-ная гибель головастиков отмечена в растворе феноксикарба минимальной концентрации 0,005 *мг/л* (1 ПДК) — на 36-й день. Несколько раньше погибли 50 % головастиков в растворах карбарила 0,001 (2 ПДК) и 0,0005 *мг/л* (1 ПДК) — на 30-й и 20-й дни соответственно, ещё раньше 50 % гибель была зафиксирована в растворе карбарила самой высокой из исследованных концентраций (0,002 *мг/л*, 4 ПДК) — на 18-й день. Самые ранние сроки 50%-ной гибели — на 14-й и 8-й дни — обнаружены у головастиков в растворах феноксикарба концентраций 0,01 (2 ПДК) и 0,02 *мг/л* (4 ПДК). Таким образом, по показателю дня достижения 50 % гибели минимальная концентрация феноксикарба (1 ПДК) является наименее опасной для головастиков озёрной лягушки, но повышение концентрации этого пестицида до 2 и 4 ПДК приводит к более раннему наступлению и усилению гибели головастиков. Для карбарила сроки наступления 50%-ной гибели головастиков сближены — 18—20-й дни для минимальной и максимальной из исследованных концентраций (1 ПДК и 4 ПДК). Ранние сроки наступления 50%-ной гибели личинок земноводных при определённых концентрациях инсектицидов являются важными в том плане, что при залповых выбросах пестицидов даже за короткий срок может произойти гибель значительной части молоди в популяции озёрной лягушки.

Полностью погибли головастики в растворах концентраций 2 и 4 ПДК — как карбарила (на 57-й и 43-й дни), так и феноксикарба (49-й и 30-й дни). Следовательно, при длительном содержании в присутствии карбаминовых пестицидов озёрная лягушка оказывается более толерантной к карбарилу.

Отмечена следующая динамика гибели головастиков — в контроле в первую неделю после посадки не отмечено гибели головастиков, затем за следующие две недели гибнет 25 % головастиков, а далее убывание головастиков замедляется: в каждую из последующих недель гибнут по 1—2 головастика.

Кривые гибели в растворах обоих инсектицидов равной концентрации (1 ПДК), очень похожи, они имеют S-образную форму, их сходство подтверждается высоким коэффициентом их корреляции, r = 0,98. Динамика смертности в этих случаях следующая: в первые три недели содержания личинок отмечена высокая гибель личинок (до 40—60 %), затем число погибших несколько уменьшается вплоть до 56-го дня, далее вновь скачкообразно увеличивается число погибших (до 75—85 %).

В растворе карбарила концентрации 0,001 *мг/л* (2 ПДК) так же, как и в контроле, ускоряется гибель головастиков на третьей неделе эксперимента, но гораздо в большей степени, чем в контроле (перепад от 17,5 до 50,0 % погибших). В дальнейшем темп гибели животных остаётся высоким и на 57-й день все головастики погибают.

В растворе самой высокой из исследованных концентраций карбарила (0,002 *мг/л* — 4 ПДК) гибель головастиков происходит очень быстро и на протяжении всего периода эксперимента равномерно, при этом все головастики погибают на 42-й день. Ещё более круто поднимается кверху кривая гибели головастиков в растворе феноксикарба концентрации 0,02 *мг/л* — 4 ПДК, все го-

ловастики погибают на 28-й день. Таким образом, мы можем отметить в целом сходную картину гибели головастиков озёрной лягушки в концентрациях обоих карбаминовых инсектицидов, равных 4 ПДК. Коэффициент корреляции динамики гибели головастиков в этих самых высоких концентрациях инсектицидов составляет r = 0,98.

Из литературы известен похожий характер динамики смертности головастиков в растворах пиретроидных пестицидов каратэ и дециса низких концентраций. Однако гибель головастиков в этом случае происходит в сжатые сроки; более 50 % особей гибнут в первые сутки, а остальные — за 2—4 дня [Пескова, 2001]. Возможно, это связано с быстрым проникновением в организм и кумуляцией пестицидов. Следовательно, пиретроидные пестициды существенно токсичнее карбаминовых пестицидов для головастиков озёрной лягушки.

Дни наступления основных стадий развития у головастиков озёрной лягушки в контроле и растворах карбаминовых пестицидов исследованных концентраций показаны в таблице 7, из которой видно, что все фиксируемые стадии наступают у головастиков в контроле раньше, чем в растворах карбаминовых инсектицидов.

Таблица 7 — Дни достижения основных стадий развития личинками озёрной лягушки в контроле и растворах карбаминовых инсектицидов (числитель — пределы, знаменатель — среднее)

Концентрация инсектицида, *мг/л*		Стадия развития		
		47 — хорошо развитые задние конечности	51 — хорошо развитые передние конечности	54 — конец метаморфоза
Контроль	0	20—36/ 28	36—43 / 39,5	46—64 / 55
Карбарил	0,0005	30—43 / 36,5	45—57 / 51	49—69 / 59
	0,001	33—46 / 40,5	43—56 / 49,5	57*
	0,002	33—36 / 34,5	43*	—
Феноксикарб	0,005	30—49 / 39,5	44—69 / 56,5	69— 76 / 72,5
	0,01	33—43 / 38	49*	—
	0,02	30*	—	—
Примечание — звёздочкой (*) отмечена гибель всех головастиков				

Из литературы известно, что, если концентрация токсиканта является сублетальной, личиночное развитие многих видов амфибий замедляется: у озёрной лягушки в растворах большинства тяжёлых металлов; у зелёной жабы под действием нефти, сульфатов меди и железа и их смесей; у остромордой лягушки в нефти и феноле [Пескова, 2001]. Этот же эффект имеет место и в нашем эксперименте.

Размеры головастиков, взятых нами в контроль и опыт, составляли от 13,0 до 15,0 *мм*, в среднем 14,1 ± 0,34 *мм*, различий по размерам между контрольными и подопытными головастиками не было.

По нашим данным, в конце исследования, при метаморфозе также не было обнаружено достоверных различий по длине тела между животными из кон-

троля и вариантов опыта с концентрациями карбаминовых пестицидов, равными 1 и 2 ПДК, в которых животные завершили метаморфоз. В более высоких концентрациях исследованных пестицидов головастики погибли до наступления метаморфоза.

Глава 6. Динамика гематологических показателей озёрной лягушки под действием карбарила и феноксикарба

В данной главе приведены сведения о влиянии различных концентраций двух карбаминовых пестицидов — карбарила и феноксикарба — на показатели красной и белой крови озёрной лягушки *Pelophylax ridibundus*, полученные экспериментальным путём.

Содержание подопытных озёрных лягушек в растворах инсектицидов карбарила (концентраций 0,0005—0,005 *мг/л*) и феноксикарба (концентраций 0,005—005 *мг/л*) в течение 5 *сут* не оказывало летального воздействия на животных в ходе опыта. Показатели красной крови озёрной лягушки в контроле и опытах с инсектицидами приведены в таблице 8.

Наименьшая из исследованных концентраций карбарила (0,0005 *мг/л* — 1 ПДК) является пороговой для озёрной лягушки, так как экспозиция в этом растворе не меняет показателей красной крови. При увеличении концентрации инсектицида до 0,001 *мг/л* (2 ПДК) у подопытных животных происходит достоверное увеличение кислородной ёмкости крови (количество гемоглобина возрастает в 1,1 раза, а количество эритроцитов — в 1,3 раза по сравнению с контролем). У озёрных лягушек, выдержанных в растворе карбарила ещё более высоких концентраций — 0,002 и 0,005 *мг/л* (4 и 10 ПДК), достоверно в 1,2—1,3 раза увеличено количество гемоглобина и в 1,4—1,6 раза количество эритроцитов по сравнению с контролем. В этих высоких концентрациях раствора карбарила вследствие асинхронного изменения двух гематологических показателей озёрной лягушки — более выраженного увеличения количества эритроцитов по сравнению с увеличением количества гемоглобина — имеет место гипохромия.

В самой слабой из исследованных концентраций феноксикарба (0,005 *мг/л*) у озёрной лягушки происходит незначительное (в 1,1 раза), но статистически достоверное увеличение количества гемоглобина, и более значительное увеличение (в 1,3 раза) количества эритроцитов. Повышение концентрации феноксикарба вдвое — до 0,01 *мг/л* (2 ПДК) — вызывает у подопытных лягушек достоверное увеличение числа эритроцитов (превышение контрольных данных в 1,4 раза), но уровень гемоглобина остаётся таким же, как и в предыдущем опыте.

При дальнейшем повышении концентрации феноксикарба (до 0,02 *мг/л* — 4 ПДК) у лягушек различия количества гемоглобина в контроле и этом опыте находится в пределах статистической ошибки, а число эритроцитов в опыте превышает контрольные значения этого показателя. Наконец, экспозиция в самой высокой из исследованных концентраций феноксикарба 0,05 *мг/л* — 10 ПДК сопровождается существенным снижением обоих гематологических показателей до контрольных значений и ниже.

Таблица 8 — Гематологические показатели озёрной лягушки в контроле и при действии карбарила и феноксикарба различных концентраций (лимиты, $x \pm m_x$)

Вещество и его концентрация, *мг/л*	Гемоглобин, *г/л*	Эритроциты, 10^{10} *л*	Критерий Стьюдента при сравнении с контролем*
Контроль, 0	61,0—79,0 71,1 ± 2,22	39,0—56,0 48,5 ± 2,78	—
Карбарил 0,0005 (1 ПДК)	67,0—86,0 76,0 ± 2,93	40,0—61,0 56,5 ± 3,01	1,33 1,95
Карбарил 0,001 (2 ПДК)	65,0—89,9 79,6 ± 3,19	40,0—69,5 61,4 ± 2,96	2,19** 3,18**
Карбарил 0,002 (4 ПДК)	50,5—104,8 86,7 ± 6,97	45,5—79,0 68,4 ± 6,05	2,13** 2,99**
Карбарил 0,005 (10 ПДК)	47,5—119,3 94,5 ± 9,18	49,5—93,0 77,8 ± 7,15	2,48** 3,78**
Феноксикарб 0,005 (1 ПДК)	67,0—81,0 78,6 ± 1,95	38,5—75,0 61,7 ± 3,38	2,54* 3,02*
Феноксикарб 0,01 (2 ПДК)	70,0—84,0 81,5 ± 2,33	41,5—82,0 69,2 ± 3,05	3,23* 5,02*
Феноксикарб 0,02 (4 ПДК)	70,0—91,5 80,9 ± 4,38	40,5—89,5 62,2 ± 4,93	2,00 4,19*
Феноксикарб 0,05 (10 ПДК)	55,5—82,0 67,7 ± 3,89	38,0—85,5 53,4 ± 6,11	0,76 0,73
Примечание — одна звёздочка (*) — числитель при сравнении количества гемоглобина, знаменатель — эритроцитов; две звёздочки (**) — различия достоверны при сравнении с контролем на 5%-ном уровне значимости			

Таким образом, изменение показателей крови земноводных в кратковременном опыте зависит от природы пестицида. Возрастание показателей красной крови под действием карбаминовых инсектицидов (все исследованные концентрации карбарила и 1—4 ПДК феноксикарба) является адаптивным, так как увеличивается кислородная ёмкость крови. Более высокие концентрации феноксикарба вызывают развитие анемии у озёрных лягушек, что свидетельствует о патологии.

Что касается количества лейкоцитов в крови подопытных лягушек, то отмечено следующее. В самой слабой из исследованных концентраций карбаминовых инсектицидов, равной величинам 1 ПДК, изменения числа лейкоцитов в крови озёрной лягушки не происходит, различия значений у подопытных и контрольных лягушек находятся в пределах статистической ошибки. Начиная с концентрации карбаминовых инсектицидов, равной 2 ПДК, в крови озёрной лягушки имеет место лейкоцитоз, возрастающий по градиенту концентрации инсектицида, в концентрациях 2 ПДК число лейкоцитов увеличивается в 1,6 и 1,8 раза, при концентрациях 4 ПДК, превышение числа лейкоцитов ещё большее — в 2 и 2,4 раза, а при концентрации 10 ПДК в 2,4—3,2 раза (для карбарила и феноксикарба соответственно).

Таблица 9 — Лейкоцитарная формула крови озёрной лягушки в контроле и растворах инсектицидов (лимиты, X ± m, Cv %)

Вариант (концентрация инсектицида), *мг/л*	Эозинофилы	Базофилы	Нейтрофилы		Лимфоциты	Моноциты
			палочкоядерные	сегментоядерные		
0 (контроль)	3—10 5,9 ± 0,51 25,4	1—4 2,6 ± 0,59 69,2	1—8 4,9 ± 0,42 24,5	16—28 20,9 ± 1,88 27,3	42—61 59,6 ± 2,83 14,1	1—10 6,1 ± 0,81 39,3
Феноксикарб (0,005) (1 ПДК)	2—6 4,0 ± 0,77 60,0	1—5 2,9 ± 0,71 72,4	3—10 7,6 ± 0,82* 23,6	15—20 26,6 ± 0,68* 7,9	31—55 51,2 ± 1,90* 11,1	2—11 7,7 ± 0,81 27,6
Феноксикарб (0,05) (10 ПДК)	2—4 3,4 ± 0,42* 35,3	1—4 2,9 ± 0,73 72,4	3—9 5,6 ± 0,71 37,5	12—21 13,6 ± 1,01* 22,1	51—72 67,9 ± 1,2* 5,7	2—10 6,6 ± 0,59 27,3
Карбарил (0,0005) (1 ПДК)	3—7 4,8 ± 0,40 25,0	1—5 3,1 ± 0,52 48,4	2—9 6,2 ± 0,71 33,9	10—20 15,1 ± 1,57* 31,8	50—69 63,9 ± 1,83 8,5	3—9 6,9 ± 0,38 17,4
Карбарил (0,005) (10 ПДК)	1—6 3,3 ± 0,60* 55,5	1—3 3,0 ± 0,53 50,0	6—12 10,3 ± 0,70* 20,4	16—30 27,1 ± 1,11* 12,2	42—51 48,2 ± 1,33* 8,1	4—10 8,1 ± 0,74 25,9

Примечание — звёздочкой (*) отмечены различия статистически достоверные по сравнению с контролем на 5%-ном уровне значимости

Лейкоцитарная формула крови озёрной лягушки в растворах исследованных инсектицидов (карбарил и феноксикарб) приведена в таблице 9. Для сравнения даны показатели относительного числа разных видов лейкоцитов в крови озёрной лягушки в наиболее слабых исследованных концентрациях инсектицидов (1 ПДК), и в наиболее концентрированных растворах пестицидов (10 ПДК).

В крови озёрных лягушек, выдержанных в растворе феноксикарба концентрации 0,005 *мг/л*, мы отмечаем общий нейтрофилёз (число сегментоядерных нейтрофилов увеличено в 1,3 раза, а палочкоядерных нейтрофилов ещё больше — в 1,5 раза) и лимфоцитопению (число лимфоцитов снижено в 1,2 раза).

При содержании лягушек в растворе феноксикарба 0,05 *мг/л* картина белой крови у них совершенно иная, наблюдаются противоположные изменения, а именно: достоверное и существенное снижение числа эозинофилов (в 1,7 раза) и сегментоядерных нейтрофилов (в 1,5 раза) при небольшом лимфоцитозе (число лимфоцитов увеличено в 1,1 раза). При этом числа палочкоядерных нейтрофилов остаётся неизменным, у амфибий проявляется общая нейтропения (в 1,3 раза по сравнению с контролем).

В растворе карбарила самой слабой из исследованных концентраций (0,0005 *мг/л*) в лейкоцитарной формуле крови озёрной лягушки изменения касаются только числа сегментоядерных нейтрофилов — их достоверно (в 1,4 раза) меньше, общее число нейтрофилов уменьшено только в 1,2 раза, так как параллельно наблюдается небольшое увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов.

В растворе карбарила концентрации 0,005 *мг/л* отмечен очень значительный нейтрофилёз (в 1,3 раза увеличено число сегментоядерных нейтрофилов и в 2,1 раза — палочкоядерных; общее число нейтрофилов увеличено в 1,5 раза) и лимфоцитопения (в 1,2 раза меньше лимфоцитов) с эозинопенией (уменьшение числа эозинофилов в 1,8 раза).

Сравнение полученных нами данных по изменению лейкоцитарной формулы крови озёрных лягушек после воздействия двух инсектицидов показало, что при увеличении концентрации растворов каждого из препаратов происходят разнонаправленные изменения соотношения различных видов лейкоцитов в крови озёрной лягушки. В слабо концентрированном растворе феноксикарба изменения лейкоцитарной формулы крови происходят по первому типу, а при повышении концентрации — приближается ко второму типу, описанному в литературе [Пескова, 2001]. Автор считает, что при втором типе изменения лейкограммы крови озёрной лягушки наблюдается не адаптация к условиям загрязнения, а патология, которая скорее всего приводит к гибели животных.

В наших опытах нейтропения отмечена на фоне общего лейкоцитоза (общее число лейкоцитов увеличено более, чем втрое), поэтому общее число клеток нейтрофильного ряда не только не уменьшено, но даже в 2,4 раза увеличено по сравнению с контролем — 3,1 и 7,4 *тыс. клеток* соответственно. Таким образом, сходство реакции крови земноводных на два вида карбаминовых пестицидов заключается в снижении количества эозинофилов в высокой концентрации пестицидов, при неизменном количестве базофилов и моноцитов. Основные различия в изменении лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки в

растворах исследованных пестицидов заключаются в динамике числа лимфоцитов и нейтрофилов. В растворах феноксикарба в низкой концентрации количество лимфоцитов уменьшается, но возрастает в высокой концентрации, а в растворах карбарила количество лимфоцитов в низких концентрациях не меняется, а высоких — наоборот, уменьшается. В отношении количества нейтрофилов наблюдается прямо противоположная реакция крови земноводных в растворах исследованных пестицидов, а именно: пребывание в растворах низкой концентрации феноксикарба сопровождается нейтрофилёзом, а в высокой — нейтропенией; в растворах же низкой концентрации карбарила наблюдается нейтропения, а в высокой — довольно значительный нейтрофилёз.

Принимая во внимание функции отдельных форм белой крови, следует ожидать, что вследствие токсического заболевания в периферическом русле должен увеличиваться процент фагоцитирующих элементов (в крови накапливаются патологически изменённые, деградировавшие форменные элементы [Житенева, Макаров, Рудницкая, 2004].

Известно, что при хронических стрессах и тяжёлых токсикозах у позвоночных наблюдается эозинофилопения [Житенева, Полтавцева, Рудницкая, 1989]. Судя по эозинофилопении озёрной лягушки, при экспозиции в растворах высоких концентраций карбаминовых пестицидов, можно говорить об относительной тяжести токсикоза земноводных. Количество базофилов и моноцитов в крови лягушек в нашем опыте не менялось, несмотря на их активную фагоцитирующую функцию в крови животных. По-видимому, лимфоцитоз озёрной лягушки в высокой концентрации феноксикарба является адаптивной реакцией, а лимфоцитопения в растворе высокой концентрации карбарила — показателем развивающейся патологии.

Судя по данным лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки, повышение концентрации раствора феноксикарба приводит к нейтропении, хотя имеет место увеличение доли палочкоядерных нейтрофилов, что свидетельствует об интенсификации нейтрофилопоэза (индекс сдвига влево возрастает с 0,23 в контроле до 0,29 при концентрации феноксикарба 1 ПДК и до 0,41 при концентрации феноксикарба 10 ПДК). Соответственно повышение концентрации карбарила от 1 до 10 ПДК приводит к общему нейтрофилёзу земноводных, но при некотором снижении доли палочкоядерных нейтрофилов (индекс сдвига влево уменьшается с 0,41 в растворе низкой концентрации до 0,38 в растворе высокой концентрации).

В целом, мы констатируем, что одинаковые (в величинах ПДК) концентрации карбарила оказываются меньшее токсическое воздействие на кровь взрослых особей озёрной лягушки, чем соответствующие концентрации феноксикарба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Озёрная лягушка *Pelophylax ridibundus* PAL., 1771 представляет собой вид, относительно резистентный к условиям загрязнения и адаптированный к существованию в загрязнённых биотопах. Он также широко используется в экспериментальных целях как организм-биотестер. В данной работе мы использова-

ли два подхода к изучению влияния карбаминовых пестицидов на озёрную лягушку — 1) изучение животных в природных биотопах (численность, структура популяции, состояние гонад) и 2) постановка эксперимента в условиях лаборатории (влияние пестицидов на ранние стадии онтогенеза и исследование гематологических показателей взрослых особей). Суммарно полученные в ходе экспериментов и наблюдений данные дают достаточно полную экологическую характеристику всех основных биологических процессов земноводных.

ВЫВОДЫ

1. При обитании в водоёме с водой, загрязнённой карбаминовыми пестицидами (2 ПДК), по сравнению с чистым водоёмом наблюдаются снижение общей численности озёрной лягушки в 1,2—1,8 раза (в разные месяцы), а также изменение популяционных характеристик: в фенетической структуре отмечено преобладание особей морфы striata (в 1,5—3,3 раза в разные сезоны), в половой структуре — преобладание самок по сравнению с самцами (в 1,6—2,1 раза в разные сезоны), в возрастной структуре — весной неполовозрелых лягушек в 2 раза больше, чем половозрелых.

2. Влияние карбаминовых пестицидов на половую систему озёрной лягушки проявляется не столько в изменении величины гонад (абсолютное значение и индекс гонад), сколько в изменении сроков и продолжительности периода размножения из-за разновременного наступления соответствующих стадий зрелости гонад у самцов и самок.

В популяции из загрязнённого карбаминовыми пестицидами пруда, в апреле количество самцов озёрной лягушки, готовых к размножению (18,7 %) достоверно меньше, чем в популяции из чистого водоёма (68,4 %). Количество самок, готовых к размножению, в загрязнённом водоёме 91,6 %, а в чистом 65,4 %. Таким образом, в апреле интенсивное размножение лягушек идёт только в чистом водоёме.

В мае интенсивность размножения в чистом водоёме снижается из-за малого числа самцов с семенниками 4 стадии зрелости (6,2 %). Но в популяции из загрязнённого водоёма размножение лягушек в этом месяце происходит. При этом размножение здесь не является эффективным, так как в загрязнённом водоёме отмечено малое количество готовых к размножению самцов (17,1 %).

3. В экспериментальных условиях концентрации, равные 1 ПДК обоих карбаминовых инсектицидов, являются сублетальными для головастиков озёрной лягушки, в них выживает 25 % (карбарил) и 15 % (феноксикарб) особей. При этом для головастиков характерно замедление темпов развития в растворах карбарила на 5—12 дней, в растворах феноксикарба на 8—13 дней. Размеры головастиков в растворах обоих пестицидов не отличаются от размеров контрольных особей. Тератогенный эффект исследованных нами карбаминовых пестицидов относительно невелик.

В более высоких концентрациях инсектицидов (2 и 4 ПДК) гибнет 100 % головастиков, в растворах карбарила на 43—55-й дни, в растворах феноксикарба на 28—42-й день.

4. Содержание подопытных половозрелых озёрных лягушек в растворах инсектицидов карбарила и феноксикарба (концентраций 1—10 ПДК) в течение пяти суток не оказывало летального воздействия на животных.

Экспозиция озёрных лягушек в наименьшей из исследованных концентраций карбарила (0,0005 *мг/л* — 1 ПДК) не меняет показателей красной крови. В концентрациях карбарила 2—10 ПДК и феноксикарба 1—4 ПДК показатели красной крови возрастают, что является адаптивным — увеличивается кислородная ёмкость крови. Более высокие концентрации феноксикарба вызывают патологические процессы (анемию) у озёрных лягушек.

В растворах карбаминовых инсектицидов концентрации 1 ПДК, изменения числа лейкоцитов в крови озёрной лягушки не происходит. Начиная с концентрации обоих инсектицидов, равной 2 ПДК, имеет место лейкоцитоз (в 1,6—3,2 раза), возрастающий по градиенту концентрации инсектицида. Лейкоцитоз сопровождается разноплановыми изменениями в лейкоцитарной формуле крови. Под действием низких концентраций феноксикарба отмечены общий нейтрофилёз и лимфоцитопения, под действием высоких концентраций — эозинопения, правый сдвиг нейтрофилов и лимфоцитоз. Под действием низких концентраций карбарила происходит сдвиг нейтрофилов вправо, а под действием высоких концентраций происходит эозинопения, общий нейтрофилёз и лимфоцитопения. Таким образом, сходная картина изменений лейкоцитарной формулы наблюдается в одинаковой концентрации обоих пестицидов, равной 0,005 *мг/л* (феноксикарб — 1 ПДК, карбарил — 10 ПДК).

5. Экспериментально установлено, что концентрации равные 1 ПДК обоих исследованных карбаминовых пестицидов — феноксикарба и карбарила являются являются пороговыми для взрослых особей (не меняют показателей красной и белой крови) и сублетальными для головастиков. Концентрации ≥ 2 ПДК являются эффективными для взрослых особей и летальными для головастиков.

Список публикаций по теме работы

Публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Якушева, Я.А. Гематологические показатели озёрной лягушки, экспонированной в растворах карбаминовых инсектицидов / Я.А. Якушева, Т.Ю. Пескова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. — Краснодар, 2010. — № 3 (24). — С. 49—53.
2. Якушева, Я.А. Влияние карбаминовых пестицидов на степень зрелости гонад озёрной лягушки *Rana ridibunda* PALL. при обитании в загрязнённом водоёме / Я.А. Якушева // Естественные науки. Журнал фундаментальных и прикладных исследований. — 2011. — № 3 (36). — С. 64—70.
3. Якушева, Я.А. Численность и структура популяции озёрной лягушки *Pelophylax ridibundus* в водоёме, загрязнённом карбаминовыми инсектицидами / Я.А. Якушева, Т.Ю. Пескова // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. — 2014. — № 3. — С. 53—65.

Публикации в других изданиях:

4. Пескова, Т.Ю. Реакция красной крови озёрной лягушки на действие двух карбаминовых инсектицидов в эксперименте / Т.Ю. Пескова, Я.А. Якушева // Актуальные вопросы экологии и охраны природы экосистем южных регионов России и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 2010. — С. 76—79.
5. Якушева, Я.А. Состояние гонад озёрной лягушки *Rana ridibunda* PALL. при обитании в водоёме, загрязнённом карбаминовыми инсектицидами / Я.А. Якушева, Т.И. Жукова // Проблемы изучения и сохранения позвоночных животных антропогенных водоёмов. — Саранск, 2010. — С. 190—193.
6. Пескова, Т.Ю. Влияние карбаминовых инсектицидов в эксперименте на ранние стадии развития озёрной лягушки / Т.Ю. Пескова, Я.А. Якушева // Актуальные вопросы экологии и охраны природы экосистем южных регионов России и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 2011. — С. 97—102.

Подписано в печать 15.02.15. Печать цифровая. Формат 84×108 1/16.
Бумага тип. №1. Гарнитура «Times New Roman». Уч.-изд. л. 1,0.
Тираж 100 экз. Заказ № .

Издательско-полиграфический центр КубГУ
350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.