

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

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)

Д и с с е р т а ц и я
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель: Пескова Татьяна Юрьевна,
доктор биологических наук, доцент

Краснодар — 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
Глава 1. АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМЫ	8
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	39
Глава 3. ЧИСЛЕННОСТЬ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ В ВОДОЁМЕ, ЗАГРЯЗНЁННОМ КАРБАМИНОВЫМИ ИНСЕКТИЦИДАМИ	50
Глава 4. ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГОНАД ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАРБАРИЛА И ФЕНОКСИКАРБА	62
Глава 5. ВЛИЯНИЕ КАРБАМИНОВЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ГОЛОВАСТИКОВ ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ	81
Глава 6. ДИНАМИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАРБАРИЛА И ФЕНОКСИКАРБА	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	112
ВЫВОДЫ	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117

ВВЕДЕНИЕ

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 карба-

миновых 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 экологотоксикологических 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 головастика 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 головастика 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, иллюстрирована 16 рисунками и 18 таблицами. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы, в котором приведено 223 источника, в том числе 109 на иностранных языках.

Глава 1. АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМЫ

В истории активного применения пестицидов выделяют три поколения этих препаратов [Федоров, Яблоков, 1999]. К пестицидам первого поколения относят синтетические инсектициды органического происхождения, появившиеся после первой мировой войны, например, фенотиазин.

После второй мировой войны появляются пестициды второго поколения — хлорорганические пестициды (ХОП), фосфорорганические пестициды (ФОП), карбаматы. Начало применению ХОП положил наиболее известный препарат ДДТ (*n,n'*-дихлордифенилтрихлорметилметан). Столь же широко применялся из хлорорганических пестицидов ГХЦГ (гексахлоран — 1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан, а точнее — гамма-изомер ГХЦГ — линдан). В несколько меньшем количестве использовались такие ХОП, как альдрин и дильдрин, токсафен, полихлорпинен, гептахлор и хлоран. Использовались также гербициды группы хлорпроизводных феноксиуксусной кислоты — 2,4,5-Е, 2,4-Д (последний используется и в настоящее время). Почти одновременно с ГХЦГ были синтезированы вещества класса ФОП — тиофос (паратрион), меркаптофос и др. До сих пор в мировом ассортименте постоянно присутствуют 70—80 ФОП — эфиры, тиоэфиры, эфирамины фосфорной, тио- и дитиофосфорной и фосфоновой кислот. В конце 1940-х гг. были получены карбаматные гербициды, а в конце 1950-х гг. — гербициды класса симтриазинов, в частности хлорированные симтриазины (симазин, атразин, цианазин).

Третье поколение пестицидов составили в основном синтетические пиретроиды и гормональные препараты. Принципиальная особенность пестицидов третьего поколения, обладающих высокой инсектицидной активностью и незначительной устойчивостью в окружающей среде, — резкое снижение норм расхода [Лунев, 1992]. Хотя возможность использования пиретроидов в сельскохозяйственных целях обсуждалась с конца 1950-х гг., фактически это произошло не так давно; в частности, амбуш, цимбуш и децис начали производиться в 1977 г. Сейчас пиретроиды — самая большая группа инсектицидов, которые применяются широко. Недостатки этой группы пестицидов — сравнительно высокая токсич-

ность для гидробионтов и, прежде всего, для рыб [Мельников, 1992]. Поэтому не допускается присутствие в воде рыбохозяйственных водоёмов таких препаратов, как каратэ и децис [Пестициды, 1992].

Из-за долголетнего неограниченного применения ДДТ в настоящее время в биосферном круговороте находится несколько миллионов тонн этого инсектицида [Фоновый мониторинг ... , 1990]. Диапазон влияния этого пестицида на гидробионтов очень велик. Остро токсичны даже ничтожные концентрации ДДТ — всего лишь в несколько раз больше фоновых. ПДК для ДДТ в рыбохозяйственных водоёмах — отсутствие [Федоров, Яблоков, 1999]. По данным Т. Н. Воробьевой, А. А. Волкова, Ю. А. Ветер [2009], в последнее десятилетие виноградники Кубани ежегодно интенсивно обрабатывались пестицидами различных групп: хлорорганическими и фосфорорганическими препаратами (ХОП и ФОП), пиретроидами, бензимидазолами, триазолами, металаксилами и др. Многолетний эколого-токсикологический мониторинг виноградников, обрабатываемых пестицидами, позволил установить, что загрязнение почвы в среднем достигает превышения ПДК в 1,6 раз (ХОП), в 2,5 раза (ФОП), в 3,5 раза (пиретроиды), в 1,7 раза (триазолы). В винограде также обнаружены избыточные количества пестицидов, как из числа «фоновых» (первичных), так и «сезонных» (вторичных) почвенных токсиантов: изомеры ГХЦГ, метаболиты ДДТ, хзолон, децис, фастак, карате, фалькон, хлорпирифос, байлетон, манацеб и др.

Пестициды являются физиологически активными веществами, поэтому к ним предъявляются особые требования, обеспечивающие достаточную безопасность их практического использования. По мере накопления знания требования к пестицидам ужесточаются.

Основные требования к пестицидам следующие: 1) персистентность, которая характеризуется периодом полураспада (или полного распада) на простейшие химические соединения, безопасные для человека и полезных организмов; 2) минимальная хроническая токсичность для человека и животных; 3) отсутствие мутагенного, канцерогенного и тератогенного действия; 4) отсутствие отрицательных эффектов при потреблении с пищевыми продуктами малых доз препара-

тов человеком и животными; 5) отсутствие кумулятивного действия; 6) избирательность действия по отношению к полезным организмам; 7) малая токсичность для полезных гидробионтов и ряд других [Мельников, 1992].

Для оценки влияния ксенобиотиков на живую природу необходимо проводить исследования в трёх направлениях. Первый этап — химический скрининг, в ходе которого различными токсикологическими тестами на соответствующих видах животных исследуются возможные эффекты воздействия химических веществ и идентифицируются опасные для живой природы вещества. Второй этап — изучение популяций диких животных, обитающих в загрязнённых районах. Устанавливается смертность среди них с учётом нагрузки токсических веществ на организм, выявляется связь с сопутствующими факторами среды. Третий этап — исследование взаимоотношений ксенобиотиков и других стрессоров при контроле за условиями их воздействия [Hoffman, Rattner, Hall, 1990].

На примере мониторинга фосфорорганических инсектицидов и карбаматов, являющихся нестойкими инсектицидами, рассмотрены возможности оценки их влияния на популяции различных животных. При этом отмечены возможность учёта не только гибели отдельных особей, но и уровень рождаемости, развития потомства и различные показатели физиологического состояния [Greig-Smith, 1989].

Первоначально исследования влияния пестицидов на земноводных касались в основном, двух моментов — накопления пестицидов в организме и смертности на разных этапах онтогенеза (икра, личинки, взрослые животные).

Относительно накопления пестицидов в организме земноводных есть большое количество данных.

Так, выяснено, что из икринок травяной лягушки *Rana temporaria*, экспонированных в растворе ДДТ сразу после откладки, появились головастики с большим содержанием в тканях пестицида, но в икринки на более поздних стадиях развития он не проникал [Cooke, 1972]. У другого вида земноводных отмечена иная зависимость. Зародыши лесной лягушки *Rana sylvatica* старшего возраста, не защищённые слизистыми оболочками, аккумулируют ДДТ в 6—10 раз больше, чем зародыши на более ранних стадиях развития [Licht, 1985].

Содержание широко используемых хлорорганических пестицидов определяли у личинок и взрослых зелёных лягушек *Rana lessonae* и *Rana esculenta*, обитающих в пруду зоны интенсивного земледелия центральной Италии [Bioaccumulation of organochlorine ... , 2005]. У амфибий обоих видов в цельных гомогенатах явно преобладал ДДТ (максимальное накопление в мозгу лягушек); в яичниках преобладали эндосульфат и эндрин. У головастиков содержание пестицидов в тканях ниже, чем у взрослых особей. Содержание ХОС пестицидов в тканях лягушек было существенно выше, чем в воде пруда. ДДТ даже в небольших концентрациях быстро проникал в тело головастиков лесной лягушки *Rana sylvatica* и находился в значительно больших концентрациях в печени, чем в других частях тела [Licht, 1976]. Происходит накопление ДДТ и метоксихлора в жировых телах крикливой лягушки *Rana clamitans*, лягушки-быка *R. catesbeiana* и леопардовой лягушки *Rana pipiens* [Jaskoski, Kinders, 1974]. Накопление метоксихлора в организме песочной жабы *Bufo arenarum* происходило более интенсивно из воды, чем при введении токсиканта с пищей [Hall, Swineford, 1979]. При введении взрослым травяным лягушкам ДДТ наблюдали гибель животных при накоплении ДДТ в печени [Cooke, 1974]. Выяснено, что абсорбция кожей земноводных хлорорганических инсектицидов (ДДТ, линдан и др.) происходит пропорционально концентрации токсиканта в воде [Kaiser, Dunham, 1974].

Концентрация ХОС в тканях лягушки *Rana utricularia* и леопардовой лягушки *R. pipiens* из загрязнённых мест обитания была ниже, чем в донных отложениях. Предполагается, что отсутствие видимого влияния загрязнения среды ХОС на состояние популяций земноводных связано не с их низкой физиологической чувствительностью, а с низкой аккумуляцией ими ХОС [Glennemeier, Vegnoche, 2002].

Отмечено повышенное содержание производных ДДТ у головастиков и взрослых особей королевской квакши *Pseudacris regilla* в сокращающихся популяциях в Калифорнии. Таким образом, подтверждается предположение о связи исчезновения популяций земноводных с применением пестицидов [Sparling, Fellers, McConnel, 2001]. Параллельно проведённое исследование на крикливой ля-

гушке *Rana clamitans* привело авторов к иному выводу. В водоёмах Мичигана (США) определяли концентрации хлорорганических загрязнителей в воде, в донных отложениях, в яйцах, головастиках и тканях взрослых особей крикливой лягушки *Rana clamitans*, регистрировали морфологические уродства. Уродства отмечены у 9,3 % особей (ниже фонового уровня уродств у данного вида); концентрации ХОС незначительны. Авторы считают, что загрязнение среды в этом регионе не достигает того уровня, который может сказаться на состоянии земноводных [Organochlorine insecticides ... , 2001].

Взрослых щёлкающих квакш *Acris crepitans* содержали в воде с добавлением паратиона. Смертность лягушек была прямо связана с концентрацией паратиона. Квакши аккумулировали паратион. Чтобы определить, накапливается ли пестицид до токсического уровня, их скармливали американским пустельгам (*Falco sparverius*). Одна из четырёх птиц, питавшихся лягушками (после пребывания в концентрации паратиона 10 мг/л) погибла от фосфорорганического отравления менее чем через три часа. У двух других птиц этой же группы отмечено снижение фермента холинэстеразы на 45 %. У птиц, питавшихся квакшами, которых содержали при более низких концентрациях паратиона, смертности и ингибирования активности холинэстеразы не отмечено [Parathion accumulation ... , 1982].

По Западному Предкавказью есть сведения, что в начале 1990-х гг. вода рисовых чеков в окрестностях г. Краснодара (ст-ца Елизаветинская) содержала незначительное количество ХОС — суммарное количество 0,0033 мг/л. Это связано с переходом основной массы токсикантов в грунт, где концентрация ХОС в 22 раза выше, чем в воде (0,0724 мг/кг), что свидетельствует о замедленной скорости метаболических процессов. Накопление ХОС в грунте подтверждает агрессивность малых доз концентраций пестицидов. В мышцах озёрной лягушки сумма ХОС была вдвое, а в печени в 28 раз больше, чем в воде; у сеголеток зелёной жабы, только что завершивших метаморфоз, развитие которых проходило в рисовом чеке, сумма ХОС (в организме в целом) в 23 раза больше, чем в воде, и соизмерима с концентрацией ХОС в грунте [Пескова, 2001]. В более ранних исследованиях показано, что при обитании в рисовых чеках Западного Предкавказья суммарное

содержание ХОС в органах озёрной лягушки в 4—62 раза превышает таковое в воде [Жукова, Кубанцев, 1980; Жукова, Кубанцев, Бурлаченко, 1986], а по другим источникам это превышение может быть ещё более впечатляющим — в 77—168 раз [Жукова, Кубанцев, 1982]. В то же время краснобрюхая жерлянка *Bombina bombina*, обитающая в том же рисовом чеке, что и упоминающиеся выше озёрная лягушка и зелёная жаба *Bufo viridis*, по данным Т. Ю. Песковой [2001], содержит в тканях такое же количество ХОС, как и в воде — 0,0033 мг/кг.

Многие исследователи отмечают под действием пестицидов высокую *смертность* земноводных на разных стадиях онтогенеза (эмбрионы, личинки, взрослые), а также различные *нарушения метаморфоза*. Отрицательное воздействие установлено как в модельных, лабораторных условиях, так и в природных экосистемах, где наблюдалась гибель, снижение численности и нарушение динамики численности животных. В водной среде происходит кумуляция пестицидов в организме животных и хроническая интоксикация [Скокова, 1977].

ДДТ относится к группе пестицидов второго поколения. Поэтому большинство исследований влияния этого препарата осуществлялось в 1970—1990 гг. Однако и сейчас в природе сохранились большие количества этого вещества, поэтому и в 21 веке эти исследования не потеряли актуальности, о чём свидетельствует большое число современных публикаций.

Воздействие ДДТ на эмбрионов ранних стадий развития лесной лягушки *Rana sylvatica* не вызывает заметных нарушений морфологии и успешности выклева. Половина личинок, появившихся из икры, на которую воздействовали ДДТ на поздней стадии развития, погибли на 2-й день опыта. Слизистые оболочки надёжно защищают зародышей амфибий от воздействия ДДТ. Наиболее чувствительны к отравлению эмбрионы последних стадий — перед выклевом из икринок, лишённых защитных слизистых оболочек [Licht, 1985]. ДДТ в следовых количествах вызывал 100%-ю гибель эмбрионов шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* на ранних стадиях (стадия гастрюляции) [Мелехова, 1994]. Низкие концентрации метоксихлора (широко применяемого вместо ДДТ) не влияли на смертность, но отмечено ускорение вылупления эмбрионов длиннопалой амбистомы *Ambystoma*

macrodactylum [Ingermann, Bencic, Eroschenko, 1997]. В растворах ГХЦГ концентрации 1,0 мг/л происходит 100%-ная гибель озёрной лягушки *Rana ridibunda*, при концентрации 0,5 мг/л гибнет 75 % икры, при концентрации 0,1 мг/л — 36 % икры, при концентрации 0,05 мг/л — 14 % икры (в контроле — фоновая концентрация ГХЦГ для центральных районов Краснодарского края — 1,3 % гибели) [Жукова, Малахов, 1995].

В результате действия ДДТ изменяется характер морфогенеза головастика бесхвостых земноводных [Wu, Hayes, Gill, 1995]. У головастика травяной лягушки после часового пребывания в растворах ДДТ (0,01—10 мг/л) отмечены нарушения координации, гиперактивность и часто смерть. Головастики с повышенной активностью являются объектом активной охоты со стороны гребенчатых тритонов, у которых повышается концентрация ДДТ в организме [Cooke, 1970; 1971]. Растворы ДДТ низких концентраций (даже при длительном содержании в них головастика травяной лягушки) существенно не меняли поведения головастика [Cooke, 1973]. Наиболее чувствительны к ДДТ головастики на стадиях непосредственно перед или после появления задних конечностей [Cooke, 1972]. ДДТ оказывает на головастика травяной лягушки и серой жабы более выраженное действие, чем дильдрин, у них повышалась двигательная активность [Cooke, Ferguson, 1976]. ДДТ оказывает более высокий токсический эффект (в сравнении с севином и фентионом) на головастика обыкновенной жабы *Bufo bufo* в период их премеаморфоза. Чувствительность головастика уменьшается на более поздних стадиях их развития и вновь увеличивается при метаморфозе [Marchal-Segault, 1976]. Отмечена высокая личиночная смертность озёрной лягушки *Rana ridibunda* (от 30 до 100 % в зависимости от дозы пестицида) под влиянием ГХЦГ (линдан) — как для тех головастика, которые появились из икры, подвергнутой воздействию пестицида, так и для головастика, не подвергнутой такому воздействию. К действию растворов низких концентраций ГХЦГ икра более устойчива, чем головастики [Жукова, Малахов, 1995]. Дильдрин при короткой экспозиции (5 дней) не вызывает заметных изменений размеров, окраски и формы головастика песочной жабы *Bufo arenarum*, а в малых дозах — ещё и ускоряет течение мета-

морфоза. При длительной экспозиции (более 5 дней) дильдрин вызывает заметные нарушения параметров тела, а на 20—25 день гибель личинок [Liamos, Castro, P.de D'Angelo, 1985].

Воздействие ХОС (в концентрациях, сопоставимых с наблюдаемыми в природе) на головастики и яйца лягушки *Rana utricularia* и леопардовой лягушки *R. pipiens* проявляется в существенном повышении смертности головастиков и некотором снижении темпов их роста [Glennemeier, Vegnoche, 2002]. Экспонирование головастиков шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* к ацетохлору в концентрации, сопоставимой с имеющей место в среде при применении гербицида, приводит к ускорению метаморфоза. При этом обнаруживаются изменения морфологии хвоста [Exposure to the herbicide ... , 2002].

ФОС пестициды по острой токсичности для амфибий несколько уступают большинству ХОС пестицидов.

В 2000 г. в США запрещено производство хлорпирифоса, до этого широко использовавшегося. Исследовали влияние хлорпирифоса на эмбрионы леопардовой лягушки *Rana pipiens*. Показано, что пестицид не вызывает внешних отклонений у эмбрионов лягушки, а уровень его накопления в тканях эмбрионов не превышает фоновый. В то же время к хлорпирифосу весьма чувствительны водные ракообразные, в частности *Daphnia magna* [Gaizick, Gupta, Bass, 2001]. Абат 4-Е — эмульсионная форма выпуска темефоса, широко распространённого фосфорорганического пестицида, употребляемого для борьбы с комарами, но летального и для других беспозвоночных, а также для рыб. Исследовали его влияние на головастики крикливой лягушки *Rana clamitans*. Отмечено изменения характера двигательной активности и повышение смертности в присутствии препарата [Sparling, Low, Pinkney, 1997].

У головастиков шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* в присутствии малатиона происходили нарушения плавательной активности, а также деформация хвоста с возрастающей частотой от 5 до 70 %, после чего большинства особей погибли. При более низких концентрациях таких явлений не отмечено. Вне зависимости от концентрации малатион тормозил прирост массы тела [Webb, Crain, 2006]. Рогор

даже в очень низких концентрациях вызывает 100%-ную гибель икры и резко снижает выживаемость головастиков (из чистой икры) остромордой лягушки *Rana arvalis*, причём чувствительность по мере развития личинки снижается [Скрылева, Коннова, 1989].

Выявлен различный уровень острой токсичности глифосфатных пестицидов для головастиков четырёх североамериканских видов: крикливой лягушки *Rana clamitans*, леопардовой лягушки *Rana pipiens*, лесной лягушки *Rana sylvatica*, американской жабы *Bufo americanus*. Хроническая токсичность варьирует в зависимости от видовой принадлежности и возрастной стадии личинок. Токсичность проявляется в уменьшении размеров, увеличении продолжительности метаморфоза, проявлениях аномалий развития хвоста и гонад. Эти эффекты могут быть вызваны нарушениями гормональной регуляции [Toxicity of glyphosate-based ... , 2004]. При воздействии гутиона на королевскую квакшу *Pseudacris regilla* обнаружено снижение длины тела и массы головастиков (в 1,6 и 3,2 раза соответственно) [Impact of ... , 1998].

При воздействии раундапа на головастиков лесной лягушки *Rana sylvatica* в присутствии хищного зеленоватого тритона *Notophthalmus viridescens* токсичность пестицида возрастала в два раза. Высказано предположение о том, что сочетание стресса с различными пестицидами может привести к повышению их токсичности для амфибий [Ralyea, 2005]. Совместное воздействие карбарила и нитрата аммония проявлялось в торможении метаморфоза и снижении выживаемости головастиков крикливой лягушки *Rana clamitans*. На основании этих фактов обсуждена необходимость учёта комплексного воздействия ксенобиотиков на развитие амфибий в водных экосистемах [Multiple sublethal ... , 2005].

Кладки австралийской лягушки *Limnodynastes peronii* инкубировали при температурах 14 и 20 °С. Выведенных головастиков подвергали воздействию инсектицида эндосульфана. Отмечается взаимосвязанное влияние температуры и загрязнителя на головастиков. Влияние пестицида выражается в уменьшении размеров головастиков и их повышенной уязвимости по отношению к хищникам. Однако инкубация при более высокой температуре снижает эти негативные последствия загрязнения [Broomhall, 2004].

Концентрация эндосульфана, соответствующая содержанию инсектицида в природных водоёмах, вызывала снижение интенсивности питания головастика пятнистоногой литории *Litoria freycineti*, а также приводила к их смертности (17 %), а у выживших — в дальнейшем к понижению способности спастись от хищников. Присутствие в водоёме головастика другого вида — литории Перона *Litoria peronii* не влияло на выживаемость головастика *Litoria freycineti*, но приводило к снижению темпов их роста [Broomhall. Shine, 2003]. Метоксихлор при воздействии на ранние эмбриональные и личиночные стадии шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* не влиял на летальность, тератогенность и торможение роста [Effect of methoxychlor ... , 2004].

В статье Т. Ю. Песковой [2001] приведены данные о влиянии различных пестицидов (пиретроидные пестициды — децис (декаметрин) и каратэ (цигалотрин-L), ФОС пестицида фозалон (бензофосфат) и гербицида купрозан (хомецин) на головастика озёрной лягушки. Установлены пределы смертности головастика в растворах и динамика смертности, рассчитаны уравнения кривых, описывающих гибель в растворах различных токсикантов. Для каждого токсиканта существует собственная пороговая концентрация, превышение которой вызывает изменение характера динамики гибели личинок того или иного вида амфибий. Например, для озёрной лягушки такими пороговыми концентрациями являются 0,0007 мл/л каратэ и 0,0013 мл/л дециса, 0,01 мл/л фозалона и 1,0 мл/л купрозана.

Средние концентрации фозалона и купрозана приводят к 50%-ной гибели головастика озёрной лягушки на 18—23 день, кратковременное воздействие пиретроидных пестицидов — на 3—6 день, а более высокие концентрации этих и других пестицидов — через 2—20 ч после помещения в них животных [Пескова, 2003].

Данные о влиянии *атразина* на личиночное развитие земноводных очень противоречивы, о чём можно судить по приводимому ниже обзору. Длительная экспозиция в лабораторных условиях личинок бесхвостых амфибий (лесной лягушки *Rana sylvatica* и щёлкающей квакши *Acris crepitans*) в среде, содержащей атразин, не оказало влияния на рост, массу животных и скорость их развития. Од-

нако, авторы полагают, что атразин, содержащийся в пище или субстрате природных водоёмов, может влиять на рост и развитие личинок [Gucciardo, Farrar, 1996]. Отмечена различная острая чувствительность головастиков природной лесной лягушки *Rana sylvatica* и лабораторной шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* к атразину [Floid, Wade, Crain, 2008]. Вообще, о действии атразина на ранние стадии развития шпорцевой лягушки имеются разноречивые сведения. Так, при воздействии атразина на личинок шпорцевой лягушки на разных стадиях метаморфоза регистрировали нарушения морфологических преобразований [Freeman, Rayburn, 2005; Perturbation of organogenesis ... , 2008]. По другим данным, экспозиция в растворах атразина не приводила к отклонениям по выживаемости, росту и метаморфозу, а также не вызывала заметных морфологических изменений личинок шпорцевой лягушки [Response of larval ... , 2003]. Головастики шпорцевой лягушки, подвергнутые воздействию атразина, испытывают неустойчивость в гомеостазе энергии. Это, возможно, является причиной меньшей массы тела и размера жирового тела у подопытных головастиков [Atrazine exposure ... , 2007]. Показано, что атразин в реальной для окружающей среды концентрации не вызывал задержки метаморфоза у головастиков американской жабы *Bufo americanus*, что не соответствует ранее полученным авторами данным о задержке метаморфоза шпорцевой лягушки [Freeman, Bessie, Rayburn, 2005].

Личинок четырёх видов бесхвостых амфибий (ранних и поздних стадий развития) экспонировали в течение месяца в растворах атразина очень низких концентраций (3—100 частей/млрд при стандарте питьевой воды 3 части/млрд); отмечено снижение выживаемости при повышении концентрации атразина [Storrs, Kiesecker, 2004]. Исследовали действие атразина на эмбрионов, личинок и взрослых особей разных видов бесхвостых амфибий [Allran, Karasov, 2001]. Экспозиция в атразине икры леопардовой лягушки *Rana pipiens*, лесной лягушки *Rana sylvatica* и американской жабы *Bufo americanus* не влияла на вылупляемость и смертность (через 76 ч после вылупления). Однако отмечено дозозависимое увеличение процента появления деформированных личинок у всех трёх видов. У взрослых леопардовых лягушек экспозиция в атразине приводила к усилению

буккальной и торакальной вентиляции. Однако так как атразин не влиял на количество гемоглобина, это респираторное расстройство, по-видимому, не является следствием снижения способности крови переносить кислород. Лягушки, экспонируемые к наиболее высокой концентрации атразина, переставали питаться на время эксперимента, но их масса не менялась, видимо, за счёт компенсаторного поглощения воды. Вредная для амфибий концентрация атразина значительно превышает обнаруживаемую в водах Северной Америки.

При воздействии на яйца и личинок атразин повышает активность личинок амбистомы *Ambystoma barbouri* при беспокойстве, что, очевидно, связано с воздействием реагента на нервную систему [Lethal and sublethal ... , 2003]. Исследовали последствия воздействия атразина на личинок амбистомы *Ambystoma barbouri* для постметаморфизировавших особей. Через 4 и 8 месяцев провели эксперименты по оценке потери влаги. Особи, подвергавшиеся воздействию атразина в концентрации ≥ 40 мкг/л, существенно отличались повышенной активностью и более высокой потерей влаги. Полученные результаты показывают, что два глобальных фактора — загрязнение среды и потепление климата — могут усиливать негативное воздействие друг друга. При этом их воздействие может быть не одновременным [Rohr, Palmer, 2005].

Карбаминные 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].

Относительно влияния карбарилла на развитие изменчивой квакши *Hyla versicolor* существуют различные мнения, подчас достаточно противоречивые. По данным S. Saura-Mas, M. D. Boone, Ch. M. Bridges [2002], исследовали воздействие карбарилла в концентрации 3,5 мг/л на яйца и головастиков изменчивой квакши *Hyla versicolor* (состояние особей при метаморфозе, продолжительность метаморфоза и выживаемость до метаморфоза). Не найдено прямого влияния инсектицида на исследованные параметры. Предполагается, что карбарилл может оказывать косвенное негативное воздействие на квакш. В более поздней работе тех же

авторов отмечено, что содержание головастиков изменчивой квакши *Hyla versicolor* в присутствии карбарила (сублетальная концентрация 2,5 мг/л) увеличивало их выживаемость до наступления стадии метаморфоза и повышало его эффективность на 27 % [Boone, Bridges-Dritton, 2006]. В то же время обнаружено, что карбарил в лабораторных условиях вызывает гибель 10—60 % головастиков изменчивой квакши *Hyla versicolor*. Если при этом присутствуют химические признаки хищника (личинки желтопятнистой амбистомы *Ambystoma maculatum*), летальность возрастает в 2—4 раза, достигая 60—98 %. Таким образом, в реальных условиях применение карбарила потенциально может приводить к гибели популяций квакши [Ralyea, Mills, 2001]. Выявлена значительная изменчивость толерантности к карбарилу личинок изменчивой квакши *Hyla versicolor* в одной популяции. Эксперименты с полусибсами показали, что изменчивость между производителями объясняет значительную часть изменчивости толерантности головастиков к карбарилу, то есть подтверждается наследственная, генетическая основа толерантности личинок. При сравнении выживания головастиков в чистых и загрязнённых водоёмах можно видеть установление компромисса между жизнеспособностью головастиков и их толерантностью к химическому загрязнению. Понимание соотношения между генетической и средовой изменчивостью, определяющего толерантность к химическому загрязнению, важно для оценки скорости адаптации, и потенциально — для сохранения видов [Semlitsch, Bridges, Welch, 2000].

Обнаружено влияние карбарила на выживаемость эмбрионов дальневосточной жерлянки *Bombina orientalis*, появление уродств, вызванных нарушением развития осевого скелета [Kang, Park, Gye, 2010]. Изучено влияние карбарила на выживаемость головастиков леопардовой лягушки *Rana pipiens* и американской жабы *Bufo americanus* при различной плотности [Distel, Boone, 2011]. Выяснено, что на питание и выживаемость американской жабы после метаморфоза не оказывало влияние воздействие карбарила, однако, воздействие коротко действующих инсектицидов может быть более выраженным для водных стадий развития [Webber, Boone, Distel, 2010].

Показано, что повышение температуры снижает выживаемость головасти-

ков крикливой лягушки *Rana clamitans* в присутствии карбарила [Boone, Bridges, 1999]. Карбарил отрицательно влияет на все показатели (размеры, скорость роста, количество жировых запасов, время личиночного развития, долю выживших и долю метаморфизировавшихся) личинок желтопятнистой амбистомы *Ambystoma maculatum* и снижает выживаемость и долю метаморфизирующих особей у мраморной амбистомы *Ambystoma opacum*. Повышение плотности личинок негативно влияет на размеры тела, запасаемый жир, рост и метаморфоз у желтопятнистой амбистомы. Отмечено также взаимное усиление влияние инсектицида и плотности на метаморфоз [Metts, Hopkins, Nestor, 2005].

При кратковременном (15 мин) помещении в суспензию карботокса головастики травяной лягушки *Rana temporaria* менялась двигательная активность животных, которая восстанавливалась при последующем переносе в водопроводную воду. Длительное пребывание в такой суспензии заканчивалось смертью головастика через 24—48 ч; более низкие концентрации карботокса вызывали появление уродств и повышенную смертность. Головастики шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* несколько более резистентны к действию карботокса [Rzehak, Maryanska-Nadachowska, Jordan, 1977]. Более токсичными для головастика шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* были химически «грязные» карбамидные препараты, под их влиянием возникали различные уродства и замедлялась резорбция хвоста. Очищенные препараты не приводили к нарушениям раннего развития, формирования конечностей, хотя в высокой концентрации могли приводить к замедлению резорбции хвоста [Effect of sulfometuron ... , 1999].

Пиретроидные пестициды относятся к пестицидам третьего поколения, их позиционируют как относительно безвредные для живых организмов. Тем не менее, исследования земноводных показали, что это далеко не всегда соответствует действительности. Так, для травяной лягушки *Rana temporaria* токсичность пиретроидного дельтаметрина в 100—10 000 раз выше, чем линдана (ГХЦГ) [Thyband, 1990]. Под влиянием пиретроидного пестицида эсфенвалерата снижалась двигательная активность головастика леопардовых лягушек и наблюдались судороги (при повышении концентрации). Летальность возрастала при повышении

температуры воды с 18 до 22 °С [Materna, Rabeni, LaPoint, 1995]. На основании экспериментов сделано предположение, что у головастика шпорцевой лягушки существует система антиоксидантной защиты, которая препятствует интенсификации процессов перекисного окисления липидов. Воздействие пиретроидных пестицидов дециса и фастака приводило к активированию ферментов антиоксидантной защиты. Токсический эффект пиретроидных пестицидов проявлялся на уровне действия минимальных летальных доз на первые и вторые сутки. При более длительном действии пиретроидов (96 ч) наблюдали нормализацию интенсивности перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты, что свидетельствует о развитии адаптационных механизмов [Биохимические аспекты ... , 2001].

В лабораторных экспериментах смесь пестицидов повышала процент гибели и удлиняла метаморфоз личинок леопардовой лягушки *Rana pipiens* [Pesticide mixtures ... , 2006].

Исследовали воздействие промышленных пестицидов (как по отдельности, так и в различных парных сочетаниях) на личинок бесхвостых земноводных. Обнаружено снижение выживаемости личинок, замедление роста. При низких концентрациях пестицидов их сочетание в большей степени влияло на личинок, чем каждый из компонентов в отдельности. Однако, при более высокой концентрации пестицидов их совокупное влияние не превышает влияния наиболее сильнодействующих из них. Предполагается, что в природе комбинационное воздействие пестицидов может быть предсказано по их совокупной концентрации [Ralyea, 2004].

Есть немногочисленные данные о влиянии на земноводных новых инсектицидов. Так, Mimic^R 240LV — новый узкодействующий инсектицид, активным ингредиентом которого является тебуфеноцид, имитирующий действие гормона линьки и специфически действующий на личинок *Lepidoptera*. Исследовали действие одноразового и двойного использования препарата на развитие и рост эмбрионов и личинок четырёх видов рода *Rana* (лесной лягушки *R. sylvatica*, леопардовой лягушки *R. pipiens*, крикливой лягушки *R. clamitans* и лягушки-быка *R. catesbeiana*). Из обработанных эмбрионов вылупились почти 90% животных.

Экспозиция не нарушала рост, и преаморфозные головастики крикливой лягушки успешно прошла метаморфоз в наиболее высокой концентрации. Авторы делают вывод о том, что инсектицид Mimic^R 240LV не действует на водные стадии лягушек [Pauli, Coulson, Berril, 1999].

Микробный пестицид *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* воздействует на насекомых птиц, млекопитающих и некоторых насекомых. Проверили потенциальное влияние биопестицида на саламандр пяти видов в США, в частности предполагалось смещение их пищевых спектров. В результате двухлетних наблюдений не найдено существенных различий в обилии и питании саламандр на обработанных препаратом и контрольных территориях. Это объясняется тем, что исследуемый препарат воздействует на гусениц, а гусеницы составляют лишь малую часть кормов саламандр — от 2 до 9 % у разных видов [Raimondo, Pauley, Butler, 2003].

Многими авторами отмечается тератогенный эффект действия пестицидов различной природы. ФОС и карбаминовые инсектициды вызывают у головастиков пиренейской лягушки *Pelophylax perezi* искривление позвоночника (сколиоз) и/или нарушение формирования задних конечностей. Гистохимический анализ выявил различия в структуре межклеточного вещества соединительной ткани: меняется плотность межклеточного вещества в обезызвествлённых костях, а в области надкостницы наличествует сильно васкуляризованная ткань, что и является причиной дефектов при формировании костей [Alvarez, 1995]. ДДТ и его производные, в частности ДДД, в лабораторных условиях оказывают выраженный тератогенный эффект на головастиков шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. Характерные деформации, связанные с этими загрязнителями, следующие: аксиальные искривления, аномалии глаз, неправильная укладка кишечной трубки. Однако, по мнению автора, эти соединения не могут оказывать значительное токсическое воздействие на водных обитателей, поскольку они плохо растворимы в воде [Saka, 2004]. Сочетанное воздействие разных концентраций малатиона и нитрата вызывает аномалии развития головастиков американской жабы *Bufo americanus*, что необходимо учитывать. Так как именно сочетание пестицидов и нитратов

применяются в сельском хозяйстве [Krishnamurthy, Smith, 2010]. После обработки водоёмов в штате Мичиган ФОС пестицидами отмечено появление особей с аномалиями у длинномордой лягушки *Rana stenocephala* (частичное или полное отсутствие задних конечностей [Sparling, 2000]. Влияние этопрофоса на ранние стадии эмбриогенеза обыкновенной жабы *Bufo bufo gargarizans* может приводить либо к гибели зародыша, либо к деформации нейрулы с последующим развитием уродств. Частота аномалий развития (в частности, деформированная голова, искривлённый или недоразвитый хвост, вздутый живот) составляла от 4 до 32 %. Наиболее чувствительная к воздействию этопрофоса стадия — поздняя гастрюла [Влияние этопрофоса ... , 2005].

Отмечено и действие пестицидов на *взрослых* земноводных. Так, гербицид 2,4-Д более токсичен для самцов гребенчатого тритона *Triturus cristatus*, чем для самок, что, видимо, объясняется большим соотношением величины поверхности тела к его массе у самцов. При высоких концентрациях гербицида сначала наблюдается быстрая контрактура мышц, затем тритоны опускаются на дно, не реагируют на внешние раздражители и гибнут [The toxicity of the 2,4-di-chlorophenoxyacetic ... , 1986; The toxicity of 2-methyl-4-chlorphenoxyacetic ... , 1986; Zaffaroni, Zavanella, Arias, 1984]. ФОС инсектицид монокротофос более токсичен для мелких особей скользящей лягушки *Rana cyanophlyctis*, чем для крупных [Mathur, Rane, 1981]. Половозрелые особи леопардовой лягушки *Rana pipiens* высоко чувствительны к обладающим инсектицидным действием пиретроидным пестицидам [Cole, Casida, 1983].

На протяжении всей истории использования пестицидов обнаруживались все новые и новые непредвиденные опасности и последствия их применения. Так, в последние годы выяснено, что пестициды влияют на иммунную и эндокринную системы живых организмов. До сих пор неизвестны все опасности их применения.

Кратковременная экспозиция леопардовой лягушки *Rana pipiens* к низким концентрациям атразина может отрицательно влиять на иммунную систему амфибий, делая последних более чувствительными к различным патогенам [Houck,

Sessions, 2006]. У взрослых леопардовых лягушек *Rana pipiens* в присутствии атразина происходит существенное снижение фагоцитов в перитонеальном экссудате. Нарушение иммунной системы происходит в том же диапазоне доз атразина, в котором он вызывает повреждение эндокринной системы лягушек [Atrazine is an immune ... , 2007]. По мнению В. N. Goulet, A. Hontela [2003], атразин не влияет на жизнеспособность клеток надпочечников и секрецию кортикостерона у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, но разрушает эндокринную систему лягушки-быка *Rana catesbeiana*. Согласно другому исследованию, в плазме крови шпорцевой лягушки под влиянием атразина возрастает концентрация кортикостерона, а также происходят морфологические изменения тимуса, приводящие к снижению иммунитета и к возникновению бактериального менингита [Pesticide mixtures ... , 2006].

Головастиков леопардовой лягушки *R. pipiens*, отловленных в природе, содержали в лаборатории в воде, содержащей смесь пестицидов, а затем добавляли культуры паразитической нематоды. Оценивали иммунологические показатели крови и степень заражённости нематодами. Показано, что присутствие пестицидов существенно снижает пролиферацию лимфоцитов. В группе, находившейся в воде с максимальным содержанием пестицидов, отмечено снижение числа фагоцитов и спленоцитов после появления нематод; здесь же отмечен и максимальный уровень заражения. Таким образом, пестициды снижают иммунный ответ у земноводных и понижают их устойчивость к паразитарным инфекциям [Effects of agricultural ... , 2003]. На примере головастиков лесной лягушки сделан вывод о том, что при изучении отношений между паразитом и уровнем заражения в условиях загрязнения среды атразином, снижающим антипаразитарное поведение головастиков, необходимо учитывать такие сочетанные эффекты, как влияние других взаимодействующих видов (в данном случае первого промежуточного хозяина трематод — моллюсков) [Koprivnicar, Forbes, Baker, 2007].

Воздействие атразина на личинок длиннопалой амбистомы *Ambystoma macrodactylum*, инфицированных иридовирусом ATV, ускорило прохождение метаморфоза на три дня, существенно снижая массу тела, а также снижало смерт-

ность у инфицированных личинок. Таким образом, атразин тормозил прогрессию иридовирусной инфекции [Forson, Storfer, 2006]. Инъекции сублетальных доз ДДТ, малатиона и дильдрина, а также поступление их с пищей в малых дозах леопардовой лягушке *Rana pipiens* вызывает существенную длительную иммуносупрессию. Достоверные различия по этим показателям найдены между популяциями лягушек, обитающих в загрязнённых и интактных биотопах [Dietary exposure ... , 2007; Immunosuppression ... , 2003]. При воздействии карбарила существенно снижалась активность противомикробных пептидов кожи желтоногой лягушки *Rana boylei*. Считают, что пестициды могут снижать иммунную защиту у лягушек и понижать их устойчивость к инфекциям [Effects of chytrid ... , 2007].

У личинок остромордой лягушки *Rana arvalis* под воздействием ДДТ изменялось течение *меланофорных реакций* [Воронова, 1983]; у головастиков шестипалой лягушки *Rana hexadactyla* при содержании в растворах ДДТ в гипофизах уровень меланоцитстимулирующего гормона значительно повышался [Peaslee, 1970]. У головастиков чернорубцовой жабы *Duttaphrynus melanostictus* воздействие ГХЦГ (линдан) приводит к увеличению размера меланофоров по сравнению с контрольными животными, а также к значительному увеличению ветвления ретикулярных меланофоров [Tomar, Sehgal, Pandey, 1985].

Исследовали влияние атразина на процесс ионного обмена в коже съедобной лягушки *Rana esculenta*. Показано, что атразин не нарушает барьерные функции кожи, но в то же время атразин и его дериваты оказывают зависимое от концентрации воздействие на ионно-обменные потоки. Особенно выражено увеличение трансэпителиального введения ионов натрия, при этом уровень его выведения не меняется [Atrazine increases ... , 2006]. Пиретроидные пестициды не оказывают непосредственного влияния на эпителиальные каналы транспорта натрия, но влияют на внутриклеточные процессы съедобной лягушки *Rana esculenta* [Pyrethroid simulation ... , 2003].

Обнаружено влияние пестицидов на половую систему земноводных.

Метоксихлор при воздействии на стадии развития задних конечностей личинок шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* снижает количество жизнеспособных

ооцитов и сперматозоидов на репродуктивной стадии шпорцевой лягушки [Effect of methoxychlor ... , 2004]. Действие феноксигербицидов на репродуктивную функцию выражается в нарушении сперматогенеза, нарушении оплодотворяемости и плодовитости, уродствах, мертворождении [Скокова, 1977].

Используемые в США гербициды на основе хлортриазина попадают в естественные водоёмы. Широко используемый в США атразин запрещён в европейских странах. Применение атразина в сельском хозяйстве на зерновых культурах совпадает с периодом размножения лягушек. Воздействие атразина на головастиков шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* в период половой дифференциации приводит у самцов к редукции размеров семенников у 70 % особей, а у самок — к существенному возрастанию частоты вторичных оогониев и усилению резорбции яичников. Общее снижение числа зародышевых клеток оценивается в 20 % (в контроле — 2 %) Таким образом, атразин может существенно снижать способность к размножению у земноводных [Response of the amphibian ... , 2002a; Response of the amphibian ... , 2002b]. Воздействие атразином в небольших, экологически эквивалентных дозах на личинок шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* показало, что в последующем оно проявляется в гермафродитизме и демаскулинизации амфибий (многократное снижение уровня тестостерона). Предполагают, что атразин способствует конверсии тестостерона в эстроген. Поскольку экспериментальные дозы атразина соответствуют реальным его концентрациям в природе, существует реальный риск нарушения баланса полов в естественных популяциях, и это может быть одним из факторов, вызывающих глобальное исчезновение амфибий [Hermaphroditic demasculinized frogs ... , 2002; Time's up for atrazine? ... , 2002]. По данным других авторов, хотя атразин и вызывал повышение доли интерсексов в потомстве шпорцевой лягушки, но это повышение происходило в небольших масштабах (менее 5 %) и отмечалось только при таких концентрациях атразина, которые крайне редко наблюдаются в природе [Response of larval ... , 2003]. Гистологический анализ показал, что у леопардовой лягушки *Rana pipiens* атразин в крайне малой концентрации ($\geq 0,1$ части/млрд), присутствующей в среде даже в тех местах, где этот гербицид не использовался, приводит к замедлению

развития гонад и к проявлению гермафродитизма. Эти явления отмечены как в ходе лабораторных экспериментов, так и при исследовании природных популяций. Очевидно, что атразин, наряду с другими ядохимикатами, оказывает существенное негативное воздействие на состояние природных популяций земноводных [Atrazine-induced hermaphroditism ... , 2003].

Проверяли на пресмыкающихся предположение о том, что атразин может влиять на дифференциацию пола у видов с температурной детерминацией пола. Яйца каймановой черепахи *Chelydra serpentina* инкубировали в среде с концентрацией атразина, соответствующей природной, с 10-кратным превышением содержания атразина и в контроле без атразина. Температура инкубации 25 °С в норме приводит к формированию только самцов (это случилось в контроле). При инкубации с атразином 3,3—3,7 % потомства оказались самками. Кроме того, среди собранных в природе самцов у 15,4 % в семенниках были обнаружены отдельные ооциты. Все это указывает на влияние атразина на процесс дифференциации пола у исследованного вида [Effects of environmentally ... , 2006].

Есть данные о влиянии пестицидов на ДНК земноводных. Изучали чувствительность к дихлофосу головастика большеголовой веслоногой лягушки *Rhacophorus megacephalus* на ранних, средних и поздних стадиях развития. Воздействие дихлофоса даже в низкой концентрации вызвало существенное повреждение ДНК головастика на ранних и средних (но не на поздних) стадиях, что свидетельствует об уменьшении чувствительности к токсиканту с развитием головастика [Comparison of sensitivity ... , 2006]. Содержание головастика большеголового веслонога *Rhacophorus megacephalus* в присутствии дихлофоса или бутахлора оказывало зависимое от концентрации повреждающее воздействие на ДНК [Geng, Yao, Xue, 2005].

В литературе есть сведения о разных формах влияния пестицидов на нервную систему амфибий.

Экспериментально исследовали влияние метоксихлора (широко применяемого вместо ДДТ) на реакцию испуга личинок длиннопалой амбистомы *Ambystoma macrodactylum*. У 10-дневных личинок после экспозиции в метоксихлоре об-

наружено ухудшение реакции испуга [Ingermann, Bencic, Eroschenko, 1997]. Пестицид эндосульфат влияет на хемосенсорные возможности, а также на выработку и восприятие феромонов самцами зеленоватого тритона *Notophthalmus viridescens* [Park, Propper, 2002]. Красноспинных саламандр *Plethodon cinereus* подвергали воздействию почвы, загрязнённой 1,3,5-тринитрогексагидро-1,3,5-триазином в разных концентрациях. Наибольшая концентрация вызывала у саламандр развитие гиперчувствительности, летаргии и тремора, но не сопровождалось патогистологическими нарушениями [Toxicological and ... , 2004]. В лабораторных условиях наблюдали за поведением головастика мелодичной лягушки *Rana (Hylarana) adenopleura* при воздействии на них атразина. Проявление аномальных поведенческих реакций зависит от концентрации и продолжительности воздействия загрязнителя. С увеличением концентрации усиливается стремление головастика группироваться. Атразин влияет также на вертикальное распределение головастика данного вида амфибий [Микропространственное распределение ... , 2004; Поведение головастика ... , 2004]. У головастика шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* и травяной лягушки *Rana temporaria* под влиянием картапа наблюдали эффект повреждения центральной нервной системы (судороги, неподвижность), а при более высоких концентрациях инсектицида — смерть. Головастики шпорцевой лягушки более стойки к действию картапа по сравнению с головастиками травяной лягушки [Jordan, Maryanska-Nadachowska, 1988]. Симптом сублетального отравления травяных лягушек ДДТ — пониженная способность уходить в укрытие [Cooke, 1974]. Влияние ФОС инсектицида фозалона на перемещение и пищевое поведение тигровой лягушки *Rana tigrina* проявляется в том, что частота прыжков и длина их меньше у отравленных особей. Токсическое влияние на ЦНС может быть причиной изменения пищевого поведения [Antony, Ramalingam, 1990].

Анализ работ, посвящённых влиянию загрязнителей на личиночное развитие земноводных, показывает, что они выполнены на самых различных объектах (разных систематических и экологических групп), исследовано влияние очень разнородных веществ и в самых произвольных концентрациях. Оценивается ток-

сичность также самыми разными способами — процентом погибших головастиков, скоростью их гибели, количеством аномалий и уродств, продолжительностью периода метаморфоза выживших головастиков. В результате сравнивать степень токсичности загрязнителей, толерантность отдельных видов довольно сложно и зачастую просто невозможно [Пескова, 2003].

Поскольку пестициды в настоящее время являются новыми постоянными компонентами окружающей среды, возникает вопрос: могут ли они играть роль фактора естественного отбора. На основании анализа имеющихся фактов на этот вопрос можно ответить положительно. Отбор идёт путём образования устойчивых к пестицидам форм (и пойкилотермных, и гомойотермных животных). Интенсивность возникновения резистентных форм в популяциях зависит от ряда причин: 1) чувствительности к пестициду (у более чувствительных популяций быстрее возникают устойчивые формы); 2) репродуктивной способности (чем больше поколений имеет популяция в течение года, тем быстрее возникают устойчивые формы); 3) количества особей (в популяциях, состоящих из большого числа особей, будет больше особей с индивидуальной устойчивостью, которые образуют резистентные формы) [Федоренко, 1982].

Загрязнение среды можно рассматривать как новый мощный фактор отбора (как движущего, так и стабилизирующего), формирующий морфологические, физиологические и популяционные особенности земноводных в антропогенно изменённой среде [Пескова, 2005].

Разнообразные результаты воздействия на амфибий пестицидов можно свести к следующим вариантам: 1) повышенная смертность взрослых особей; 2) накопление загрязнителей в значительном количестве в теле взрослых особей, в личинках и икре; 3) снижение выживаемости эмбрионов и личинок, ретардация развития, тератогенное действие; 4) морфофизиологические изменения (размеры тела, индексы органов, морфометрические показатели); 5) изменения гематологических показателей; 6) изменения популяционной структуры видов [Пескова, 2001, 2002]. Эти результаты воздействия могут проявляться изолированно или комплексно, причём последнее — в самых разных соотношениях. Перечисленные

результаты воздействия имеют разную значимость для животных. Первый и третий варианты приводят к снижению численности земноводных в загрязнённых биотопах или даже к полному исчезновению отдельных видов. Вторым результатом воздействия — накопление загрязнителей в организме — имеет видоспецифическое проявление. Четвёртый, пятый и шестой результаты воздействия антропогенных загрязнителей среды на амфибий (из упомянутых выше) могут приводить как к появлению адаптационных изменений (в результате чего амфибии достаточно комфортно существуют в условиях загрязнения), так и к патологическим изменениям, а в конечном итоге к гибели животных. Адаптивные изменения обеспечивают выживаемость амфибий в загрязнённой среде и могут быть базой микроэволюционного процесса в этих специфических условиях, а патологические изменения вызывают лишь сокращение численности, плотности популяции и пространства, которое амфибии занимают в водоёме [Пескова, 2004а].

Сравнивали размеры тела и индексы органов озёрной лягушки *Rana ridibunda* и краснобрюхой жерлянки *Bombina bombina* из чистых и загрязнённых хлорорганическими пестицидами водоёмов Западного Предкавказья. В чистых водоёмах жерлянки существенно крупнее, чем в загрязнённых; при этом темпы роста в незагрязнённой среде выше. У озёрных лягушек размерные различия особей из чистых и загрязнённых водоёмов выше в раннем возрасте, а затем нивелируются. Возрастная динамика размеров в чистых и загрязнённых пестицидами водоёмах может быть различной у разных видов амфибий, а именно — с возрастом у краснобрюхой жерлянки увеличиваются различия в длине тела, а у озёрной лягушки, наоборот, уменьшаются. У жерлянок из загрязнённых водоёмов существенно выше индексы сердца и почек. Относительное увеличение этих индексов в загрязнённой среде отмечается и у озёрной лягушки. Увеличение индексов сердца и почек можно считать адаптацией к загрязнению. Отмечены также связанные с загрязнением изменения индексов жировых тел и гонад [Пескова, 2004б]. Увеличение индексов сердца и почек при уменьшении размеров тела свидетельствует о повышении уровня метаболизма амфибий и способствует выведению ядов из организма в условиях пестицидного загрязнения. Одновременно происходит (при сравнительно невысоких

уровнях загрязнителей) и компенсаторное увеличение относительных размеров гонад [Пескова, 2004а]. Увеличенный индекс почек у жерлянок из загрязнённого пестицидами рисового чека объясняется, по-видимому, двумя причинами. Во-первых, жерлянки из рисовых чеков имеют достоверно меньшие размеры тела, чем амфибии из чистых водоёмов, а индекс почек обратно пропорционален размерам тела. Однако, и при одинаковых линейных размерах трёхлетних жерлянок из чистых водоёмов и четырёхлетних из рисовых чеков (в обоих случаях 32,8 мм) индекс почек достоверно крупнее у амфибий в условиях загрязнения (7,1 и 11,0 ‰ соответственно). Во-вторых, обитание животных в условиях, требующих интенсификации обмена веществ, всегда сопровождается увеличением размера почек. В данном случае такие условия существуют в чеках [Пескова, 2004б]. Половозрелых самцов и однолетних особей леопардовой лягушки *Rana pipiens* и крикливая лягушка *R. clamitans*, обитающих на влажных участках фруктовых садов провинции Онтарио (Канада) и на соседних территориях, сравнивали по некоторым показателям (размер, масса, возраст, генетическая изменчивость, физиология, биохимия). Определяли содержание фосфора и хлора в жировых телах самцов. Чтобы оценить физиологический статус самцов, определяли четыре индекса (масса / длина, печени, гонад, жировых тел); учитывая снижение массы жировых тел у самцов в период размножения, использовали объединённый индекс гонады + жировое тело. Отмечено увеличение концентрации хлора (ДДТ) в тканях исследованных лягушек, что свидетельствует о накоплении пестицидов. Существенные различия размерно-возрастных показателей половозрелых самцов и однолетних особей обоих видов лягушек из различных точек позволяет предположить, что сады оптимальны для их размножения [The functional integrity ... , 1998].

В последние годы проводятся достаточно многочисленные исследования влияния различных химических реагентов, и в том числе пестицидов, на гематологические показатели земноводных.

Лучшее выживание амфибий при постоянном обитании в загрязнённых пестицидами водоёмах обеспечивается увеличением кислородной ёмкости крови (количества гемоглобина и эритроцитов), лейкоцитозом, а также изменением лейко-

цитарной формулы в сторону увеличения числа нейтрофилов и моноцитов [Пескова, 2005а, 2005б].

В монографии Т. Ю. Песковой [2001] проведено сравнение картины красной крови озёрной лягушки и других амфибий после кратковременного пребывания в растворах фосфорорганических, хлорорганических и пиретроидных пестицидов (лабораторные опыты) с гематологическими показателями особей при постоянном обитании в водоёмах, загрязнённых ДДТ и его метаболитами.

Установлено, что в растворах пиретроидного пестицида дециса высокой концентрации (соответствующей нормам применения препарата в сельском хозяйстве), как правило, уменьшается количество гемоглобина и/или эритроцитов. Снижение показателей красной крови амфибий, видимо, является результатом многочисленных кровоизлияний и тромбов, возникающих под действием пестицидов.

Компенсаторным механизмом при кратковременном воздействии больших доз пестицидов можно считать увеличение в опыте относительного числа более мелких эритроцитов округлой формы, так как при этом возрастает общая площадь их поверхностей.

Под влиянием малых доз пиретроидных пестицидов у подопытных озёрных лягушек количество гемоглобина и эритроцитов достоверно увеличивается. Степень этого увеличения пропорциональна продолжительности пребывания лягушек в растворах пестицидов. Последующее выдерживание амфибий в чистой воде в течение пяти суток после 10-суточного воздействия дециса низкой концентрации и каратэ несколько большей концентрации привело к снижению до контрольных величин количества гемоглобина и эритроцитов (децис) или только гемоглобина (каратэ). Повышение показателей красной крови при экспозиции лягушек в растворах пиретроидных пестицидов можно считать компенсаторным.

Таким образом, характер кратковременного (в течение 1—5 сут) воздействия пестицидов любой природы на красную кровь амфибий зависит от дозы токсиканта.

При долговременном (постоянном) обитании в водоёмах, загрязнённых хлорорганическими соединениями — ДДТ и его метаболитами, картина красной

крови у земноводных очень похожа на описанную ранее при кратковременном воздействии малых доз пестицидов. Так, в рисовом чеке (загрязнённый водоём) у неполовозрелых озёрных лягушек гемоглобина достоверно больше, чем у обитателей рыбоводного пруда (относительно чистый водоём) — 11,1 и 9,2 % соответственно, а у половозрелых прослеживается тенденция к увеличению его количества при обитании в чеке [Жукова, 1987]. В другой работе по Северному Кавказу было показано, что и число эритроцитов, и количество гемоглобина достоверно выше в крови озёрных лягушек из загрязнённого пестицидами водоёма (оз. Карасун), чем из более чистого (р. Кирпили). В условиях загрязнения отмечена активация кроветворения в костном мозге, что проявилось в увеличении относительного числа ретикулоцитов, а у сеголеток из загрязнённого водоёма кроме того были обнаружены безъядерные эритроциты (четыре на 1 000 ядерных), лучше выполняющие дыхательную функцию крови [Жукова, Фиц, 1996].

Увеличение кислородной ёмкости крови у амфибий при постоянном обитании в водоёмах, загрязнённых пестицидами (и другими ксенобиотиками), можно считать адаптивным.

В литературе описано, что общее число лейкоцитов в крови амфибий, как правило, возрастает по сравнению с контролем в 1,5—4,6 раза (до 52 *тыс./мм³*). Это данные по озёрной лягушке в лабораторных опытах с пестицидами фозалонном и карбофосом, сириусом и фудзиваном [Жукова, 1993; Жукова, Шебалина, 1994], а также при обитании этого вида в природных загрязнённых водоёмах — рисовых чеках и оз. Карасун в черте г. Краснодара [Жукова, 1987; Жукова, Фиц, 1996].

В лабораторных опытах с децисом высокой концентрации и с эфалем концентрации от 0,3 до 15 *мг/л*, у озёрной лягушки, также наблюдается лейкоцитоз — до 22—41 *тыс./мм³* [Жукова, Пескова, 1999; Пескова, Жукова, 1999].

В монографии Т. Ю. Песковой [2001] сказано, что всё разнообразие изменений числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы земноводных при действии токсикантов можно свести к двум основным типам, принципиально отличным друг от друга.

При первом типе изменений в белой крови бесхвостых амфибий в условиях загрязнения, как правило, наблюдается лейкоцитоз (например, в лабораторном эксперименте с пестицидом эфаль солями число лейкоцитов у озёрной лягушки возрастает с $13,2 \pm 1,70$ тыс./мм³ в контроле до до 33—41 тыс./мм³ в опыте).

Второй тип изменений белой крови земноводных имеет иную, во многом прямо противоположную описанной ранее направленность (главным образом в лейкоцитарной формуле).

Повышение защитных свойств крови земноводных при действии пестицидов может происходить разными путями. Тип реакции белой крови амфибий на загрязнения не зависит, как показывает проведённый анализ, от природы токсиканта. Так, первый тип изменения лейкограммы (увеличение доли палочкоядерных нейтрофилов и моноцитоз) был вызван действием как фосфорорганических соединений — (трихлорфон, фозалон, карбофос), так и хлорорганических соединений (ДДТ и его метаболиты в рисовых чеках и оз. Карасун), пиретроидных инсектицидов — каратэ и децис в концентрации 0,25 мг/л [Жукова, Пескова, 1999; Пескова, Жукова, 1996, 1999] и пестицидов иной природы (фудзиван, сириус). Второй тип реакции лейкоцитарной формулы земноводных (нейтропения в сочетании с моноцитозом и эозинофилией или лимфоцитозом) в нашем исследовании был обнаружен при действии более высоких концентраций пиретроидного пестицида дециса (1—30 мг/л) и ФОС пестицида эфалья; нейтропения и моноцитоз (но эозинопения, а не эозинофилия) наблюдаются и при увеличении дозы трихлорфона у травяной лягушки *Rana temporaria* [Gromysz-Kalkowska, Szubartowska, 1986].

Обнаружены возрастные различия по некоторым гематологическим показателям озёрной лягушки. Так, у сеголеток по сравнению с половозрелыми животными количество эритроцитов и гемоглобина достоверно меньше. Доля ретикулоцитов в крови сеголеток в 2,8—3,6 раза больше, чем у половозрелых, то есть кроветворение у них осуществляется интенсивнее. У отловленных летом лягушек (и половозрелых, и сеголеток) все гематологические показатели достоверно выше (на 21—29 %) в загрязнённом водоёме. Кроме того, в условиях загрязнения достоверно в 2,1—4,3 раза в крови озёрной лягушки увеличено число новообразован-

ных эритроцитов–ретикулоцитов. Уровень количества лейкоцитов у лягушек из рисового чека достоверно в 1,9 раза выше (в основном, за счёт нейтрофилов), чем у амфибий из пруда, что свидетельствует о возрастании защитной функции крови. Индекс сердца достоверно больше в 1,6 раза у лягушек (половозрелых и неполовозрелых) из рисового чека, чем из пруда [Peskova, Zhukova, 2003; 2005].

При воздействии загрязнителей у земноводных происходят изменения численности и популяционной структуры видов. Так, в пруду рыбхоза «Тахтамукайский» (Республика Адыгея), в воде которого отсутствуют пестициды, численность озёрной лягушки в 1,4 раза превышает численность этого вида в сбросном Чибийском канале рисовых систем пос. Прикубанский, где вода содержит такие пестициды как фацет, лондакс, базагран, сириус ($107,9 \pm 7,20$ и $76,7 \pm 5,92$ особей соответственно) [Пескова, 2002]. В Западном Предкавказье в исследованных чистых водоёмах было отмечено 4 возрастные группы озёрной лягушки весной и 5 летом и осенью, в то время как в рисовом чеке четырёхлетних лягушек не было (окрестности ст-цы Фёдоровской). В чистом водоёме — пруду рыбхоза «Тахтамукайский» (Республика Адыгея) в начале лета были определены 5 возрастных групп озёрной лягушки, а в сбросном канале рисовой системы — только 4. Таким образом, в условиях пестицидного загрязнения продолжительность жизни озёрной лягушки может сокращаться [Жукова, Пескова, 1998а; Пескова, 2002].

Весной в чистом водоёме половозрелые озёрные лягушки (трёх- и четырёхлетние) составляют большинство — 64 % среди самцов и 56 % среди самок. Годовалых самцов и самок равное число (17—19 %). Доля двухлеток относительно больше у самок, чем у самцов, видимо, это резерв животных, которые смогут участвовать в размножении. В загрязнённом водоёме (рисовом чеке) весной примерно половина всех лягушек (и самцов, и самок) — двухлетние особи, доля трёхлетних, наиболее интенсивно размножающихся амфибий снижена по сравнению с чистым водоёмом до 30 % у самок и 18 % у самцов. Четырёхлетних животных в этой популяции не обнаружено. Судя по возрастному составу двух популяций, размножение в загрязнённом водоёме происходит менее интенсивно, чем в чистом. Это подтверждается и тем, что осенью в рисовом чеке и абсолютно, и относительно мало

сеголеток, их доля не превышает 35 %. В то же время в чистом водоёме осенью сеголетки составляют около половины амфибий [Жукова, Пескова, 1998б; Пескова, 2001]. В популяциях из загрязнённых водоёмов Западного Предкавказья и у краснобрюхой жерлянки, и у озёрной лягушки доля половозрелых амфибий меньше, чем в популяциях из относительно чистых. В условиях пестицидного загрязнения у краснобрюхой жерлянки чаще гибнут половозрелые самцы старших возрастных групп как наиболее активная и подвижная часть популяции, и этот процесс настолько интенсивен, что он перекрывает и камуфлирует относительно большую смертность самок старших возрастов в популяциях из чистых водоёмов [Пескова, Голубцов, 1994]. В целом у сравниваемых двух видов амфибий в условиях Западного Предкавказья наблюдается сходная тенденция изменения половой структуры при обитании в загрязнённых пестицидами водоёмах (как правило, больше самок), а в чистых водоёмах среди половозрелых животных преобладают самцы. В то же время получены и другие данные по половой структуре озёрной лягушки из рисового чека (ст-ца Елизаветинская) и пруда Учебного ботанического сад КубГУ: в обоих водоёмах преобладают самцы, но в загрязнённом в большей степени (в 3,8—5 раз), чем в чистом (в 1,6—2,1 раза). Возможно, разнонаправленные изменения половой структуры популяций озёрной лягушки при обитании в загрязнённых водоёмах объясняются разной степенью токсического воздействия: при относительно слабом воздействии адаптивная реакция популяции выражена в гибели более активных и подвижных самцов; при более сильном воздействии происходит отмирание самок (под действием токсикантов у них наблюдаются серьёзные нарушения репродуктивной системы), что отрицательно сказывается на состоянии популяции. При хроническом и относительно слабом воздействии пестицидов на популяции краснобрюхой жерлянки и озёрной лягушки (в частности, в окрестностях ст-цы Фёдоровской, где нормы применения пестицидов в середине 1990-х гг. были уменьшены по сравнению с предыдущими годами) среди половозрелых амфибий преобладают самки. В сильно загрязнённом сбросном канале в окрестностях станции Елизаветинской, а также в рисовом чеке пос. Белозёрного среди половозрелых особей достоверно больше самцов [Пескова, 2004].

Различна фенетическая структура популяций озёрной лягушки в чистых и загрязнённых пестицидами водоёмах. Например, при исследовании озёрной лягушки в водоёмах Республики Адыгея обнаружено, что в первый год в рыбопродуктивном пруду достоверно преобладают бесполосные особи, а на следующий год в популяции озёрной лягушки процентное соотношение обеих морф практически равное. В сбросном канале рисовой системы в оба года исследования наблюдается достоверное преобладание морфы *striata*: в 2000 г. полосатых лягушек в 1,5 раза, а в 2001 г. — в 3,5—4,3 раза больше, чем бесполосых [Пескова, 2002]. Весной в популяциях из чистого водоёма крупнопятнистые жерлянки (любая выборка — без учёта пола и возраста) встречаются примерно втрое чаще, чем мелкопятнистые, в то время как в загрязнённом водоёме обоих фенотипов примерно поровну. Осенью в чистом водоёме крупнопятнистые животные попадаются в 5 раз чаще мелкопятнистых, а в загрязнённом их тоже больше, но лишь вдвое [Пескова, Жукова, 2008].

Таким образом, обзор литературы показал, что изучению влияния пестицидов на земноводных посвящено значительное количество исследований как отечественных, так и зарубежных авторов. Большинство работ проведено на головастиках земноводных, меньше исследований воздействия пестицидов на взрослых особях земноводных. Кроме того, обнаружена большая специфичность реакций даже одного и того же вида земноводных на воздействие пестицидов различной природы. Последнее обстоятельство требует детального изучения влияния новых пестицидов, применяемых в настоящее время в сельском и лесном хозяйстве. Сказанным объясняется выбор темы данной работы.

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. Период их распада составляет до 3-х месяцев. Карбаматы ингибируют фермент ацетилхолинэстеразу (АХЭ) (путём карбамилирования), и последний теряет способность гидролизовать ацетилхолин.

Карбарил, синонимичные названия — арилат, дикарбам, карбатокс, севин, терцил, — $C_{12}H_{11}NO_2$, или N-метил-O-(нафтил-1)карбамат. Карбарил представляет собой белое кристаллическое вещество, плохо растворимое в воде (50 мг/л), растворяется во многих органических растворителях. Он устойчив при температуре до 70 °С, а также к свету и к действию кислот. В щелочной среде гидролизуются с образованием α -нафтола. Время ожидания на хлопчатнике и кукурузе составляет 20 дней, на садовых насаждениях 30 дней. ПДК в воде санитарно-бытового назначения составляет 0,02 мг/л, в воде рыбохозяйственных водоёмов — 0,0005 мг/л; в почве — 0,05 мг/кг. Активен против многих вредных насекомых, применяется как заменитель ДДТ для борьбы с хлопковой совкой, карадриной, мальвовой молью, яблонной плодовой жоркой и некоторыми другими видами плодовых жорок [Пестицид карбарил, 2009а]. Периоды распада в полевых условиях не определены. Период полураспада в лабораторных условиях составляет 16 сут, период 90%-ного распада — 107 сут [Пестицид карбарил, 2009б].

Феноксикарб, синонимичные названия — инсегар, логик, пиктил, торус, — $C_{17}H_{19}NO_4$, или 2-(4-феноксифенокс)этил-O-этилкарбамат. Белое кристаллическое вещество без запаха, температура плавления 53—54 °С. Давление пара (25 °С) $1,7 \cdot 10^{-5}$ Па ($13 \cdot 10^{-8}$ мм рт. ст.). Хорошо растворим во многих органических растворителях, плохо растворим в гексане (5 г/л при 20 °С). Растворимость в воде при 20 °С 6 мг/л. Стабилен в нормальных условиях хранения 2 года. Феноксикарб является регулятором роста насекомых ювеноидного типа, используется

для борьбы с рядом насекомых-вредителей на хлопчатнике, виноградниках, фруктовых деревьях, декоративных культурах, а также с тараканами, мухами, комарами, вредителями хранящихся продуктов. Время ожидания на яблоне составляет 30 сут, на виноградниках — 20 сут. ПДК в воде рыбохозяйственных водоёмов 0,005 мг/л [Пестицид феноксикарб, 2009а]. 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, 2009б].

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

Исследования и эксперименты проводили в течение 2009—2013 гг. Полевые исследования осуществляли в двух водоёмах. 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, образующаяся при слиянии рек Первые, Вторые и Третьи Кочеты [Борисов, 2005] в окрестностях ст-цы Старомышастовской (степная зона Западного Предкавказья) (рисунок 1). Кочеты — левобережный приток р. Кирпили: Кочеты впадают в Кирпили в районе ст-цы Медвёдовской. Уровень карбаминовых пестицидов в водах р. Кочеты находится в пределах ПДК.

Второй водоём — искусственный пруд (размеры 70×30 м), расположенный в фермерском фруктовом саду в окрестностях ст-цы Медвёдовской (рисунок 1), где применяются карбаминовые препараты для борьбы с вредителями плодовых деревьев и винограда. Здесь весной отмечено присутствие карбарила и феноксикарба в воде в количестве, равном 2 ПДК. Исследовали численность озёрной лягушки и структуру популяций (половую, возрастную и фенетическую) этого вида в указанных выше двух водоёмах, отличающихся степенью загрязнения карбаминовыми пестицидами. Учёт животных проводили на маршрутных линиях, длина маршрута на р. Кочеты — 500 м, а на искусственном пруду — по всему периметру водо-

ёма — 200 м. Далее, чтобы иметь возможность сравнивать полученные данные, на каждом маршруте число учтённых животных пересчитывали на 100 м береговой полосы. Учёт численности проводили в утренние часы — между 10 и 11 ч.

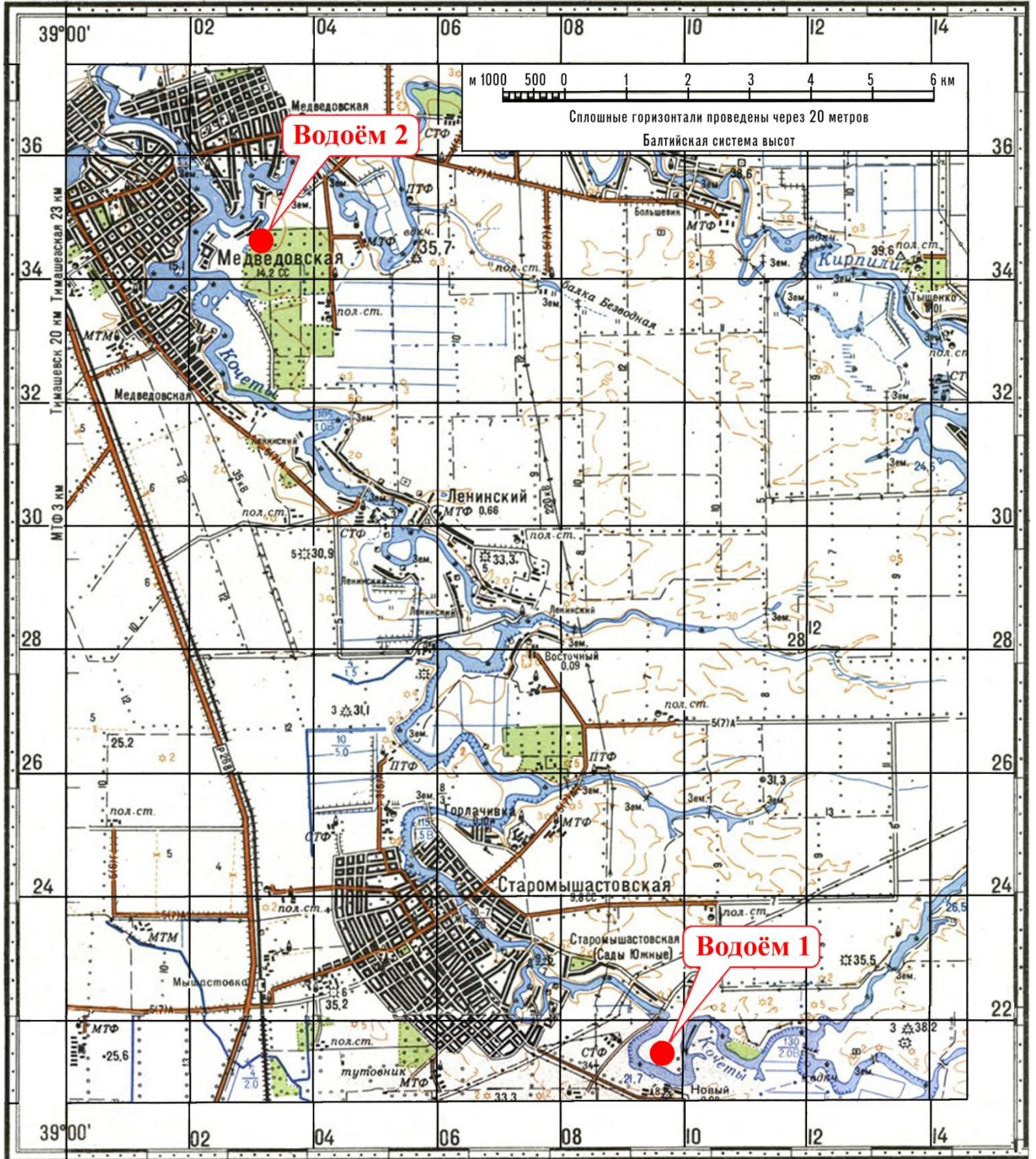


Рисунок 1 — Места сбора материала



Рисунок 2 — Морфы *striata* (А) и *maculata* (Б) у озёрной лягушки

При учёте озёрных лягушек отмечали отдельно животных со светлой дорсомедиальной полосой (морфа *striata*) и особей без полосы (морфа *non-striata*), которую чаще всего в литературе называют морфой *maculata* (пятнистая) (рисунок 2). Таким образом, получали представление о фенетической структуре популяции. Мы отдельно регистрировали самцов и самок (по вторично-половым признакам — брачные мозоли на передних лапах и резонаторы у самцов). Возрастной состав популяций озёрной лягушки определяли по пикам на вариационных кривых, построенных по длине тела животных [Шляхтин, Голикова, 1986]; мы выделяли следующие возрастные группы — сеголетки, неполовозрелые и половозрелые. Нами были проведены контрольные исследования особей скелетохронологическим методом, результаты которых показали правомерность выделения указанных возрастных групп.

Для работы с гонадами собранных в природных условиях лягушек фиксировали 4%-ным формалином. У каждой особи с помощью штангенциркуля измеряли длину тела от кончика морды до клоаки с точностью до 0,1 мм; на технических весах определяли массу тела с точностью до 0,1 г.

Семенники взвешивали на торсионных весах с точностью до 0,001 г, а яичники — на технических весах с точностью до 0,01 г. Индекс гонад рассчитывали как отношение массы гонад (яичников или семенников) к массе тела, умноженное на 1 000 (в промилле) [Шварц, Смирнов, Добринский, 1968].

Цвет яичников устанавливали по шкале цветов А. С. Бондарцева [1954].

Отмечали относительные размеры икринок: видны или не видны невооружённым глазом.

Для приготовления гистологических срезов гонады заливали в парафин по общепринятой методике [Ромейс, 1954; Роскин, Левинсон, 1957]. Предварительно объект обезвоживали, помещая в спирты восходящей концентрации в следующем порядке: в 70° спирте 2 ч, в 80° — 3 ч, в 96° — 3 ч, в абсолютном — 12 ч.

Для удаления остатков воды объект выдерживали в хлороформе дважды по 40 мин; затем помещали в «снежную смесь», состоящую из парафина и хлороформа (соотношение 1 : 1), в термостат при температуре 58 °С на 30 мин, а потом переносили в жидкий парафин на 1 ч в термостате при той же температуре. Далее объект заливали горячим парафином в специальный блок, который помещали в холодную воду для быстрого и равномерного охлаждения. Готовые блоки прикрепляли к деревянным брускам.

Для приклеивания гистологических срезов использовали предметные стёкла, предварительно обезжиренные в смеси спирта и эфира (соотношение 1 : 1). На стёкла наносили тонкий слой клея для срезов, который закрепляли прокаливанием стёкол над пламенем спиртовки.

Срезы делали на санном микротоме марки МРТУ-64-1-1629-64 толщиной 10 мкм. Срезы наносили на предметное стекло и расправляли кисточкой в капле воды. Приготовленные срезы сушили на воздухе двое суток.

Перед окрашиванием проводили депарафинирование. Срезы опускали на 5 мин в следующие растворы по порядку: ксилол 1, ксилол 2, абсолютный спирт, спирт 90°, спирт 70°. Затем срезы окрашивали сначала гематоксилином по Гейденгайну 3 мин, промывали водой и докрашивали эозином 2 мин.

Далее препараты промывали водой и обезвоживали, помещая в следующие растворы: спирт 70°, спирт 90°, абсолютный спирт, смесь ксилола и спирта (соотношение 1 : 1), ксилол 1, ксилол 2 (по 5 мин в каждом). Затем на препарат наносили каплю канадского бальзама и покрывали покровным стеклом.

Всего сделано 381 гистологический препарат, из них 188 препаратов семенников и 193 препарата яичников озёрной лягушки.

Сделаны фотографии с микропрепаратов. 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.

Стадии зрелости гонад определяли с помощью соответствующих шкал зрелости яичников [Жукова, Бокова, 1976] и семенников [Жукова, Невзорова, 1979], представленных в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 — Шкала зрелости яичников озёрной лягушки [Кубанцев, Жукова, Никифорова, 1979]

Стадия зрелости яичников	Размер яйцеклеток	Цвет яичников	Цитологическая характеристика
1	Не видны невооружённым глазом или имеют вид очень мелких тёмных точек	Бледно-песочный, слоновой кости или охряно-жёлтый	Овоцитов 1 и 2 фаз поровну, или овоцитов 1 фазы немного больше
2	В виде мелких коричневых точек	Бежевый, бледно-песочный	Овоцитов 1, 2 и 3 фаз поровну, или овоцитов 3 фазы несколько меньше
3	В виде мелких коричневых или чёрных точек	Тёмно-песочный, буроватый	Овоцитов 2, 3 и 4 фаз поровну
4	Видны отчётливо	Жёлтый с чёрным или коричневым	Комплекс овоцитов 3—5 фаз, овоциты 5 фазы преобладают
5	Видны отчётливо	Жёлтый с чёрным	Комплекс овоцитов 4—6 фаз, преобладают овоциты 5 и 6 фаз

Таблица 2 — Шкала зрелости семенников озёрной лягушки [Жукова, Невзорова, 1979]

Стадия зрелости семенников	Цитологическая характеристика			
	Сперматогонии	Сперматоциты	Сперматиды	Сперматозоиды
1	Небольшое количество, делящиеся	Очень редко 1 порядка	Нет	Нет
2	Большое количество, делящиеся	Редко 1 порядка	Нет	Нет
3	Большое количество, делящиеся	1 и 2 порядка сравнительно мало; одиночные клетки расположены хаотично	Одиночные клетки расположены по краям канальца	Незрелые сперматозоиды, собранные в группы
4	Редко (как запасной фонд для повторного сперматогенеза)	Нет	Одиночные клетки расположены по краям канальца	Зрелые сперматозоиды расположены по всему просвету канальца, могут спускаться в каналцы придатков
5	Одиночные, делящиеся	Нет	Одиночные клетки	В просвете канальцев находятся зрелые (остаточные) сперматозоиды

Овоцит 1 фазы имеет диаметр 30—100 *мкм*, диаметр ядра 10—50 *мкм*, границы ядра чёткие. Ядрышки (до 16-и) располагаются везде, чаще прилегают к оболочке ядра.

Овоцит 2 фазы имеет диаметр 115—275 *мкм*, диаметр ядра до 130 *мкм*. Контуры ядра менее чёткие, чем у овоцита 1 фазы, его края неровные. Ядрышки (до 43-х) располагаются у оболочки.

Овоцит 3 фазы характеризуется вакуолизацией пристенного слоя цитоплазмы. Диаметр овоцита 300—400 *мкм*, с мелкозернистой цитоплазмой. Диаметр ядра 110—160 *мкм*, ядро округлое, ядрышек 16—18, располагаются у оболочки ядра.

Овоцит 4 фазы имеет диаметр 400—680 *мкм*, диаметр ядра до 215 *мкм*, ядро овальной формы. По периферии цитоплазмы вкраплены очень мелкие глыбки желтка.

Овоцит 5 фазы имеет диаметр 680—1 400 *мкм*. Ядра в диаметре до 470 *мкм*, полулунной формы. Ядрышки расположены по всему ядру. Ядро начинает смещаться к оболочке овоцита. Цитоплазма заполнена гранулами желтка разной формы и размеров.

Овоцит 6 фазы имеет диаметр до 1 500 *мкм*. Ядро удлинённое, находится у оболочки овоцита. Ядрышки смещаются к центру ядра. Глыбки желтка сливаются в сплошную массу. В отдельных овоцитах у оболочки имеются небольшие вакуоли [Сакун, Буцкая, 1968].

В каждой из двух исследованных нами популяций подсчитано процентное отношение особей, гонады которых находились на различных стадиях зрелости (отдельно самцов и самок). Земноводные были взяты из двух биотопов, находящихся в одной климатической зоне (Западное Предкавказье), которые разобщены в пространстве (обмен особями между ними невозможен).

Для изучения влияния инсектицидов на головастики озёрной лягушки мы собирали в водоёмах в окрестностях г. Краснодара икру, из которой в лаборатории вылуплялись головастики, с ними сразу же начинали опыт. Таким образом, исходные головастики были на 32—34 стадии по Н. В. Дабагян, Л. Н. Слепцовой [1975].

Подробно условия лабораторного содержания личинок описаны в работе О. А. Пястоловой [1989]. Чтобы избежать влияния повышенной плотности, мы содержали животных в пятилитровых ёмкостях (по 40 особей в каждой), то есть плотность головастиков составляла — 8 ос. в 1 л воды или раствора. Контрольные животные находились в отстаиванной водопроводной воде.

Опыт поставлен с использованием следующих концентраций 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.

Головастики озёрной лягушки находились в контроле и растворах инсектицидов до завершения метаморфоза или до гибели всех животных. Животных, закончивших метаморфоз, мы выпустили в естественные места обитания. Ежедневно мы подсчитывали число погибших личинок и удаляли их. Одновременно уменьшали объём воды, чтобы сохранять плотность головастиков постоянной. Растворы обновляли обычно один раз в 10—12 дней. Температуру воды поддерживали в пределах 23—25 °С; воду постоянно аэрировали. Всего в эксперимент были взяты 280 головастиков озёрной лягушки.

Определяли выживаемость головастиков по дням наблюдения. Мы фиксировали сроки наступления основных стадий развития и метаморфоза. Стадии развития головастиков мы определяли по Н. В. Дабагян, Л. Н. Слепцовой [1975]. Измеряли также штангенциркулем общую длину тела личинок соответствующих стадий и метаморфизирующих животных (с точностью до 0,1 мм), по 8—10 особей из каждой ёмкости. Массу тела определяли взвешиванием на электронных весах с точностью до 0,001 г. Кроме того, отмечали аномалии развития личинок озёрной лягушки.

Гематологические исследования проводили в лабораторных условиях на половозрелых озёрных лягушках. Животных отловили в природном водоёме в окрестностях пос. Афипского, затем разместили в отдельных ёмкостях. 10 лягушек были посажены в водопроводную воду, отстаиванную в течение 3 сут, — это контрольная группа, подопытные лягушки (также по 10 особей в каждой группе) находи-

лись в растворах пестицидов указанных ниже концентраций. Их растворы также были приготовлены на отстоянной воде. Каждый опыт был заложен в двух повторностях. Плотность посадки лягушек — 5 ос. на 3 л воды или раствора пестицида. Разделение амфибий по полу не проводили, так как известно из литературных источников, что различий гематологических показателей, связанных с полом, у озёрной лягушки не наблюдается. Продолжительность всех опытов — 5 сут.

Опыт поставлен с использованием следующих концентраций пестицидов: 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.

Для проведения гематологических исследований лягушек после истечения 5 сут усыпляли с помощью серного эфира, вскрывали и шприцем брали кровь из желудочка сердца, надрезав его. Количество гемоглобина (в граммах на литр) и эритроцитов (10^{10} /литр) определяли унифицированным методом на ФЭЖе, при зелёном светофилтре (длина волны 500—560 мкм) в кювете с толщиной слоя 1 см, против холостой пробы (трансформирующий раствор). При тех же условиях измеряли стандартный раствор.

Лейкоциты (10^9 /литр) подсчитывали унифицированным методом в камере Горяева [Кудрявцев, Кудрявцева, 1969]. Лейкоцитарную формулу — процентное соотношение различных видов лейкоцитов — подсчитывали в окрашенных мазках крови. Методы фиксации, окраски мазков, а также микроскопическое исследование мазков унифицированы [Кост, 1973].

Подсчёт производили с помощью клавишного счётчика. Подсчитывали не менее 100 лейкоцитов, считая на одном крае мазка (50) и на другом, противоположном (50). Был рассчитан индекс сдвига ядер нейтрофилов по формуле: миелоциты + + метамиелоциты + палочкоядерные нейтрофилы / сегментоядерные нейтрофилы (рассчитывали сдвиг влево или вправо).

Сделаны фотографии мазков крови озёрной лягушки в контроле и разных вариантах опыта с помощью цифрового фотоаппарата. Фотографии сделаны при увеличении в 560 крат.

Гематологические исследования проведены у 180 озёрных лягушек.

Полученные цифровые данные обработаны стандартными статистическими методами [Лакин, 1980]. Достоверность различий определяли с помощью критерия Стьюдента. Сравнивали результаты каждого опыта с контролем по всем показателям, а также опытов между собой. Различия считали достоверными, если $t_{\text{факт.}} > t_{\text{ст.}}$ при 5%-ном уровне значимости.

Различия в количестве амфибий с гонадами разной степени зрелости из двух водоёмов определяли с помощью критерия χ^2 . Уравнения регрессии гибели головастиков на день исследования рассчитаны с помощью пакета программ фирмы StatSoft STATISTICA 6.0.

Общий объём материала: гематологические показатели определены у 180 ос., размеры и стадии зрелости гонад — у 381 ос., изучение личиночного развития при воздействии карбаминовых пестицидов 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

Экологи обращают внимание на то, что водоёмы и каналы сельскохозяйственных угодий — типичные местообитания амфибий, несмотря на потенциальное влияние применяемых пестицидов и удобрений [The functional integrity ... , 1998].

В монографии Т. Ю. Песковой [2001] отмечено, что разнообразные результаты воздействия на амфибий пестицидов и других загрязнителей (тяжёлые металлы, нефть и нефтепродукты, фенол), можно свести к следующим вариантам: 1) повышенная смертность взрослых особей; 2) накопление загрязнителей в значительном количестве в теле взрослых особей, в личинках и икре; 3) снижение выживаемости эмбрионов и личинок, ретардация развития, тератогенное действие; 4) морфофизиологические изменения (размеры тела, индексы органов, морфометрические показатели); 5) изменения гематологических показателей; б) изменения популяционной структуры видов.

Эти результаты воздействия могут проявляться изолированно или комплексно, причём последнее — в самых разных соотношениях. Перечисленные результаты воздействия имеют разную значимость для животных. Первый и третий варианты приводят к снижению численности земноводных в загрязнённых биотопах или даже к полному исчезновению отдельных видов. Вторым результатом воздействия — накопление загрязнителей в организме — имеет видоспецифическое проявление. При этом, как правило, существенно не снижается численность у аккумулялирующих загрязнители видов, в то же время у остальных может происходить интенсивная гибель амфибий.

Плотность (численность) популяции является, по мнению М. М. Пикулика [1985], самым интегрирующим показателем её структуры, отражающим как состояние, так и динамику.

Данные, характеризующие летнюю динамику численности озёрной лягушки в исследованных водоёмах, приведены в таблице 3.

Таблица 3 — 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 — звёздочкой (*) отмечены статистически достоверные различия			

В р. Кочеты численность лягушки возрастает в июле по сравнению с июнем ($t = 2,94$ при $t_{\text{ст}} = 2,57$), далее в августе продолжается увеличение численности, хотя различия данных за эти два месяца находятся в пределах статистической ошибки ($t = 2,48$ при $t_{\text{ст}} = 2,57$), в сентябре численность остаётся на уровне августа, превышая июньскую численность в 1,3 раза. В целом динамика численности в чистом водоёме заключается в возрастании числа особей сразу после завершения метаморфоза и выхода сеголеток. Подобные сезонные изменения численности отмечали и ранее [Жукова, Пескова, 1998б].

В загрязнённом карбаминовыми пестицидами (2 ПДК) пруду увеличения численности озёрной лягушки в июле по сравнению с июнем не наблюдается ($t = 2,39$ при $t_{\text{ст}} = 2,57$), а в августе происходит уменьшение численности по сравнению с июлем ($t = 2,78$ при $t_{\text{ст}} = 2,57$), которое продолжается и в сентябре. Сентябрьская численность статистически достоверно ($t = 2,60$ при $t_{\text{ст}} = 2,57$) в 1,2 раза ниже июньской. По-видимому, происходит миграция из загрязнённого пруда взрослых лягушек.

Данные таблицы 3 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: в июне различия численности земноводных в двух водо-

ёмах находятся в пределах статистической ошибки, но наблюдается тенденция к снижению численности озёрной лягушки в пруду.

В нашем регионе ранее проводилось сравнение численности озёрной лягушки в чистом водоёме и загрязнённом различными пестицидами. Многолетнее изучение реакций озёрной лягушки на загрязнение среды её обитания различными химикатами показало, что на Северном Кавказе и в Нижнем Поволжье деятельность человека, приводящая к загрязнению водоёмов химическими соединениями, является весьма важным регулятором численности. Повсеместно там, где загрязнение водоёмов пестицидами достигало высоких показателей, относительная численность лягушек была гораздо ниже, чем в менее загрязнённых водоёмах, и нередко имела тенденцию к дальнейшему снижению [Кубанцев, Жукова, 1994].

Так, в Западном Предкавказье (Адыгея) в пруду рыбхоза «Тахтамукайский», в воде которого отсутствуют пестициды, численность озёрной лягушки в 1,4 раза превышает численность этого же вида в сбросном Чибийском канале рисовых систем у пос. Прикубанский, где вода содержит такие пестициды как фацет, лондакс, базагран, сириус (в июне $107,9 \pm 7,20$ и $76,7 \pm 5,92$ особей соответственно) [Пескова, 2002].

Численность озёрной лягушки изучали в трёх водоёмах, различающихся степенью загрязнения, в Краснодарском крае с мая по октябрь 1999 г. Наиболее чистый водоём — Любительский пруд в верховьях р. Бейсуг; Запретный пруд лежит ниже по руслу реки, в него стекают воды с очистных сооружений Коноковского молочного завода; третий водоём — пруд-испаритель Успенского сахарного завода с наивысшей степенью загрязнения. Сравнение численности озёрной лягушки в этих трёх водоёмах показало, что в течение всего периода исследования максимальная численность отмечена для Любительского пруда, минимальная — для пруда-испарителя, а численность в Запретном пруду всегда ниже, чем в Любительском, но выше, чем в пруду-испарителе. Численность озёрной лягушки в Любительском пруду обычно в 1,3—1,8 раза превышает численность в Запретном пруду, а в конце сентября это превышение ещё значительнее — в 2,7 раза. Численность озёрной лягушки в пруду-испарителе обычно в 8,6—11,7 раза меньше,

чем в Любительском пруду, а в мае лягушек тут в 17,7—25 раз меньше. Последнее объясняется, вероятнее всего, тем, что в наиболее загрязнённом водоёме лягушки не зимуют, но весной сюда приходят единичные половозрелые особи в поисках возможного места размножения [Жукова, Воробьевская, 2001].

В чистом водоёме пос. Белозёрного численность составляет от 114,7 ос. на 100 м маршрута в мае до 189,0 особей в июле, что достоверно больше, чем в загрязнённом пестицидами сбросном канале рисовой системы — 75,0 и 125,0 особей на 100 м маршрута [Пескова, 2001].

Другие типы загрязнений также определяют сходную динамику численности озёрной лягушки. Так, комплексное воздействие загрязнителей (на полях фильтрации сахарных заводов Краснодарского края) достоверно снижает численность вида. На полях фильтрации сахарных заводов обоих типов за все годы исследований численность достоверно не различалась ($t_{\phi} = 0,5$ при $t_c = 2,02$) и составила $31,9 \pm 6,21$ и $37,5 \pm 7,93$ особей на 500 м соответственно. Численность озёрной лягушки в притоке р. Лабы в окрестностях полей фильтрации сахарного завода первого типа, была достоверно выше ($t_{\phi} = 5,22$ при $t_{ct} = 2,57$), чем в водоёме-отстойнике и составляла $104,7 \pm 12,47$ особей на 500 м. Численность озёрной лягушки на участке р. Вторые Кочеты, расположенном в 0,5 км от полей фильтрации сахарного завода второго типа, также достоверно выше ($t_{\phi} = 8,9$; $t_{ct} = 2,57$), чем на полях фильтрации, она составляет $155,0 \pm 10,55$ особей на 500 м. Таким образом, на прилегающих к полям фильтрации менее загрязнённых территориях численность озёрной лягушки в 3—4 раза выше [Шиян, 2011].

В других регионах получены аналогичные или немного другие данные. Так, в Предкамье (Татарстан) максимальная численность лягушек приходится на озера со средним антропогенным воздействием, а минимальная — со слабым и сильным антропогенным воздействием [Шахтарин, 1999]. В чистом водоёме — р. Уса — на 100 м маршрута численность популяций озёрной лягушки была в 2—3 раза больше, чем в р. Свияга, загрязнённой солями тяжёлых металлов [Спирина, 2007].

Анализ относительной численности земноводных на реках Воронеж и Дон в проточных и стоячих водоёмах показал зависимость этого показателя от степени

антропогенной нагрузки на биотоп. По мере увеличения антропогенного воздействия относительная численность земноводных уменьшается. В тоже время, наблюдаемые на отдельных участках с умеренной антропогенной нагрузкой колебания относительной численности земноводных, видимо, обусловлены целым рядом особенностей рассматриваемых мест обитания [Никашин, 2007].

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 4.

Таблица 4 — Соотношение полосатых и бесполосых особей озёрной лягушки в исследуемых водоёмах (числитель — абсолютная величина, знаменатель — в процентах от общего числа особей)

Водоём	Время исследования	Морфа <i>striata</i>	Морфа <i>maculata</i>
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			

Из таблицы 4 видно, что в загрязнённом пестицидами пруду в оба года исследования среди земноводных преобладает морфа *striata*. Так, в первый год исследования соотношение полосатых и бесполосых особей составляет 1 : 0,68. Во второй год исследования в конце весны полосатые преобладают в ещё большей степени 1 : 0,29; в конце лета картина не меняется по сравнению с весной: преобладание полосатых составляет 1 : 0,30.

В р. Кочеты в первый год исследования достоверно преобладают бесполовые особи (59,6 %), а на следующее лето в популяции озёрной лягушки процентное соотношение обеих морф практически равное.

Таким образом, в относительно чистом водоёме бесполовые особи или преобладают над полосатыми, или особи обеих морф представлены поровну, а в загрязнённом водоёме полосатые особи преобладают над бесполовыми.

Аналогичные данные получены по различным водоёмам Западного Предкавказья. Так, в чистом водоёме ст-цы Успенской на протяжении всего периода исследований преобладает морфа *maculata*, максимальное преобладание отмечено в августе, когда бесполовых особей было в 4,9 раза больше, чем полосатых. В загрязнённом водоёме картина прямо противоположная — устойчиво преобладают полосатые особи над бесполовыми (максимально в августе: в 5,5 раз). Различия фенетической структуры популяций озёрной лягушки в водоёмах, отличающихся степенью загрязнения, статистически достоверны [Жукова, Пескова, 1998в].

В одной из степных рек Западного Предкавказья — Еи — в популяции озёрной лягушки бесполовых особей больше только среди самых младших лягушек (возраст 1+), а в более старших возрастных группах соотношение бесполовых и полосатых особей равно [Жукова, 2005].

В окрестностях пос. Белозёрного вблизи г. Краснодара фенетическая структура популяций озёрной лягушки изучалась в двух изолированных водоёмах, различных по степени пестицидного загрязнения, — в пруду и рисовом чеке. В чистом водоёме соотношение морф *striata* и *maculata* среди самцов составляет 1 : 4,5, а среди самок — 1 : 4, то есть явно преобладают бесполовые особи, их 81,8 % среди самцов и 80 % среди самок. В обводном канале соотношение *striata* и *maculata* среди самцов 1 : 0,7, а среди самок 1 : 0,2. Таким образом, в загрязнённом водоёме преобладают полосатые особи, их 58 % среди самцов и 83 % среди самок [Пескова, 2002].

Известно, что морфа *striata* у разных видов рода *Rana* преобладает при обитании в различных экстремальных условиях — в горах, на урбанизированных территориях и в условиях загрязнения. Среди сеголеток озёрной лягушки, оби-

тающих в зоне сброса шахтных вод, чаще всего встречаются полосатые особи. В загрязнённом районе Казахстана доля морфы *striata* составила от 71,4 до 100 %, что авторы объясняют более высокой двигательной активностью полосатых сеголеток [Айтбаева, Атаханова, 1989; Атаханова, Айтбаева, Байназарова, 1993]. В Нижнем Поволжье и на Дону возрастает процент морфы *striata* у озёрных лягушек при увеличении загрязнённости водоёмов [Ковылина, 1999]. В загрязнённом водотоке Ульяновской области — р. Свяга встречаемость морфы *striata* была достоверно в 1,3—2,0 раза выше, чем в экологически чистом водотоке [Спирина, 2007]. Отмечено возрастание доли особей с фенотипом *striata* в замкнутых водоёмах Липецкой области по сравнению с проточными и в водоёмах с высокой антропогенной нагрузкой по сравнению с водоёмами с низкой антропогенной нагрузкой [Никашин, 2007].

Соотношение морф *striata* и *maculata* в популяциях озёрной лягушки может служить хорошим признаком для биоиндикации загрязнённых водоёмов. При этом характер загрязняющих веществ, по-видимому, не имеет принципиального значения, так как сходные сдвиги фенетической структуры имеют место в водоёмах, загрязнённых разными поллютантами.

Наши данные подтверждают, что и в водоёме с водой, загрязнённой карбаминными пестицидами, преобладают особи полосатой морфы.

Известно, что возрастная структура популяции определяет дальнейшую судьбу популяции в конкретных условиях обитания [Замалетдинов, 2003]. Поэтому изучение возрастной структуры природных популяций является необходимой составной частью популяционного анализа.

Возрастная структура исследуемых популяций озёрной лягушки показана в таблице 5.

Отнесение особей к той или иной возрастной группе проводилось непосредственно в полевых условиях, поэтому мы не указываем точный возраст животных (в годах), а выделяем группы неполовозрелых и половозрелых земноводных. Нам известны литературные данные о том, что самые старые особи из группы зелёных лягушек *Pelophylax lessonae* (в состав которой входит и озёрная лягушка *Pelophy-*

lax ridibunda) не являются самыми крупными, а самые крупные не являются самыми старыми, то есть лягушек можно разделить на быстрорастущих и долгоживущих [Усова, 2010].

Таблица 5 — 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

Из таблицы 5 видно, что в сентябре 2009 г. (первый год исследования) как в пруду, так и в р. Кочеты 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. Критерий Пирсона при сравнении двух водоёмов составляет 3,40 при $\chi^2_{\text{ст}} = 5,99$.

Весной следующего года (в мае) в водоёмах сеголеток нет, что ожидаемо, а соотношение неполовозрелых и половозрелых особей статистически достоверно различается ($\chi^2 = 6,07$ при $\chi^2_{\text{ст}} = 3,84$), а именно: 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. большинство амфибий в популяции составляют сеголетки (их в два раза больше, чем неполовозрелых), а половозрелых несколько больше,

чем в предыдущий год (30,7—33,9 %). Такая картина наблюдается в обоих исследованных водоёмах ($\chi^2 = 0,17$ при $\chi^2_{\text{ст}} = 5,99$). При этом количество половозрелых 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 половозрелых 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.

Согласно литературным данным, весной существуют достоверные различия возрастной структуры озёрной лягушки в популяциях из чистого и загрязнённого пестицидами водоёмов, а именно: в популяции озёрной лягушки из чистых водоёмов относительно больше доля половозрелых амфибий [Пескова, 2002]. Так, в окрестностях ст-цы Фёдоровской весной в популяции озёрной лягушки из чистого водоёма половозрелые животные составляют большинство: 64,3 % среди самцов и 55,5 % среди самок. Годовалых самцов и самок равное число: 17—19 %. Доля двухлеток относительно больше у самок, чем у самцов, видимо, это, резерв животных, которые смогут участвовать в размножении. В загрязнённом водоёме (рисовом чеке) весной примерно половина всех лягушек (и самцов, и самок) — двухлетние особи, доля трёхлетних, наиболее интенсивно размножающихся амфибий снижена по сравнению с чистым водоёмом до 30 % у самок и 18 % у самцов (четырёхлетних животных в этой популяции не обнаружено). Осенью при возрастании обилия сеголеток пропорционально уменьшается доля животных более старших возрастов, причём самые старые (трёх- и четырёхлетние) лягушки отмечены единично, особенно в загрязнённом водоёме [Жукова, Пескова, 1998б].

Снижение численности озёрных лягушек старших возрастов в условиях интенсивного антропогенного воздействия отмечали в Нижнем Поволжье и на Северном Кавказе [Кубанцев, Жукова, 1982]. В зоне промышленного загрязнения на

Украине и в деструктивных биогеоценозах Приднепровья также происходит сдвиг возрастного ряда этого вида влево [Бобылев, 1985; Мисюра, 1989].

Соотношение полов в популяциях животных и изменение этого соотношения, если оно имеет место, существенно влияет на интенсивность размножения данной популяции, играет некоторую роль в процессах популяционной регуляции, в значительной степени определяет роль популяции в экосистеме и реакцию на изменяющиеся условия существования [Большаков, Кубанцев, 1984].

Половая структура популяций озёрной лягушки в р. Кочеты и в изолированном водоёме, загрязнённом карбаминовыми пестицидами, показана в таблице 6.

Таблица 6 — 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				

Данные таблицы 6 свидетельствуют, что в р. Кочеты и в пруду, загрязнённом карбаминовыми пестицидами, обнаружены статистически достоверные различия в соотношении полов. А именно: в р. Кочеты на протяжении двух лет исследования достоверно больше самцов (вдвое), а в пруду — наоборот больше самок (также вдвое). Критерий Пирсона при сравнении соотношения самцов и самок в реке и пруду составляет 5,42 и 5,52 при $\chi^2_{ст} = 3,84$.

Судя по литературе, различия в соотношении полов у молоди озёрной лягушки в прудах рыбоводного завода и в водоёмах Волго-Ахтубинской поймы не

достигает статистически значимых величин, но среди взрослых лягушек в озёрах и ериках поймы число самок в посленерестовый период незначительно превышает число самцов, в то время как в чистом водоёме очень существенно преобладание самок: 4 самки на 1 самца [Кубанцев, Жукова, 1994]. По данным Т. Ю. Песковой [2000б], для двух видов амфибий (озёрная лягушка и краснобрюхая жерлянка) в условиях Западного Предкавказья наблюдается сходная тенденция изменения половой структуры при обитании в загрязнённых водоёмах, а именно — если в чистом водоёме преобладают самцы, то в загрязнённом, как правило, больше самок.

Сравнительный анализ соотношения самок и самцов озёрных лягушек, обитающих на полях фильтрации сахарных заводов двух типов, без учёта сезона, показал некоторое преобладание в популяциях самок, на полях фильтрации завода первого типа — 53—66 %, второго типа — 51—58 % от общего числа особей. При этом весной в водоёмах преобладали самцы, а осенью — самки. В популяциях лягушек из чистых водоёмов в окрестностях сахарных заводов было отмечено либо равное соотношение самцов и самок (р. Вторые Кочеты), либо незначительное преобладание самок 1 : 1,2 (р. Лаба) [Шиян, 2011].

У амфибий загрязнённого водотока (р. Свяга) наблюдалась тенденция изменения половой структуры. В экологически чистом водотоке среди половозрелых животных соотношение полов 1 : 1, а в загрязнённом водотоке это соотношение сдвигалось в сторону самок (1 : 1,5—1 : 4,4). Это свидетельствует о явном дефиците самцов в популяциях, обитающих в загрязнённых водотоках [Спирина, 2007]. Преобладание самок является следствием их большей жизнеспособности (устойчивости) по сравнению с самцами и даёт преимущество популяции в экстремальных условиях, так как служит повышению её репродуктивного потенциала [Фоминых, 2006].

Существует точка зрения (относительно млекопитающих), что уменьшение числа самок может приносить популяции только вред, так как ведёт за собой снижение репродуктивного потенциала популяции и обеднение её генетической структуры. Потеря же самцов под влиянием неблагоприятных факторов в опреде-

лѐнной степени полезна, так как при этом репродуктивные возможности популяции не страдают или страдают в гораздо меньшей мере, чем при потере самок, а в то же время происходит отбор генотипов, стойких к данному неблагоприятному фактору, и таким образом обеспечивается микроэволюционный процесс [Большаков, Кубанцев, 1984]. Т. Ю. Пескова [2002] считает, что сказанное в полной мере можно отнести и к изменению половой структуры земноводных при обитании в загрязнѐнных пестицидами водоѐмах.

Таким образом, при обитании в водоѐме с водой, загрязнѐнной карбаминовыми пестицидами (2 ПДК), по сравнению с чистым водоѐмом наблюдаются сниженная общая численность озѐрной лягушки в 1,2—1,8 раза (в разные месяцы), а также изменѐнные 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

Естественные экосистемы постоянно загрязняются отходами многочисленных химических производств [Безель, Большаков, Воробейчик, 1994]. Наиболее катастрофично для животных попадание в природу веществ, нарушающих репродуктивные функции. В этом случае первичная численность животных может оставаться высокой, и соответственно эффект усиления размножения как ответная реакция на падение плотности не наступает, что приводит к постепенному, но необратимому разрушению популяции. Поэтому более точным критерием оценки состояния животных в условиях загрязнения служат не численность популяции, а патологии репродукции [Шилова, Шатуновский, 2005]. 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 экотоксиканты, обладающие стерилизующим эффектом и длительным остаточным действием, они разрушают нормальный процесс репродукции на различных стадиях. Если мишенью их действия являются животные, представляющие эпидемиологическую опасность, или вредители культурных растений, то такие препараты весьма важны для человека.

Примером хемотрестериланта, последствия применения которого изучены, может служить инсектицид карбарил (севин, карбатокс). Применение карбарила для уничтожения вредных насекомых и клещей привело к нарушению репродуктивной системы грызунов больших песчанок: в 68 раз возросло число аномалий беременности у самок по сравнению с контролем, отмечены существенные нарушения сперматогенеза у самцов [Денисова, 1976]. У монгольских пищух, контактировавших с препаратом, зарегистрированы многочисленные патологии развития эмбрионов и нарушения сперматогенеза. Эффект воздействия на популяцию пищух проявился в отдалённые сроки [Крылова, 1975]. Таким образом, повреждающее действие карбарила на репродуктивную систему гомойотермных позвоночных — млекопитающих известно.

Мы исследовали состояние половой системы пойкилотермных позвоночных — земноводных, испытывающих на себе влияние того же инсектицида, отдельно у самцов и самок.

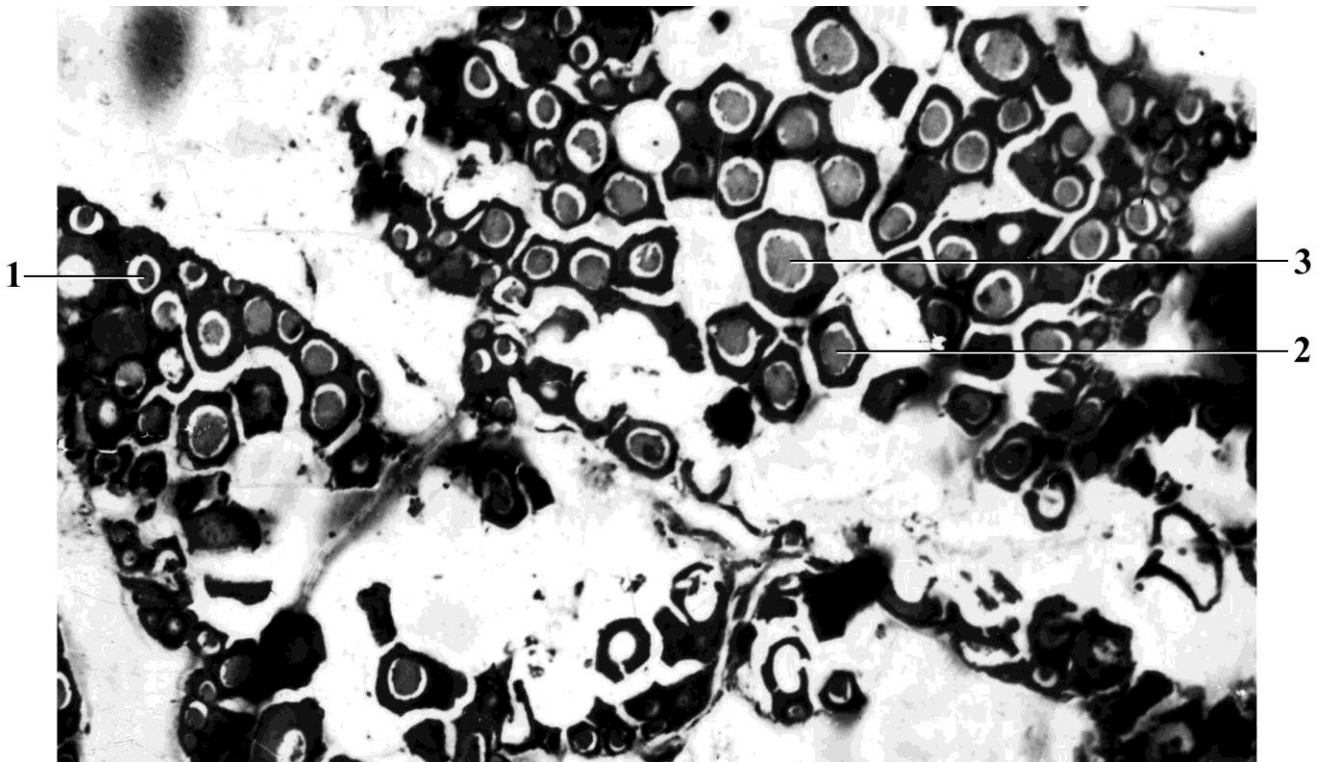
Места обитания двух популяций озёрной лягушки, в которых исследовали состояние гонад в период размножения (апрель—май 2010 г.), описаны в главе «Материал и методы исследования». В воде р. Кочеты не содержатся карбаминные пестициды, а в воде искусственного пруда отмечена концентрация карбарила 0,001 мг/л (2 ПДК) и феноксикарба — 0,01 мг/л (также 2 ПДК).

У исследованных озёрных лягушек (самцов и самок) из двух популяций, обитающих при различном уровне пестицидного загрязнения, нами обнаружены гонады 1—5 степеней зрелости (яичники — рисунки 3—7, семенники — рисунки 8—10).



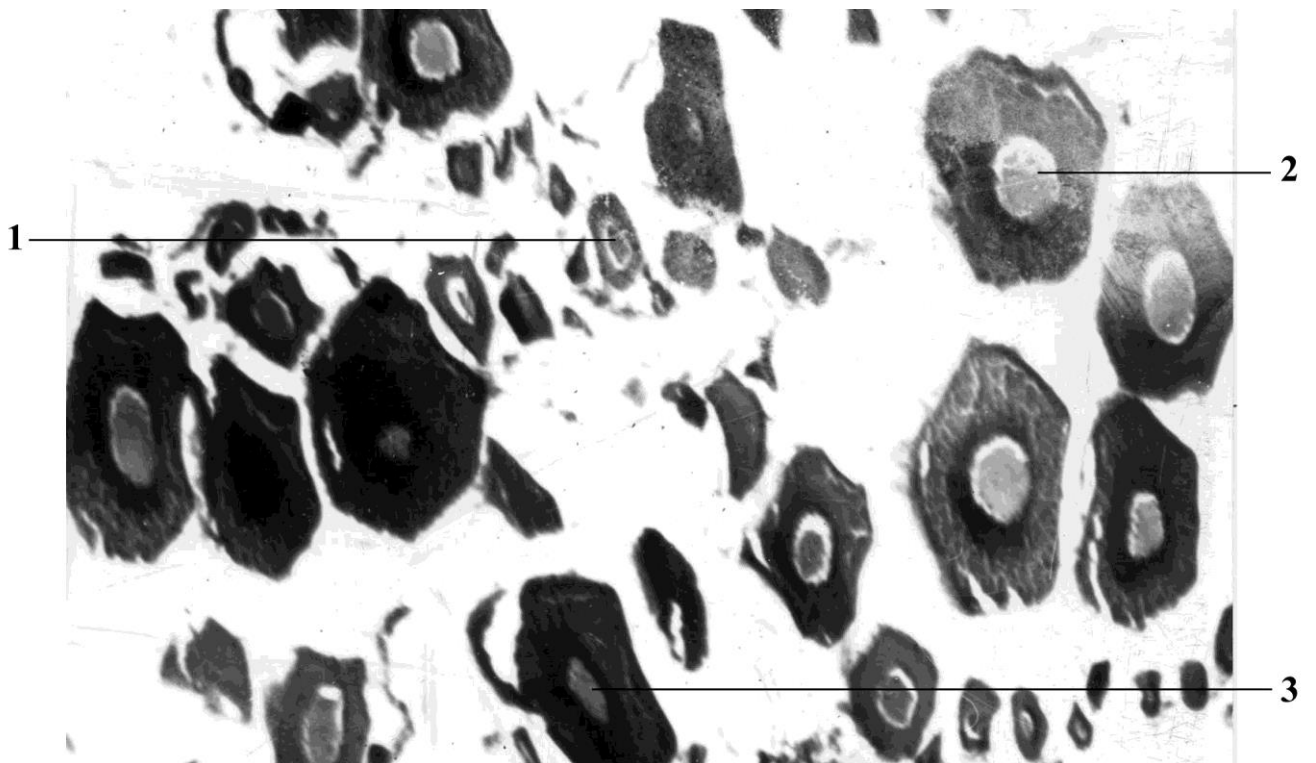
1 — овоцит 1 фазы; 2 — овоцит 2 фазы

Рисунок 3 — Стадия зрелости яичника — 1



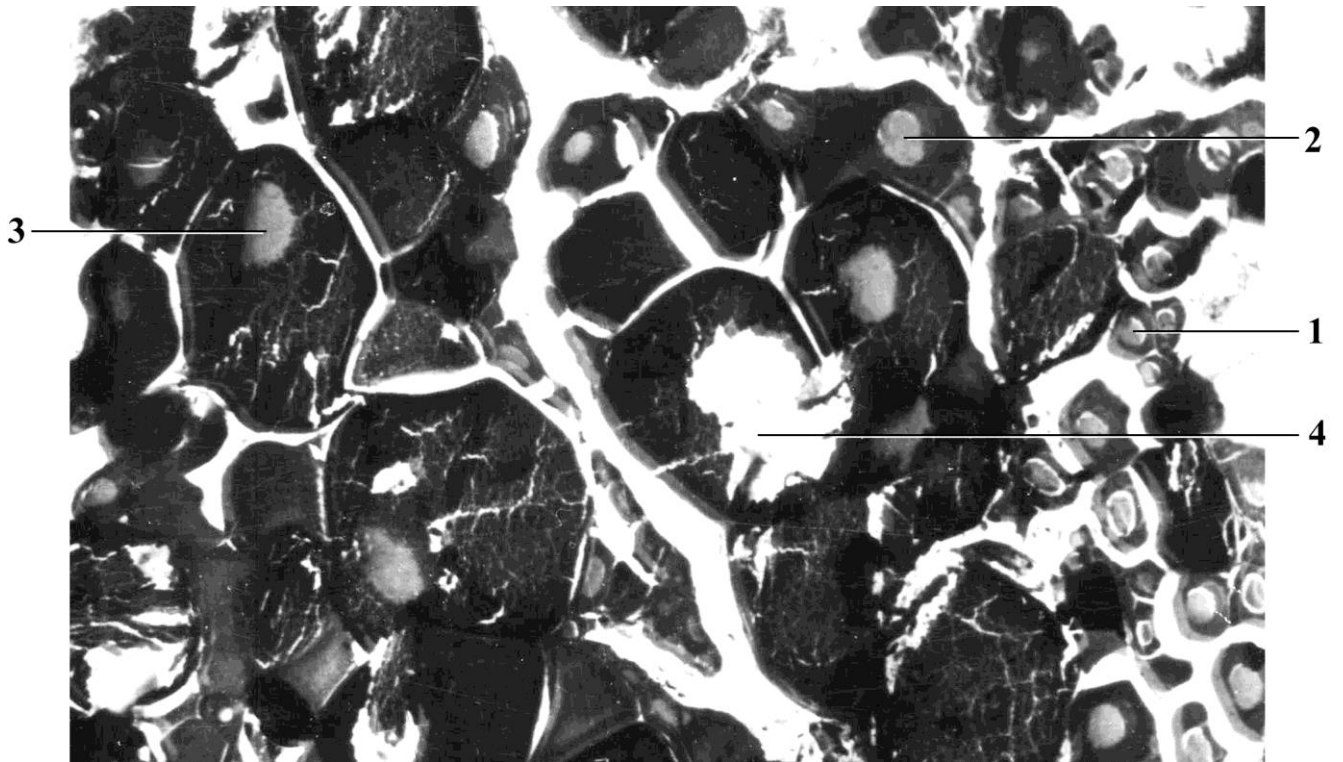
1 — овоцит 1 фазы; 2 — овоцит 2 фазы; 3 — овоцит 3 фазы

Рисунок 4 — Стадия зрелости яичника — 2



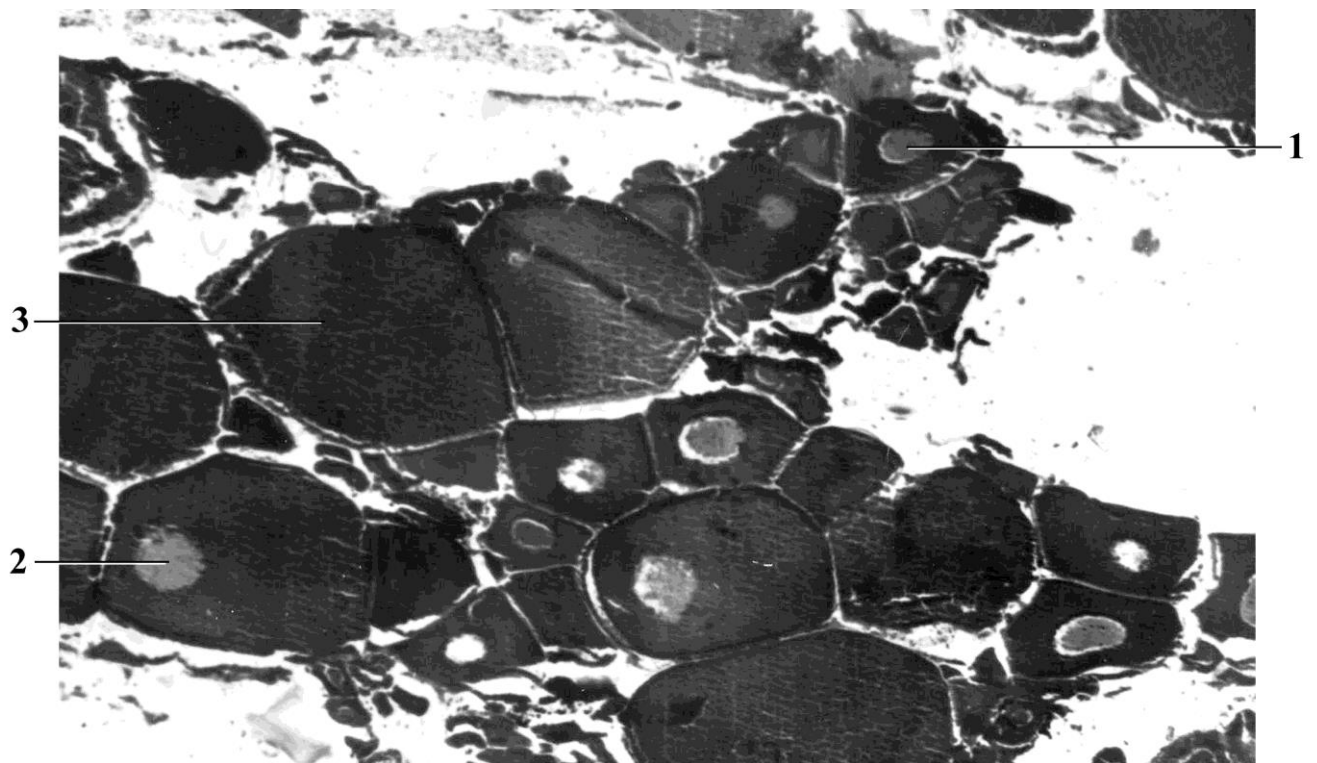
1 — овоцит 2 фазы; 2 — овоцит 3 фазы; 3 — овоцит 4 фазы

Рисунок 5 — Стадия зрелости яичника — 3



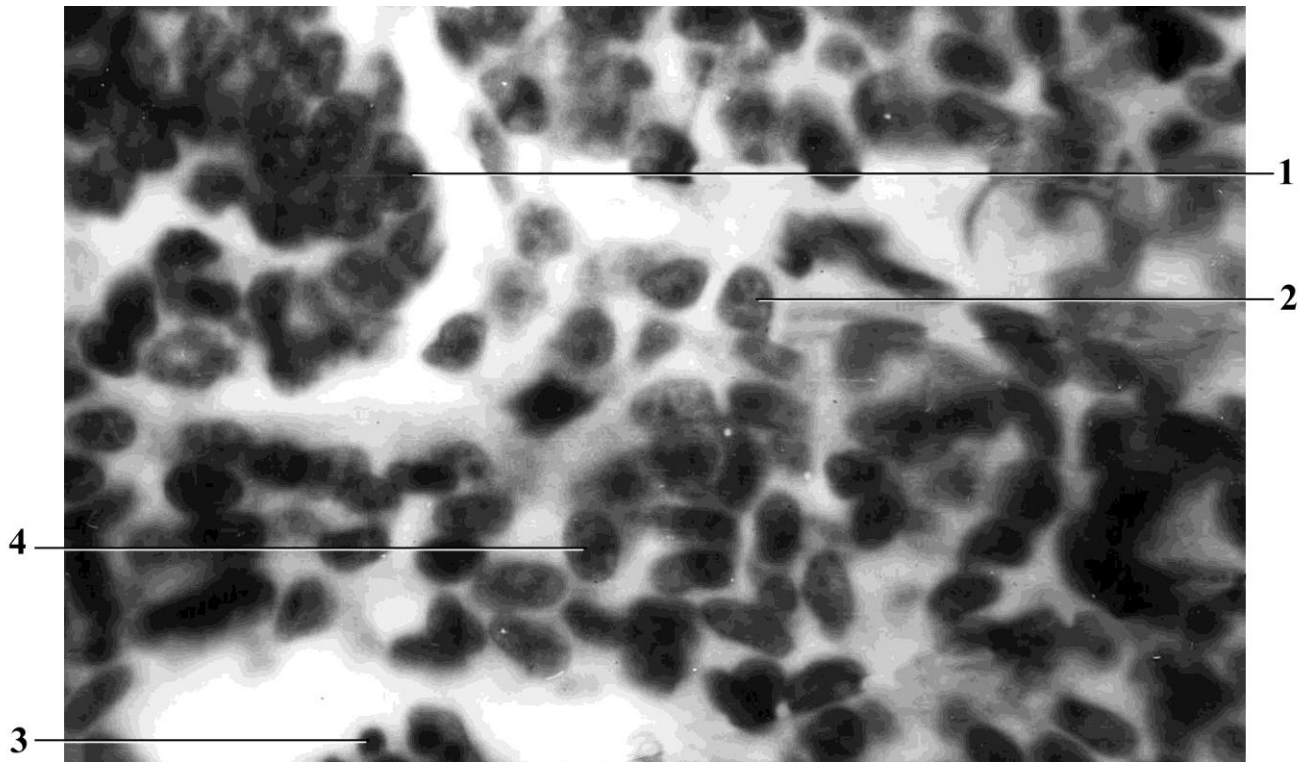
1 — овоцит 3 фазы; 2 — овоцит 4 фазы; 3 — овоцит 5 фазы; 4 — пустой фолликул

Рисунок 6 — Стадия зрелости яичника — 4



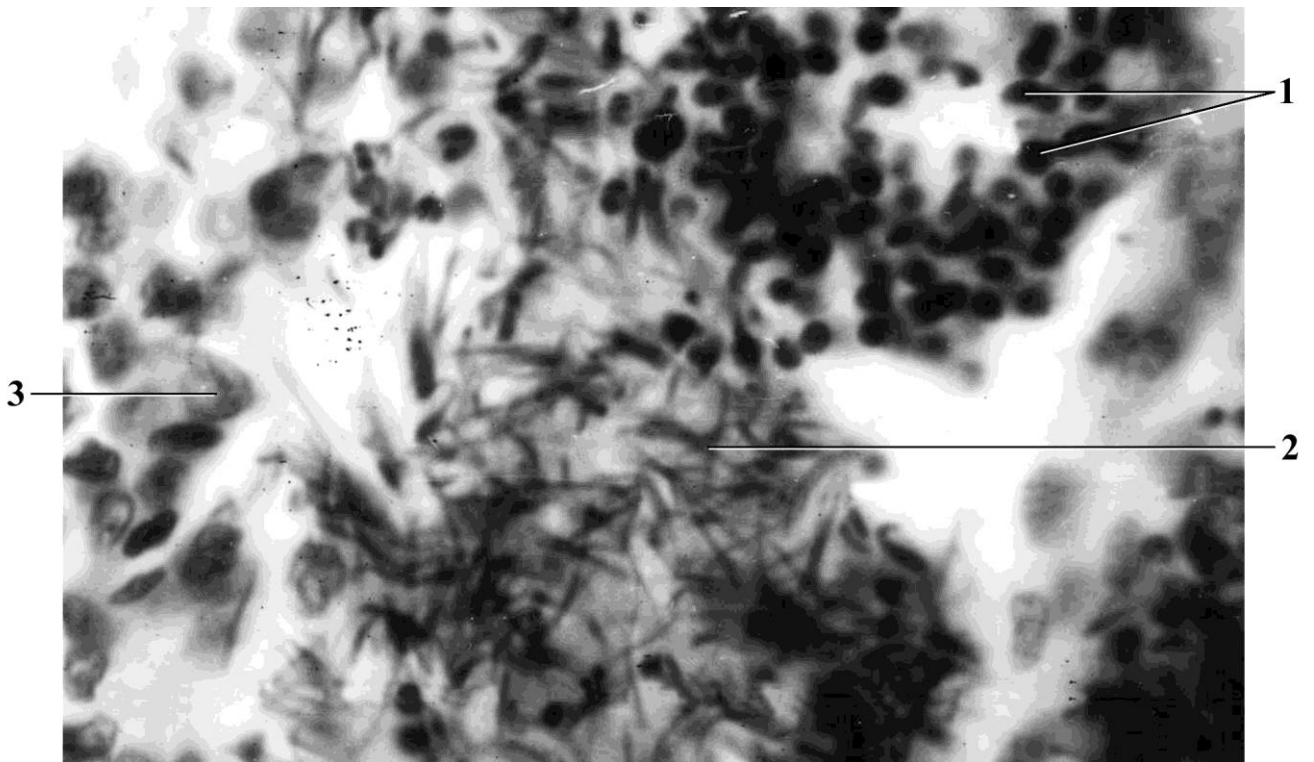
1 — овоцит 4 фазы; 2 — овоцит 5 фазы; 3 — овоцит 6 фазы

Рисунок 7 — Стадия зрелости яичника — 5



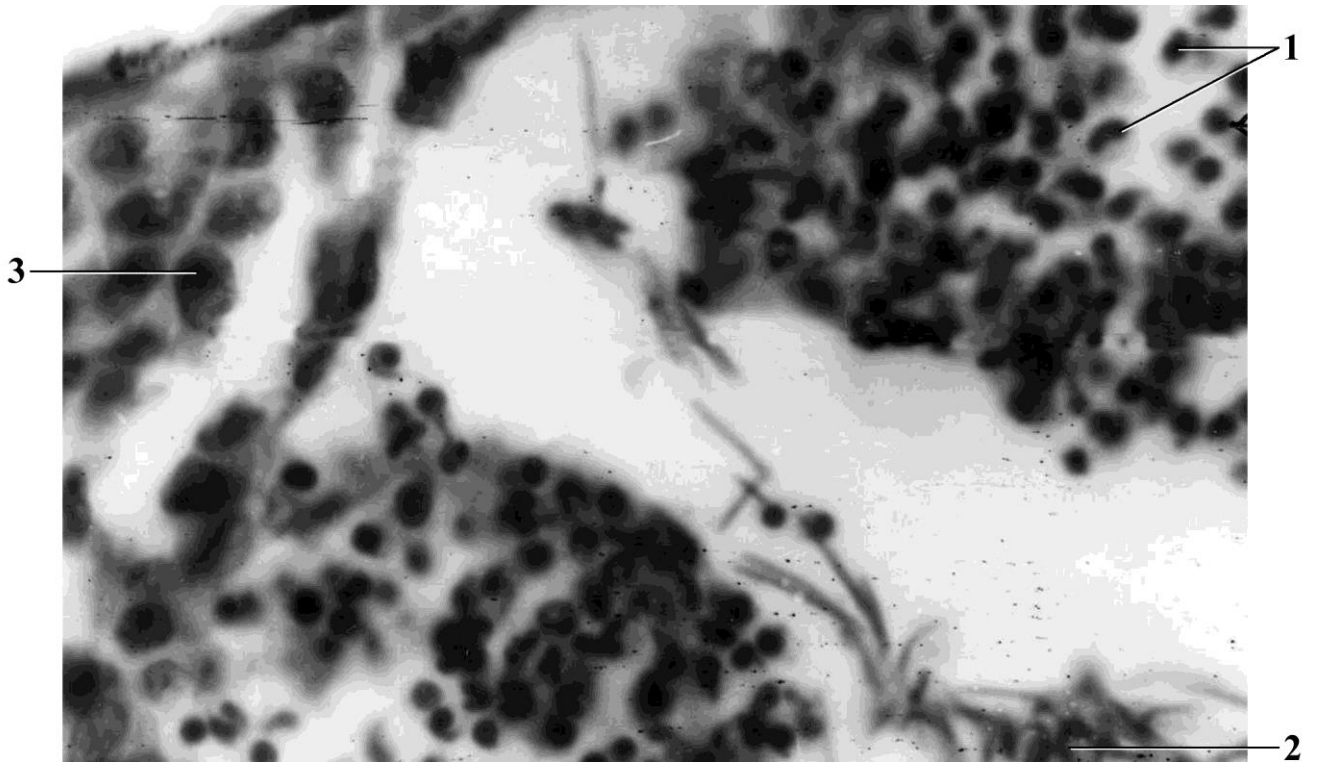
1 — сперматоцит 1 порядка; 2 — сперматоцит 2 порядка, 3 — сперматиды; 4 — незрелый сперматозоид

Рисунок 8 — Стадия зрелости семенника — 3



1 — сперматиды; 2 — зрелые сперматозоиды; 3 — единичные сперматоциты 2 порядка

Рисунок 9 — Стадия зрелости семенника — 4



1 — единичные сперматиды; 2 — зрелые сперматозоиды; 3 — делящиеся сперматогонии

Рисунок 10 — Стадия зрелости семенника — 5

Абсолютное число особей озёрной лягушки разных стадий зрелости гонад и их процентные доли в исследованных популяциях весной 2010 г. показаны в таблице 7.

Обращает на себя внимание тот факт, что весной очень редка встречаемость озёрных лягушек с гонадами первой стадии зрелости, такие особи отмечены единично как среди самцов, так и среди самок. 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 не ниже, чем 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.

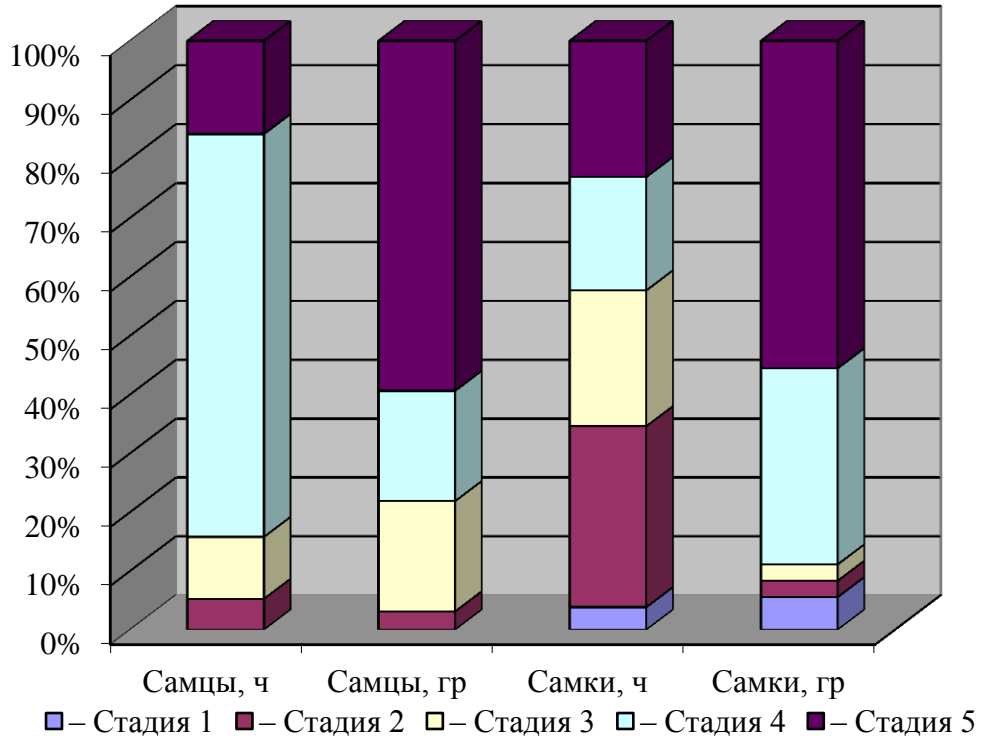
Таблица 7 — Количество озёрных лягушек с гонадами различной степени зрелости в двух популяциях (числитель — абсолютное число, знаменатель — в процентах к общему числу самцов или самок)

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

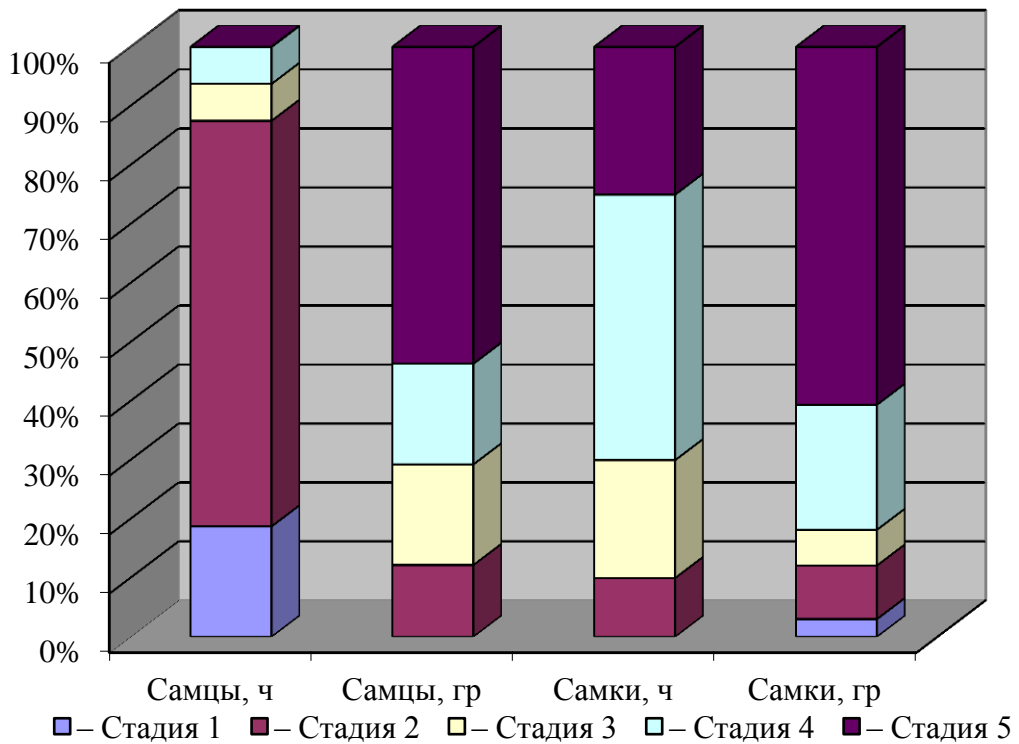
Мы провели попарное сравнение соотношения числа особей самцов и самок озёрной лягушки с разной степенью зрелости гонад в разные месяцы в чистом и загрязнённом водоёмах, — рисунок 11 (А — апрель, Б — май); а также сравнили соотношение особей в разные месяцы в одном и том же водоёме — рисунок 12 (А — чистый водоём, Б — загрязнённый пестицидами водоём).

Результат этого сравнения обилия особей с гонадами разной степени зрелости в исследуемых популяциях следующий.

Соотношение числа самок с гонадами различной степени зрелости, отмеченное нами для лягушек из р. Кочеты, вполне сопоставимо с соответствующими литературными данными для чистых водоёмов предгорной зоны Западного Предкавказья [Кубанцев, Жукова, Никифорова, 1979]. В обоих случаях около половины половозрелых самок имеют яичники 4 и 5 стадий зрелости, самки с гонадами 1 стадии зрелости встречаются единично.

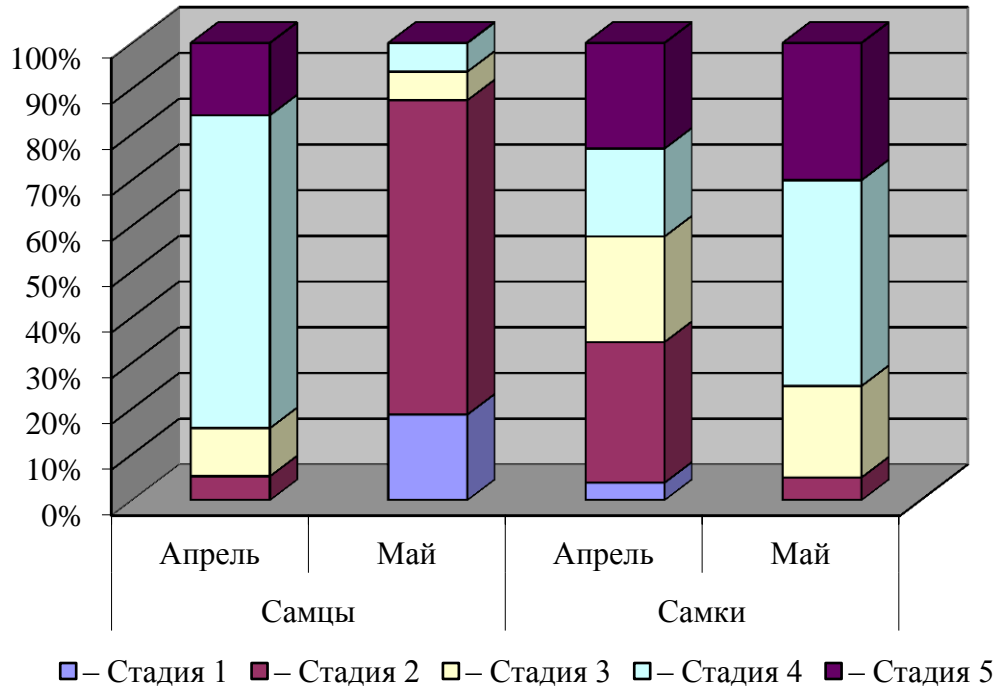


А

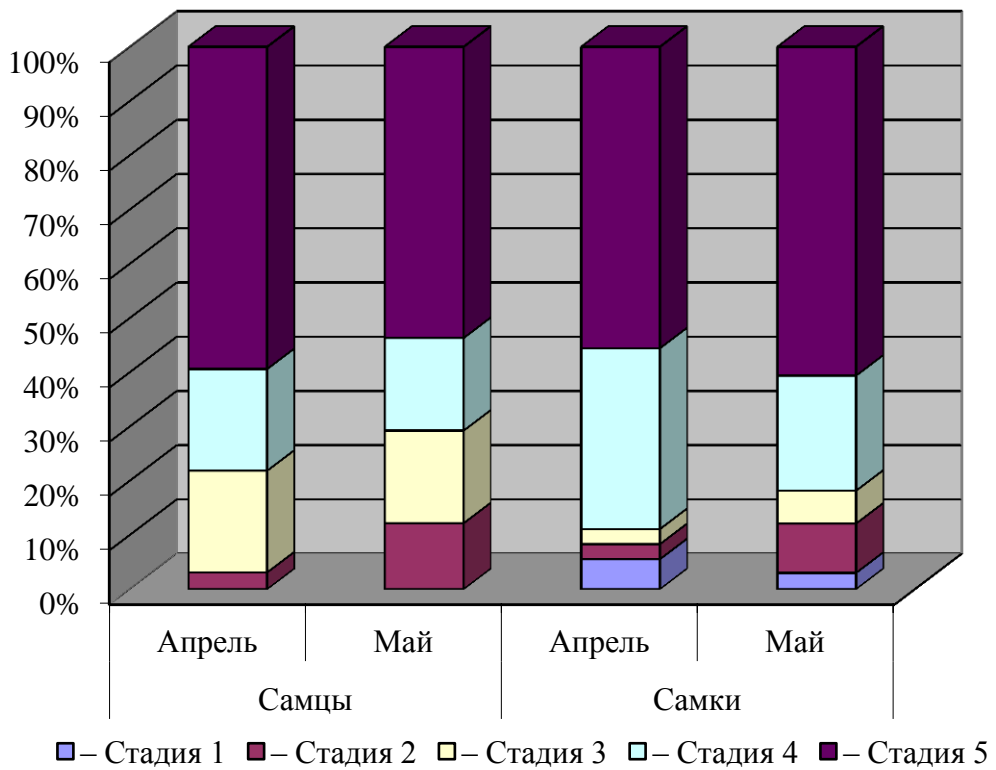


Б

Рисунок 11 — Соотношение числа особей озёрной лягушки с гонадами разной стадии зрелости в чистом и загрязнённом пестицидами водоёмах в апреле (А) и мае (Б)



А



Б

Рисунок 12 — Соотношение самцов и самок с гонадами разной стадии зрелости в популяциях озёрной лягушки из чистого (А) и загрязнённого (Б) водоёмов

В двух сравниваемых нами популяциях озёрной лягушки (из р. Кочеты — относительно чистого места обитания, без карбаминовых инсектицидов и из загрязнённого пруда) статистически достоверно различается обилие самцов с гонадами различной степени зрелости как в апреле, так и в мае ($\chi^2 = 17,87$ и $30,58$ при $\chi^2_{\text{ст}} = 9,49$); обилие самок с яичниками разной степени зрелости достоверно различно в сравниваемых популяциях только в апреле, в мае различия находятся в пределах статистической ошибки ($\chi^2 = 18,64$ и $8,55$ при $\chi^2_{\text{ст}} = 9,49$ соответственно).

В условиях загрязнения в апреле (рисунок 9А) отмечена явно низкая доля самцов с 4 степенью зрелости семенников (то есть готовых участвовать в размножении), но повышена доля самцов с 5 степенью зрелости гонад (то есть закончивших участие в размножении), а в чистом водоёме соотношение обратное. В мае в загрязнённом водоёме среди самцов, как и в апреле, преобладают особи с 5 степенью зрелости семенников, а в чистом водоёме больше всего самцов с семенниками 2 степени зрелости. Различия в состоянии половой системы самок двух популяций в апреле сводятся к следующему: в чистом водоёме доли животных с яичниками 2—5 стадий зрелости примерно одинаковы, а в загрязнённом явно преобладают самки с яичниками 4 и 5 степеней зрелости.

В чистой популяции в мае (рисунок 11 Б) по сравнению с апрелем статистически достоверно меняется соотношение самцов с разной степенью зрелости гонад ($\chi^2 = 24,30$), в апреле готовы к размножению 68,4 % самцов (4 стадия зрелости), а в мае такие самцы обнаружены единично (6,2 %).

У самок в чистой популяции доля особей с гонадами разной степени зрелости не меняется при сравнении апреля и мая ($\chi^2 = 6,92$ при $\chi^2_{\text{ст}} = 9,49$) — рисунок 12 А. В оба месяца много готовых к размножению самок (4 и 5 стадии зрелости яичников). В апреле их доля составляет 42,3 %, к ним ещё надо добавить 23,1 % особей с яичниками 3 стадии зрелости, которые явно успеют дозреть и участвовать в размножении. В мае преобладают особи, полностью готовые к размножению, их 73,7 %. В данной популяции в апреле происходит эффективное размножение (много готовых к размножению особей обоих полов), но в мае возможностей успешного размножения становится меньше из-за отсутствия самцов с соот-

ветствующим состоянием семенников. Иначе говоря, в популяции озёрной лягушки из водоёма, не загрязнённого пестицидами (р. Кочеты), имеет место раннее и дружное размножение (таблица 7).

В искусственном пруду с загрязнением карбаминовыми пестицидами относительное обилие как самцов, так и самок с гонадами различной степени зрелости не меняется в мае по сравнению с апрелем (соответственно $\chi^2 = 1,96$ и $2,86$ при $\chi^2_{ст} = 9,49$) — рисунок 12 Б. В каждый из месяцев среди самцов лишь 18,7 и 17,1 % особей готовы к размножению, а среди самок, наоборот, готовые к размножению особи преобладают, их 81,8—88,8 %. Период размножения земноводных растянут. Судя по этим данным, размножение здесь не будет эффективным, так как возможности оплодотворения яйцеклеток лягушек в данном водоёме очень ограничены.

Таким образом, влияние попадания в водоём карбаминовых пестицидов сказывается на задержке созревания гонад у самцов (но не у самок), такая асинхронность приводит к снижению репродуктивных возможностей земноводных в данном водоёме.

Нам известна одна статья о различиях в состоянии гонад озёрной лягушки в зависимости от степени антропогенных воздействий на среду обитания [Жукова, Кубанцев, 1980]. Авторами исследованы две микропопуляции одной популяции озёрной лягушки, причём один из водоёмов загрязнён хлорорганическими соединениями (ДДТ, его метаболиты и γ -ГХЦГ). В более загрязнённой микропопуляции в апреле менее половины (41,6 %) самок и лишь 13,0 % самцов готовы к размножению; в мае большинство самок имеют зрелые гонады 4 и 5 стадий зрелости, среди самцов готовы к размножению около половины особей, а четвертая часть самцов уже завершили размножение. В более чистой микропопуляции в апреле всего лишь треть самок и более половины самцов готовы к размножению; к маю здесь происходит очень интенсивное созревание самок и в момент обследования популяции около 90 % самок уже закончили овуляцию, а у основной массы самцов происходит повторный цикл сперматогенеза. Таким образом, авторы отмечают, что сравниваемые микропопуляции озёрной лягушки различаются между со-

бой либо по относительному обилию животных с гонадами разной степени зрелости в оба месяца исследования (самцы), либо по характеру изменения этого обилия от апреля к маю (самки).

Общее для полученных в нашем исследовании и литературных данных — задержка созревания самцов в присутствии пестицидов (как хлорорганических, так и карбаминовых). Однако, имеет место и специфичность действия пестицидов, а именно: в присутствии ХОС к маю возрастает доля зрелых самцов и самок; в присутствии карбаминовых препаратов в мае остаётся все такой же малой доля зрелых самцов при большем обилии готовых к размножению самок. В целом в обоих исследованиях ухудшается возможность реализации репродуктивного потенциала озёрной лягушки под воздействием пестицидов, хотя конкретные физиологические механизмы процесса размножения несколько разнятся.

Согласно литературным данным, различные пестициды (метоксихлор, феноксигербициды) при воздействии на личинок земноводных вызывают нарушение сперматогенеза взрослых особей [Effect of methoxychlor ... , 2004; Скокова, 1977]. Есть много исследований влияния гербицида атразина (пестицид гетероциклической природы) на половую систему земноводных, в основном на таком модельном виде как шпорцевая лягушка *Xenopus laevis*. Так, воздействие атразина на головастиков шпорцевой лягушки в период половой дифференциации приводит у самцов к редукции размеров семенников у 70 % особей, а у самок — к усилению резорбции яичников. Общее снижение числа зародышевых клеток оценивается в 20 % (в контроле — 2 %) [Response of the amphibian ... , 2002a; Response of the amphibian ... , 2002b]. Влияние атразина даже в небольших дозах на личинок шпорцевой лягушки проявляется в гермафродитизме и демаскулинизации амфибий [Hermaphroditic demasculinized ... , 2002; Time's up for atrazine? ... , 2002]. По данным других авторов, хотя атразин и вызывал повышение доли интерсексов в потомстве шпорцевой лягушки, но это повышение происходило в небольших масштабах (менее 5 %) и отмечалось только при таких концентрациях атразина, которые очень редко наблюдаются в природе [Response of larval ... , 2003]. У леопардовой лягушки *Rana pipiens* атразин в крайне малой концентрации

($\geq 0,1$ части/млрд), присутствующей в среде даже в тех местах, где этот гербицид не использовался, приводит к замедлению развития гонад и к проявлению гермафродитизма. Очевидно, что атразин, наряду с другими ядохимикатами, оказывает существенное негативное воздействие на состояние природных популяций земноводных [Atrazine-induced hermaphroditism ... , 2003]. Известен факт, когда в пруд, являющийся местом размножения лягушек, по оросительной системе попадали остатки химикатов, содержащих атразин. В результате в яйцах лягушек ещё до откладывания отмечены необратимые изменения. При сублетальной дозе атразина эти нарушения поражают белок яйцевых оболочек, а личинки, выходящие из таких яиц, имеют гигантские размеры и патологическую форму. При более высокой концентрации отравляющего вещества белковая секреция яйцеводов полностью нарушается, белок теряет способность обволакивать яйца, нормально абсорбировать воду, наблюдается 100%-ная гибель икры [Hazelwood, 1970].

Размеры гонад (абсолютные и в промилле) озёрных лягушек исследованных нами популяций приведены в таблице 8 (семенники) и 9 (яичники). Усреднённая характеристика степени готовности популяций к размножению (отдельно для самцов и самок) показана в таблице 10.

Таблица 8 — Размеры семенников озёрной лягушки различных стадий зрелости (пределы, $X \pm m$)

Стадия зрелости	Длина тела, мм	Масса семенников	
		Абсолютная, мг	В ‰ к массе тела
1	2	3	4
1	42,0 n = 1	11,0	0,3
2	48,0—83,0 62,5 ± 2,82 n = 8	9,0—46,0 22,9 ± 5,84	0,3—1,2 0,7 ± 0,24

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4
3	74,0—92,0	28,0—84,0	0,4—1,3
	82,4 ± 0,92	50,4 ± 3,45	0,8 ± 0,17
	n = 15		
4	71,0—120,0	37,0—69,0	0,6—1,0
	87,3 ± 2,61	49,5 ± 5,59	0,8 ± 0,11
	n = 16		
5	61,0—95,0	41,0—135,0	0,3—2,2
	79,5 ± 2,12	78,0 ± 2,75	1,2 ± 0,007
	n = 28		

Таблица 9 — Размеры яичников озёрной лягушки различных стадий зрелости (пределы, $X \pm m$)

Стадия зрелости	Длина тела, мм	Масса яичников	
		Абсолютная, мг	В % к массе тела
1	53,0—70,0	30,0—130,0	0,9—2,9
	61,3 ± 3,25	56,5 ± 2,47	1,9 ± 0,22
	n = 5		
2	57,0—105,0	170,0—1200,0	2,9—17,2
	78,8 ± 5,68	597,5 ± 171,14	11,9 ± 0,98
	n = 12		
3	73,0—110,0	570,0—2000,0	9,6—29,1
	94,1 ± 3,53	1325,0 ± 186,11	21,3 ± 1,21
	n = 11		
4	80,0—114,0	1000,0—5000,0	14,7—56,2
	95,2 ± 2,81	2624,5 ± 291,20	42,6 ± 3,78
	n = 23		
5	71,0—124,0	1250,0—7600,0	13,8—74,0
	99,8 ± 1,74	3680,5 ± 414,11	52,9 ± 4,12
	n = 39		

Таблица 10 — Среднее значение стадий зрелости гонад озёрной лягушки в популяциях из водоёмов, разных по степени загрязнённости карбаминовыми пестицидами

Месяц исследования	Чистый водоём		Загрязнённый водоём	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Апрель 2010 г.	3,95	3,27	4,34	4,30
Май 2010 г.	2,00	4,10	4,12	4,27
Апрель 1978 г.*	3,57	2,92	3,13	2,88
Май 1978 г.*	1,94	4,26	3,83	3,68

Примечание — звёздочкой (*) отмечены данные Т. И. Жуковой, Б. С. Кубанцева [1980]

Высокое среднее значение данного показателя самцов (таблица 10) в загрязнённом водоёме связано с тем, что в присутствии карбаминовых пестицидов в популяции очень велика доля лягушек с 5 стадией зрелости семенников, то есть завершивших размножение.

Сопоставление данных по размерам гонад различной степени зрелости (таблицы 8 и 9) и усреднённых показателей стадий зрелости гонад озёрной лягушки в популяциях из разных по степени загрязнённости карбаминовыми пестицидами водоёмов (таблица 10) дало возможность рассчитать средние значения индексов гонад озёрной лягушки в двух популяциях (таблица 11).

Таблица 11 — 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

У самцов по средней величине индекса семенников нет статистически достоверных различий в оба месяца как в чистом, так и в загрязнённом водоёмах. У самок озёрной лягушки средний индекс яичников в чистом водоёме вдвое увеличен в мае по сравнению с апрелем, а в загрязнённом карбаминовыми пестицидами водоёме значения индекса яичников одинаковы в оба весенних месяца. При обитании в обоих исследованных водоёмах величины индексов гонад одинаковы у самцов (в оба месяца исследования), а у самок только в мае, в то время как индекс яичников в апреле достоверно выше у лягушек из загрязнённого водоёма.

Мобилизация защитных функций организма при отравлении приводит к увеличению индексов внутренних органов на фоне их патологических изменений. Это свидетельствует о дополнительной «энергетической плате» организма, связанной с детоксикацией и его выживанием в техногенно-трансформированных условиях среды [Моисеенко, 2000]. Мы полагаем, что относительно более крупные яичники озёрной лягушки при обитании в условиях загрязнения представляют собой иллюстрацию вышесказанного.

По литературным данным, при обитании в рисовом чеке у неполовозрелых самок озёрной лягушки индекс яичников в 2,5 раза ниже, чем у самок из чистого пруда, но половозрелые самки обеих популяций имеют одинаковый индекс яичников (55,0—59,8 ‰). Следовательно, в условиях загрязнения у самок в период полового созревания интенсивнее нарастает абсолютная (в 38 раз) и относительная масса яичников (в 11,3 раза); в чистом пруду — масса яичников увеличивается в 9 и 4,2 раза соответственно. Индекс семенников у неполовозрелых самцов лягушек из чистых прудов статистически достоверно меньше, чем из рисового чека. При этом у половозрелых самцов из пруда индекс семенников существенно возрастает по сравнению с неполовозрелыми особями, а у лягушек из рисового чека индекс семенников с возрастом не увеличивается. Таким образом, в популяции из рисового чека в период полового созревания наблюдается не идентичное изменение гонад у озёрных лягушек, а именно: у самок интенсивнее, чем в пруду, нарастает абсолютная и относительная масса яичников, а у самцов хотя абсолютная масса семенников и возрастает, но индекс их не меняется [Жукова, Кубанцев, 1982].

Обнаружены различия и в индексах гонад краснобрюхой жерлянки *Bombina bombina* при обитании в водоёмах, отличающихся степенью пестицидного загрязнения. В популяции из рисового чека отмечены очень высокие значения индекса семенников, особенно у младших возрастных групп. Известно, что, как правило, самцы представляют наиболее реактивную часть популяции. В данном случае реакция популяции на обитание в загрязнённом водоёме выразилась в повышенной смертности самцов с относительно мелкими семенниками, вследствие чего нижний предел значений этого индекса поднялся до 4,2 ‰. Кроме того, есть животные с относительно очень крупными семенниками — до 13,4 ‰. В результате в загрязнённом водоёме относительные размеры семенников в среднем в 4—5 раз увеличены по сравнению с животными из чистых водоёмов. При этом значения индексов гонад у самцов в каждом из водоёмов достаточно однородны: различия между коэффициентами вариации лежат в пределах статистической ошибки. В условиях пестицидного загрязнения можно предположить компенсаторный характер увеличения индекса гонад у самцов, тем более что смертность их в популяциях из рисовых чеков очень высока [Пескова, 1997].

У самок краснобрюхой жерлянки из чеков коэффициент вариации индекса яичников ($93 \pm 13,2 \%$) достоверно больше, чем у самок из чистого водоёма ($34 \pm 8,6 \%$). Заслуживает внимания и тот факт, что весной верхний предел значений индекса яичников у самок в чеках значительно выше (106,0 ‰) по сравнению с чистым водоёмом (87,6 ‰). Иначе говоря, существует тенденция к увеличению и индекса яичников у жерлянок из загрязнённого водоёма [Пескова, 2001].

В лиманах химкомплекса в низовьях Волги относительная масса яичников и яйцеводов озёрной лягушки превышает аналогичные показатели для прудов рыбопроизводного завода и естественных водоёмов. В то же время после зимовки в водоёмах со сливными водами у самок этого вида амфибий имеет место распад икры, загнивание яичника и другие патологические процессы [Косарева, Васюков, 1976]. У самок травяной лягушки ДДТ обнаружен в большом количестве в икре, отмечены крупные размеры икринок и высокое содержание жира в них, что, возможно, связано с воздействием ДДТ [Harri, Laitinen, Valkama, 1979]. Наряду с

этим химическое загрязнение может приводить к высокому проценту аплазии яичников у озёрной лягушки [Атаханова, Айтбаева, Байназарова, 1993].

Таким образом, токсиканты вызывают существенные изменения в половой системе. Возможны два типа изменений репродуктивных органов амфибий: 1) при сравнительно невысоких уровнях токсикантов происходит компенсаторное увеличение относительных размеров гонад, особенно у самцов (обеспечивается лучшая возможность воспроизводства при снижении численности половозрелых амфибий в условиях загрязнения); 2) при воздействии солей тяжёлых металлов и больших концентраций пестицидов наблюдаются разнообразные нарушения развития гонад, что резко ухудшает репродуктивные возможности амфибий [Пескова, 2000].

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

В популяции из относительно чистого водоёма (р. Кочеты) земноводные размножаются в апреле, но в мае интенсивность размножения снижается из-за малого числа самцов с семенниками 4 стадии зрелости.

В популяции из загрязнённого карбаминовыми пестицидами водоёма (искусственный пруд) сроки размножения сдвинуты, размножаются лягушки в основном в мае. Размножение здесь не является эффективным, так как возможности оплодотворения яйцеклеток лягушек в данном водоёме очень ограничены из-за малой доли готовых к размножению самцов.

Об изменениях во времени продолжительности периода размножения озёрной лягушки в чистых и загрязнённых водоёмах Нижнего Поволжья писали Б. С. Кубанцев, Т. И. Жукова [1994], отмечая растянутое вступление в процесс размножения самок в лиманах химзавода.

Таким образом, в двух сравниваемых нами популяциях озёрной лягушки (из р. Кочеты — относительно чистого места обитания, без карбаминовых инсектицидов) и из загрязнённого пруда статистически достоверно различается обилие

самцов с гонадами различной степени зрелости как в апреле, так и в мае; обилие самок с яичниками разной степени зрелости достоверно различно в сравниваемых популяциях только в апреле, в мае различия находятся в пределах статистической ошибки.

В условиях загрязнения в апреле отмечена явно низкая доля самцов с 4 степенью зрелости семенников (то есть готовых участвовать в размножении), но повышена доля самцов с 5 степенью зрелости гонад, закончивших участие в размножении, а в чистом водоёме соотношение обратное. В мае в загрязнённом водоёме среди самцов, как и в апреле, преобладают особи с 5 степенью зрелости семенников, а в чистом водоёме больше всего самцов с семенниками 2 степени зрелости. Различия в состоянии половой системы самок двух популяций в апреле: в чистом водоёме доли животных с яичниками 2—5 стадий зрелости примерно одинаковы, а в загрязнённом явно преобладают самки с яичниками 4 и 5 степеней зрелости. Влияние попадания в водоём карбаминовых пестицидов сказывается на задержке созревания гонад у самцов (но не у самок), такая асинхронность приводит к снижению репродуктивных возможностей земноводных в данном водоёме. В результате ухудшается возможность реализации репродуктивного потенциала озёрной лягушки под воздействием пестицидов.

Величины индексов гонад одинаковы при обитании в обоих исследованных водоёмах у самцов (в оба месяца исследования), а у самок только в мае, в то время как индекс яичников в апреле достоверно выше у лягушек из загрязнённого водоёма. Можно полагать, что исследованный нами уровень пестицидного загрязнения (2 ПДК обоих карбаминовых пестицидов) является сравнительно невысоким для озёрной лягушки, так как происходит компенсаторное увеличение относительных размеров гонад у самок и, по крайней мере, не уменьшаются относительные размеры семенников у самцов, а, следовательно, обеспечивается возможность воспроизводства при снижении численности половозрелых амфибий в условиях загрязнения.

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 земноводных, на примере головастиков 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 численности головастиков озёрной лягушки в контроле и растворах обоих пестицидов показана в таблице 12 (выживаемость по дням). Один из важных показателей токсичности препаратов — ET_{50} — медианное эффективное время [Яржомбек, Михеева, 2007]. Мы оценивали влияние дозы токсиканта на смертность головастиков по таким показателям как день 50%-ной гибели, уравнение регрессионной кривой и продолжительность метаморфоза.

По нашим данным, в контроле (чистая вода) 50%-ной гибели головастиков озёрной лягушки не наблюдалось, заканчивают метаморфоз 52,5 % особей на 64-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)

Таблица 12 — Количество живых головастиков озёрной лягушки (числитель — абсолютное значение, знаменатель — в процентах) в контроле и растворах карбаминовых инсектицидов различных использованных концентраций

Концентрация инсектицида, мг/л	День развития												
	1	7	15	20	30	36	43	49	57	64	69	76	
0 (контроль)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{36}{90,0}$	$\frac{30}{75,0}$	$\frac{28}{70,0}$	$\frac{26}{65,0}$	$\frac{24}{60,0}$	$\frac{23}{57,5}$	$\frac{22}{55,0}$	$\frac{21}{52,5^*}$	—	—	
Карбарил, 0,0005 (1 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{37}{92,5}$	$\frac{33}{82,5}$	$\frac{20}{50,0}$	$\frac{18}{45,0}$	$\frac{18}{45,0}$	$\frac{16}{40,0}$	$\frac{15}{37,5}$	$\frac{14}{35,0}$	$\frac{12}{30,0}$	$\frac{10}{25,0^*}$	—	
Карбарил, 0,001 (2 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{35}{87,5}$	$\frac{30}{75,0}$	$\frac{25}{62,5}$	$\frac{20}{50,0}$	$\frac{17}{42,5}$	$\frac{12}{30,0}$	$\frac{7}{17,5}$	0	—	—	—	
Карбарил, 0,002 (4 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{31}{77,5}$	$\frac{25}{62,5}$	$\frac{18}{45,0}$	$\frac{11}{27,5}$	$\frac{5}{12,5}$	0	—	—	—	—	—	
Феноксикарб, 0,005 (1 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{38}{95,0}$	$\frac{32}{80,0}$	$\frac{24}{60,0}$	$\frac{24}{60,0}$	$\frac{20}{50,0}$	$\frac{18}{45,0}$	$\frac{17}{42,5}$	$\frac{16}{40,0}$	$\frac{13}{32,5}$	$\frac{8}{20,0}$	$\frac{6}{15,0^*}$	
Феноксикарб, 0,01 (2 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{31}{77,5}$	$\frac{19}{47,5}$	$\frac{16}{40,0}$	$\frac{14}{35,0}$	$\frac{10}{25,0}$	$\frac{6}{15,0}$	0	—	—	—	—	
Феноксикарб, 0,02 (4 ПДК)	$\frac{40}{100,0}$	$\frac{24}{60,0}$	$\frac{11}{27,5}$	$\frac{5}{12,5}$	0	—	—	—	—	—	—	—	
Примечание — звёздочкой (*) отмечено наступление метаморфоза													

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.

Нормально метаморфоз головастиков прошёл в контроле и растворах самой низкой концентрации (1 ПДК) обоих пестицидов, хотя и с разными показателями выживаемости (таблица 12). 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 карбаминных пестицидов озёрная лягушка оказывается более толерантной к карбарилу.

Из литературы известно о том, что инсектицид ГХЦГ (линдан) более токсичен для головастиков озёрной лягушки, чем гербицид базагран [Жукова, Малахов, 1995; Жукова, Николаева, 1989]. Есть множество данных о дозозависимой (непосредственно от дозы или от продолжительности действия одной и той же дозы) гибели головастиков травяной лягушки при действии различных пестицидов — ДДТ [Cooke, 1973], малатиона, хлорофоса и их смеси [Ranke-Rybicka, 1972], карбатокса [Rzehak, Maryanska-Nadachowska, Jordan, 1977] и картапа [Jordan, Maryanska-Nadachowska, 1988].

В литературе также есть сведения о сравнительной чувствительности головастиков разных видов амфибий к токсикантам. Так, головастики шпорцевой лягушки по сравнению с головастиками травяной лягушки более чувствительны к пестициду тритоксу [Wojcik, Ranke-Rybicka, 1971], но менее чувствительны к пестицидам карбатоксу [Rzehak, Maryanska-Nadachowska, Jordan, 1977] и картапу [Jordan, Maryanska-Nadachowska, 1988].

По литературным данным, исследовано токсическое действие карбарила на

экскреторную физиологию головастиков тигровой лягушки *Rana tigrina* [Sampath, Kennedy, James, 2002]. Установлено, что под действием карбарила резко возрастает гибель личинок тигровой лягушки *Rana tigrina* при метаморфозе [Acute and chronic ... , 1983].

При помещении в суспензию карбатокса (0,1 % концентрации) головастиков травяной лягушки *Rana temporaria* сначала наблюдалась повышенная плавательная активность с последующей иммобилизацией. Затем через 10—24 ч наступала смерть. Воздействие более низких концентраций карбатокса (0,01—0,001 %) в течение 10 дней вызывало повышенную смертность головастиков [Rzehak, Maryanska-Nadachowska, Jordan, 1977].

Совместное воздействие карбарила и нитрата аммония проявлялось в торможении метаморфоза и снижении выживаемости головастиков крикливой лягушки *Rana clamitans*. На основании этих фактов обсуждена необходимость учёта комплексного воздействия ксенобиотиков на развитие амфибий в водных экосистемах [Multiple sublethal ... , 2005].

Карбарил отрицательно влияет на все показатели (размеры, скорость роста, количество жировых запасов, время личиночного развития, долю выживших и долю метаморфизировавшихся) личинок желтопятнистой амбистомы *Ambystoma maculatum* и снижает выживаемость и долю метаморфизирующих особей у мраморной амбистомы *Ambystoma opacum*. В природных водоёмах негативное воздействие карбарила определяется также и тем, что он уничтожает до 97 % кормовой базы [Metts, Hopkins, Nestor, 2005].

На питание и выживаемость американской жабы *Bufo americanus* после метаморфоза не оказывало влияние воздействие карбарила, но воздействие коротко действующих инсектицидов более выражено для водных стадий развития земноводных [Webber, Boone, Distel, 2010]. При различной плотности головастиков леопардовой лягушки *Rana pipiens* и американской жабы *Bufo americanus* карбарил воздействует по-разному [Distel, Boone, 2011].

Относительно влияния карбарила на развитие изменчивой квакши *Hyla versicolor* существуют различные мнения. Так, по данным S. Saura-Mas, M. D. Boone,

Ch. M. Bridges [2002], не найдено прямого влияния карбарила на яйца и головастиков изменчивой квакши (состояние особей при метаморфозе, продолжительность метаморфоза и выживаемость до метаморфоза). В более поздней работе тех же авторов отмечено, что содержание головастиков изменчивой квакши в присутствии карбарила увеличивало их выживаемость до наступления стадии метаморфоза и повышало его эффективность на 27 % [Boone, Bridges-Dritton, 2006]. Другими исследователями обнаружено, что карбарил в лабораторных условиях вызывает гибель 10—60 % головастиков изменчивой квакши. Если при этом присутствуют химические признаки хищника (личинки желтопятнистой амбистомы), летальность возрастает в 2—4 раза, достигая 60—98 %. Таким образом, в реальных условиях применение карбарила потенциально может приводить к гибели популяций квакши [Ralyea, Mills, 2001].

Следовательно, карбаминовые препараты отрицательно воздействуют на личинок многих бесхвостых и хвостатых земноводных.

По нашим данным (рисунок 13), динамика смертности головастиков озёрной лягушки в контроле и упомянутых выше концентрациях инсектицидов следующая. 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 головастиков имеют S-образную форму в растворах самой низкой из исследованных концентраций карбарила — 0,0005 мг/л (1 ПДК) и феноксикарба — 0,005 мг/л (1 ПДК), При этом кривые гибели в растворах обоих инсектицидов равной концентрации (1 ПДК), очень похожи, единственное различие состоит в том, что в растворе карбарила метаморфоз заканчивается раньше на 7 дней, чем в растворе феноксикарба. Сходство указанных выше кривых подтверждается высоким коэффициентом их корреляции, $r = 0,98$, $p = 0,000002$.

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 (до метаморфоза) вновь скачкообразно увеличивается число погибших (до 75—85 %).

% погибших
головастиков

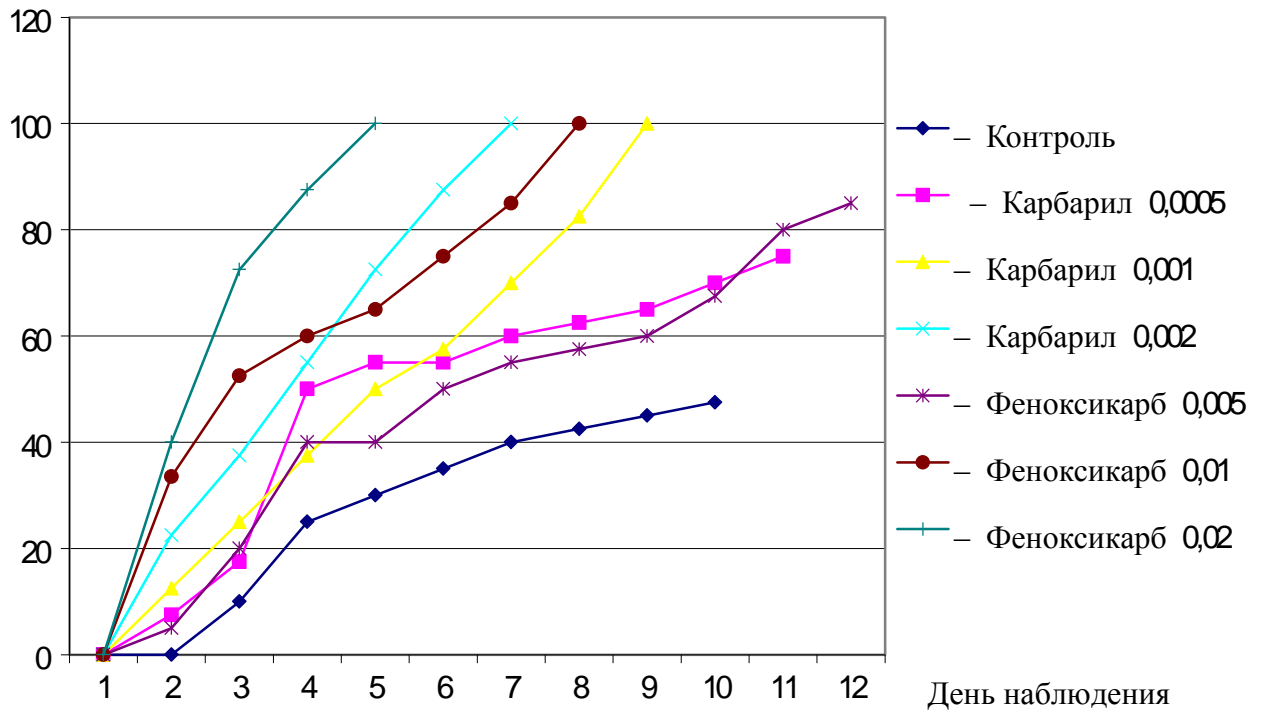


Рисунок 13 — Кривые смертности головастиков озёрной лягушки (% погибших) в контроле и растворах карбаминовых инсектицидов различных использованных концентраций

Во время эксперимента на рыбе чёрный толстоголов *Pimephales promelas* было установлено, что при концентрациях карбарила от 0,017 до 0,21 мг/л выживаемость, прирост и воспроизводство потомства были как в контроле; коэффициент безопасности карбарила лежит в пределах 0,023—0,075 мг/л [Carlson, 1972].

Таким образом, сравнение наших и литературных данных показало, что озёрная лягушка на ранних стадиях своего развития более чувствительная к действию карбарила, чем описанный вид рыбы.

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.

Известно, что для каждого токсиканта существует собственная пороговая

концентрация, превышение которой вызывает изменение характера динамики гибели личинок того или иного вида амфибий [Пескова, 2001, 2003]. В растворе самой высокой из исследованных концентраций карбарила (0,002 мг/л — 4 ПДК) гибель головастика 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 головастика в растворе феноксикарба концентрации 0,02 мг/л — 4 ПДК, все головастики погибают на 28-й день. Таким образом, мы можем отметить в целом сходную картину гибели головастика озёрной лягушки в концентрациях обоих карбаминовых инсектицидов, равных 4 ПДК. Коэффициент корреляции динамики гибели головастика в этих самых высоких концентрациях инсектицидов составляет $r = 0,98$, $p = 0,000002$.

Из литературы известен похожий характер динамики смертности головастика в растворах пиретроидных пестицидов каратэ и дециса низких концентраций. Однако кривая гибели головастика при действии пиретроидных пестицидов очень резко поднимается вверх сразу же после посадки личинок, в течение суток гибнет больше половины животных, а затем за 2—4 дня — остальные. После суточного пребывания в растворах и последующей пересадки в чистую воду за 11 дней смертность головастика резко возрастает до 84—90 %, после чего в течение 3—7 дней гибнут все остальные головастики. В растворе пестицида цимбуш концентрации 0,000001 мг/л гибель всех головастика озёрной лягушки происходит в течение часа [Пескова, 2001]. Возможно, это связано с быстрым проникновением в организм и кумуляцией пестицидов. Следовательно, пиретроидные пестициды существенно токсичнее карбаминовых пестицидов для головастика озёрной лягушки.

В таблице 13 приведены вычисленные уравнения регрессии, описывающие кривые гибели головастика в различных концентрациях карбаминовых инсектицидов. Из неё видно, что уравнения регрессии, описывающие смертность головастика во всех концентрациях двух исследованных пестицидов, составляют единую группу, они характеризуются гиперболическими кривыми. Кривая гибели головастика в контроле иная, чем в исследованных концентрациях инсектицидов; судя по уравнению, она является параболической.

Таблица 13 — Уравнения регрессии кривых смертности головастиков озёрной лягушки в контроле и эксперименте

Концентрация инсектицида, <i>мг/л</i>		Уравнение регрессии	Уровень доверительной вероятности, P
Контроль	0	$y = -15,37 + 11,31x - 0,50 x^2$	0,01
Карбарил	0,0005	$y = 83,73 - 161,26 / x$	0,00002
	0,001	$y = 100,40 - 201,31 / x$	0,01
	0,002	$y = 118,28 - 210,10 / x$	0,004
Феноксикарб	0,005	$y = 76,43 - 151,83 / x$	0,00001
	0,01	$y = 109,75 - 179,46 / x$	0,0006
	0,02	$y = 138,13 - 196,79 / x$	0,0002

Дни наступления основных стадий развития у головастиков озёрной лягушки в контроле и растворах карбаминовых пестицидов исследованных концентраций показаны в таблице 14.

Таблица 14 — Дни достижения основных стадий развития личинками озёрной лягушки в контроле и растворах карбаминовых инсектицидов (числитель — пределы, знаменатель — среднее)

Концентрация инсектицида, <i>мг/л</i>		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

47-я стадия развития — хорошо развитые задние конечности [Дабагян, Слепцова, 1975] — была зафиксирована у головастиков из контроля на 20 день развития, а в растворах исследованных пестицидов позднее. При этом сроки наступления указанной стадии зависят от концентрации пестицида: в самой низкой концентрации обоих пестицидов (1 ПДК) головастики с хорошо развитыми задними конечностями отмечены впервые на 30 день и наблюдаются до 43—49 дней; в более высокой концентрации инсектицидов 47 стадия обнаружена, начиная с 33 дня.

В растворах концентраций, равных 4 ПДК, головастики на 47 стадии развития появляются на 30 день (феноксикарб) и 33 день (карбарил). В среднем достижение 47 стадии развития головастиками озёрной лягушки в растворах карбарила разной концентрации опаздывало на 8,5—12,5 дней по сравнению с контролем, а в растворах феноксикарба на 10—11,5 дней. В растворе феноксикарба, равной 4 ПДК, все головастики погибают на 47 стадии на 30 день наблюдения.

51-я стадия — хорошо развитые передние конечности — у контрольных особей наступает достаточно дружно (36—43 дни), а в растворах карбарила концентраций 1 и 2 ПДК, во-первых, указанная стадия наблюдается существенно позднее (в среднем, на 10—11,5 дней), чем в контроле, а во-вторых, растянута: особи на этой стадии встречаются в течение 12—13 дней (в контроле только в течение семи дней). В растворе карбарила концентрации 4 ПДК все головастики погибают на этой стадии на 43 день наблюдения. В растворе феноксикарба наименьшей из использованных концентраций (1 ПДК) наступление 51 стадии развития запаздывает в среднем на 17 дней по сравнению с контрольными животными, а в растворе более высокой концентрации феноксикарба (2 ПДК) наблюдается гибель всех головастиков.

Метаморфоз головастиков озёрной лягушки (54-я стадия развития) в контроле происходит на 64 день, а в минимальных концентрациях обоих пестицидов задерживается — на пять дней (в растворе карбарила) и на 12 дней (в растворе феноксикарба).

Из литературы известно, что, если концентрация токсиканта является суб-

летальной, для многих видов амфибий, как правило, удлиняется личиночное развитие: у озёрной лягушки в растворах большинства тяжёлых металлов; у зелёной жабы в растворах нефти, растворах сульфатов меди и железа, а также их смесей; у остромордой лягушки в растворах нефти и фенола [Пескова, 2001].

Размеры головастика, взятых нами в контроль и опыт, составляли от 13,0 до 15,0 мм, в среднем $14,1 \pm 0,34$ 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 контроля и вариантов опыта с концентрациями карбаминовых пестицидов, равными 1 ПДК, в которых животные завершили метаморфоз.

По литературным данным [Кузьмин, 1999], размеры метаморфизирующих особей озёрной лягушки в разных частях ареала колеблются от 12,0 до 50,0 мм.

По нашим данным, средняя длина тела животных при метаморфозе в контроле составила $33,6 \pm 2,07$ мм, а в растворах карбаминовых пестицидов (2 ПДК) — $29,5 \pm 1,93$ мм (карбарил; $t = 0,45$ при $t_{\text{ст}} = 2,10$) и $30,1 \pm 1,77$ мм (феноксикарб; $t = 1,28$ при $t_{\text{ст}} = 2,10$), то есть различия длины сравниваемых животных находятся в пределах статистической ошибки. В более высоких концентрациях исследованных пестицидов головастики погибли до наступления метаморфоза.

Таким образом, по нашим данным, проявляется лишь тенденция к уменьшению размеров тела метаморфизирующих озёрных лягушек при экспозиции в растворах относительно низкой концентрации карбаминовых пестицидов. В то же время нам известны литературные данные о том, что воздействие карбарила приводит к уменьшению размеров тела метаморфизировавших североамериканских бесхвостых земноводных, однако весной эти различия оказались менее выражены [Boone, 2005].

По литературным данным, влияние токсикантов разной природы на линейно-весовые показатели метаморфизирующих амфибий бывает различным. Чаще всего, в тех случаях, когда полной гибели личинок не происходит, большинство токсикантов (пестициды ХОС, ФОС и другой природы, сульфаты меди, цинка,

железа, нитрат свинца) приводят к снижению длины и массы метаморфизирующих амфибий. Гербициды не вызывают снижения длины и массы тела земноводных, а некоторые даже способствуют их росту [Пескова, 2001в]. Фосфорорганические пестициды (рогор, фостак), широко применяемые в садоводстве, приводят к снижению массы головастиков остромордой лягушки *Rana arvalis* NLLS. по сравнению с массой животных, развивающихся в нормальных условиях [Скрылева, Коннова, 1989].

Тератогенный эффект исследованных нами карбаминовых пестицидов относительно невелик. Количество аномалий при развитии головастиков озёрной лягушки в нашем исследовании было следующее: искривления позвоночника у трёх и двух особей в растворах пестицидов концентрации 1 ПДК (7,5 % в растворе карбарила и 5 % в растворе феноксикарба); в растворах более высоких концентраций мы отметили также по две особи с искривлениями позвоночника и, кроме того, наблюдали повышенную плавательную активность, вслед за которой плавание прекращалось, и животные, как правило, погибали. Тот факт, что в более высоких концентрациях исследованных инсектицидов число визуально фиксируемых уродств животных не было увеличено по сравнению с животными, экспонированными в низкой концентрации пестицидов, мы связываем с относительно быстрой гибелью головастиков, когда аномалии не успевали проявиться.

Из литературы известно, что под влиянием карбарила у дальневосточной жерлянки *Bombina orientalis* отмечены уродства, вызванные нарушением развития осевого скелета [Kang, Park, Gye, 2010].

Обычно тератогенный эффект различных токсикантов на головастиков земноводных проявляется в скелетных деформациях, в нарушении развития органов, в полимелии и развитии гигантских особей [Пескова, 2001в]. В последние годы отмечено постоянное повышение доли особей с уродствами конечностей и глаз у североамериканских видов бесхвостых земноводных; наиболее вероятными загрязнителями считаются широко применяемые пестициды [Helgen, Germes, Норре, 1997]. У амфибий наиболее заметные скелетные деформации, индуцированные пестицидами, — нарушение формирования осевого скелета и конечно-

стей, например, у пиренейской лягушки *Rana perezi* [Alvarez, 1995]. У головастиков травяной лягушки отмечены уродства, искривления хвостов, дегенеративные изменения пищеварительного канала и мозга при действии карбаминовых препаратов [Rzehak, Maryanska-Nadachowska, Jordan, 1977; Jordan, Maryanska-Nadachowska, 1988], гезагарда и миедзиана [Jordan, Rzehak, Maryanska, 1977].

У головастиков травяной и шпорцевой *Xenopus laevis* лягушек под действием карбамата наблюдали эффект повреждения центральной нервной системы — неподвижность, судороги [Jordan, Maryanska-Nadachowska, 1988]. Карбаминовые препараты, в частности гербициды ялан и эптам, инсектицид севин проявляют на земноводных и антихолинэстеразное действие [Перевозченко, 1975; Alvarez, 1995].

Следовательно, влияние карбаминовых пестицидов (карбарила и феноксикарба) на личиночное развитие озёрной лягушки проявляется в повышенной смертности головастиков. Концентрации, равные 1 ПДК обоих исследованных инсектицидов, являются сублетальными для головастиков озёрной лягушки. Более высокие концентрации карбарила и феноксикарба (2 и 4 ПДК) являются летальными для изучаемого вида земноводных на ранних стадиях онтогенеза. Кроме того, в растворах сублетальных доз пестицидов задерживается развитие головастиков, метаморфоз происходит на пять дней (карбарил) и 12 дней (феноксикарб) позднее, чем у контрольных животных. На размеры метаморфизирующих животных экспозиция в растворах карбаминовых пестицидов не влияет. Тератогенный эффект исследованных нами карбаминовых пестицидов относительно невелик.

Глава 6. ДИНАМИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАРБАРИЛА И ФЕНОКСИКАРБА

Работы о влиянии карбаминовых препаратов на физиологическое состояние взрослых земноводных, в частности, на кровь, в доступной нам литературе отсутствуют. Между тем, изучение морфологии крови является важным звеном токсикологических исследований, так как гематологические показатели реагируют даже на кратковременное воздействие поллютантов. Изменения в крови, как в наиболее реактивной системе, помогают выявить начало токсикоза. Так, например, клинические признаки отравления у рыб наблюдаются только в третий (наиболее тяжёлый) период токсикоза, тогда как гематологические сдвиги (деградация форменных элементов крови и функциональное расстройство кроветворных органов) появляются значительно раньше [Житенева, Макаров, Рудницкая, 2004].

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

Содержание подопытных озёрных лягушек в растворах инсектицидов карбарила (концентраций 0,0005—0,005 мг/л) и феноксикарба (концентраций 0,005—0,005 мг/л) в течение пяти суток не оказывало летального воздействия на животных.

Показатели красной крови озёрной лягушки в контроле и пятисуточных опытах с пестицидами приведены в таблицах (с карбарилом — в таблице 15, с феноксикарбом — в таблице 16).

Наименьшая из исследованных концентраций карбарила (0,0005 мг/л — 1 ПДК), видимо, 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).

Таблица 15 — Гематологические показатели озёрной лягушки в контроле и опытах (5 сут) при действии карбарила (лимиты, $x \pm m_x$, $C_v \pm m_{cv}$, %)

Концентрация карбарила, мг/л	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, 10^{10} л	Критерий Стьюдента при сравнении с контролем*
Контроль, 0	61,0—79,0	39,0—56,0	—
	$71,1 \pm 2,22$	$48,5 \pm 2,78$	
	$9,4 \pm 2,10$	$17,2 \pm 3,85$	
0,0005 (1 ПДК)	67,0—86,0	40,0—61,0	$\frac{1,33}{1,95}$
	$76,0 \pm 2,93$	$56,5 \pm 3,01$	
	$11,6 \pm 2,59$	$16,0 \pm 3,58$	
0,001 (2 ПДК)	65,0—89,9	40,0—69,5	$\frac{2,19^{**}}{3,18^{**}}$
	$79,6 \pm 3,19$	$61,4 \pm 2,96$	
	$12,0 \pm 2,68$	$14,5 \pm 3,58$	
0,002 (4 ПДК)	50,5—104,8	45,5—79,0	$\frac{2,13^{**}}{2,99^{**}}$
	$86,7 \pm 6,97$	$68,4 \pm 6,05$	
	$24,1 \pm 5,39$	$26,5 \pm 5,92$	
0,005 (10 ПДК)	47,5—119,3	49,5—93,0	$\frac{2,48^{**}}{3,78^{**}}$
	$94,5 \pm 9,18$	$77,8 \pm 7,15$	
	$29,1 \pm 6,51$	$27,6 \pm 6,17$	

Примечание — одна звёздочка (*) — числитель при сравнении количества гемоглобина, знаменатель — эритроцитов; две звёздочки (**) — различия достоверны при сравнении с контролем на 5%-ном уровне значимости

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.

Таблица 16 — Гематологические показатели озёрной лягушки в контроле и опытах (5 сут) при действии феноксикарба (лимиты, $x \pm m_x$, $C_v \pm m_{cv}$, %))

Концентрация феноксикарба, мг/л	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, 10^{10} л	Критерий Стьюдента при сравнении с контролем*
Контроль, 0	61,0—79,0	39,0—56,0	—
	$71,1 \pm 2,22$	$48,5 \pm 2,78$	
	$9,4 \pm 2,10$	$17,2 \pm 3,85$	
0,005 (1 ПДК)	67,0—81,0	38,5—75,0	$\frac{2,54^*}{3,02^*}$
	$78,6 \pm 1,95$	$61,7 \pm 3,38$	
	$7,4 \pm 1,65$	$16,4 \pm 3,67$	
0,01 (2 ПДК)	70,0—84,0	41,5—82,0	$\frac{3,23^*}{5,02^*}$
	$81,5 \pm 2,33$	$69,2 \pm 3,05$	
	$12,5 \pm 2,79$	$13,2 \pm 2,95$	
0,02 (4 ПДК)	70,0—91,5	40,5—89,5	$\frac{2,00}{4,19^*}$
	$80,9 \pm 4,38$	$62,2 \pm 4,93$	
	$16,2 \pm 3,62$	$23,8 \pm 5,32$	
0,05 (10 ПДК)	55,5—82,0	38,0—85,5	$\frac{0,76}{0,73}$
	$67,7 \pm 3,89$	$53,4 \pm 6,11$	
	$17,2 \pm 3,85$	$34,3 \pm 7,67$	
Примечание — одна звёздочка (*) — числитель при сравнении количества гемоглобина, знаменатель — эритроцитов; две звёздочки (**) — различия достоверны при сравнении с контролем на 5%-ном уровне значимости			

Кроме того, при экспозиции в растворах более высокой концентрации возрастает коэффициент вариации обоих гематологических показателей озёрной ля-

гушки (для количества гемоглобина статистически достоверно в 2,6 и 3,1 раза по сравнению с контролем, $t = 2,54$ и $2,88$, а для количества эритроцитов отмечена аналогичная тенденция, $t = 1,29$ и $1,28$ при $t_{ct} = 2,10$). Это говорит о высокой индивидуальной изменчивости реакции показателей крови озёрной лягушки при высоком уровне токсикоза.

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.

Судя по литературе, низкие концентрации пиретроидных пестицидов дециса и каратэ при воздействии на амфибий в течение 1—10 сут, увеличивают оба показателя красной крови (количество гемоглобина и эритроцитов) или один из них [Жукова, Пескова, 1999; Пескова, 2001]. Аналогичное действие оказывают ФОС пестициды карбофос и фозалон на красную кровь (по крайней мере, на число эритроцитов) озёрной лягушки [Жукова, Шебалина, 1994]. Пестициды сириус и фудзиван в хроническом опыте вызывают увеличение количества гемоглобина, но разнонаправленно влияют на количество эритроцитов [Жукова, 1993]. В то же время ХОС пестицид трихлорфон (хлорофос) достоверно снижает количество эритроцитов и уровень гемоглобина в крови травяной лягушки *Rana temporaria* [Gromysz-Kalkowska, Szubartowska, 1986].

Таким образом, изменение показателей крови земноводных в кратковременном опыте зависит от природы пестицида. Возрастание показателей красной крови под действием карбаминных 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.

Мы наблюдали патологические изменения эритроцитов крови лягушки при действии обоих исследованных инсектицидов. У лягушек после экспозиции во всех концентрациях был отмечен пойкилоцитоз (изменение формы эритроцитов) у 5 % особей — рисунок 14, а также агглютинация эритроцитов с образованием так называемых «монетных столбиков» у 28 % особей — рисунок 15.

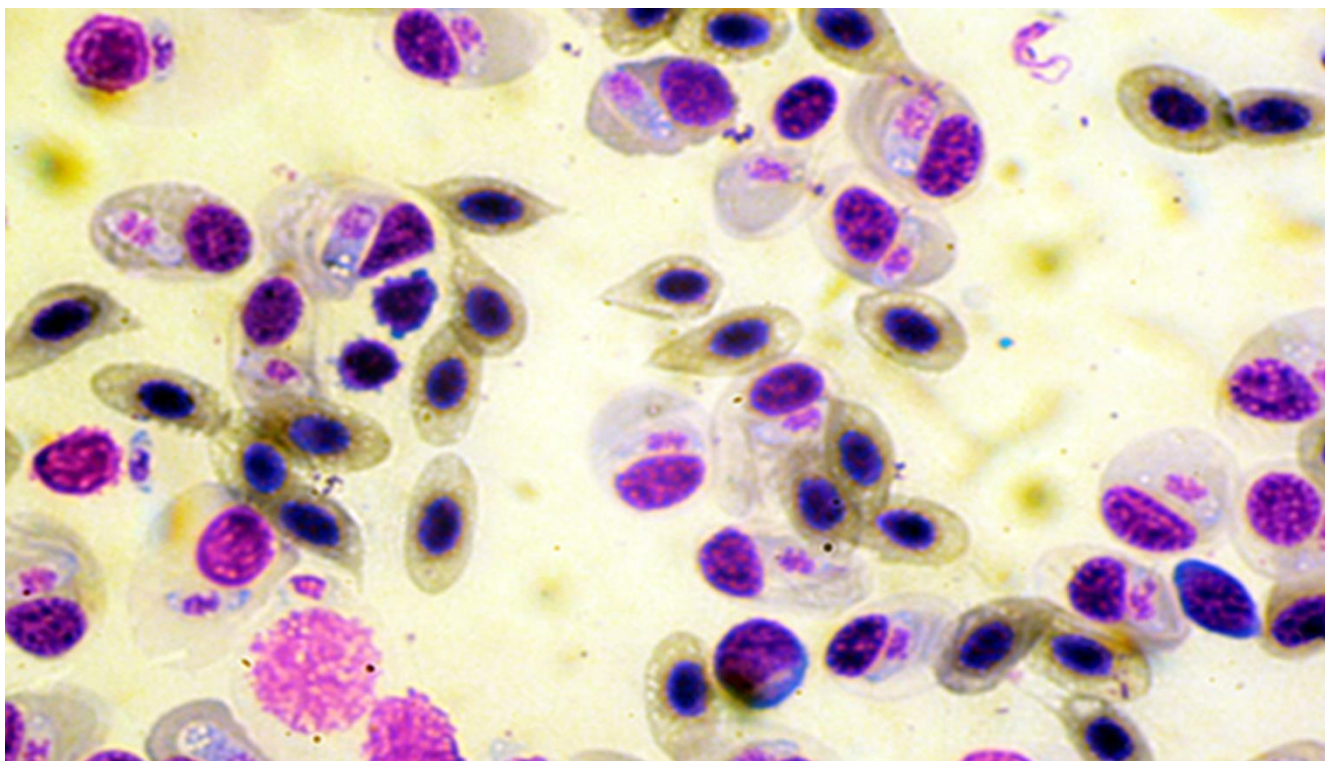


Рисунок 14 — Пойкилоцитоз эритроцитов озёрной лягушки

После экспозиции лягушек в максимальной концентрации феноксикарба нами отмечена вакуолизацию цитоплазмы у 35 % особей — рисунок 16.

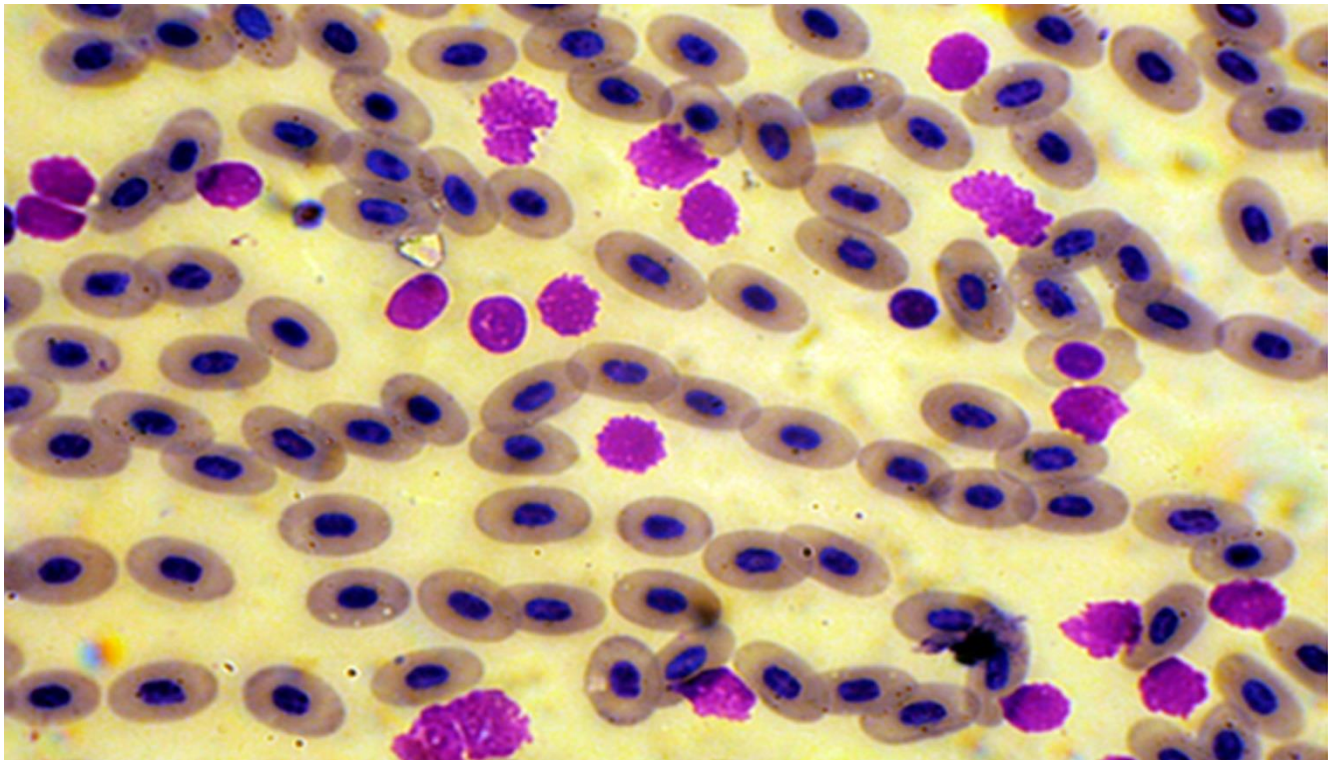


Рисунок 15 — Агглютинация эритроцитов озёрной лягушки с образованием «молочных столбиков»

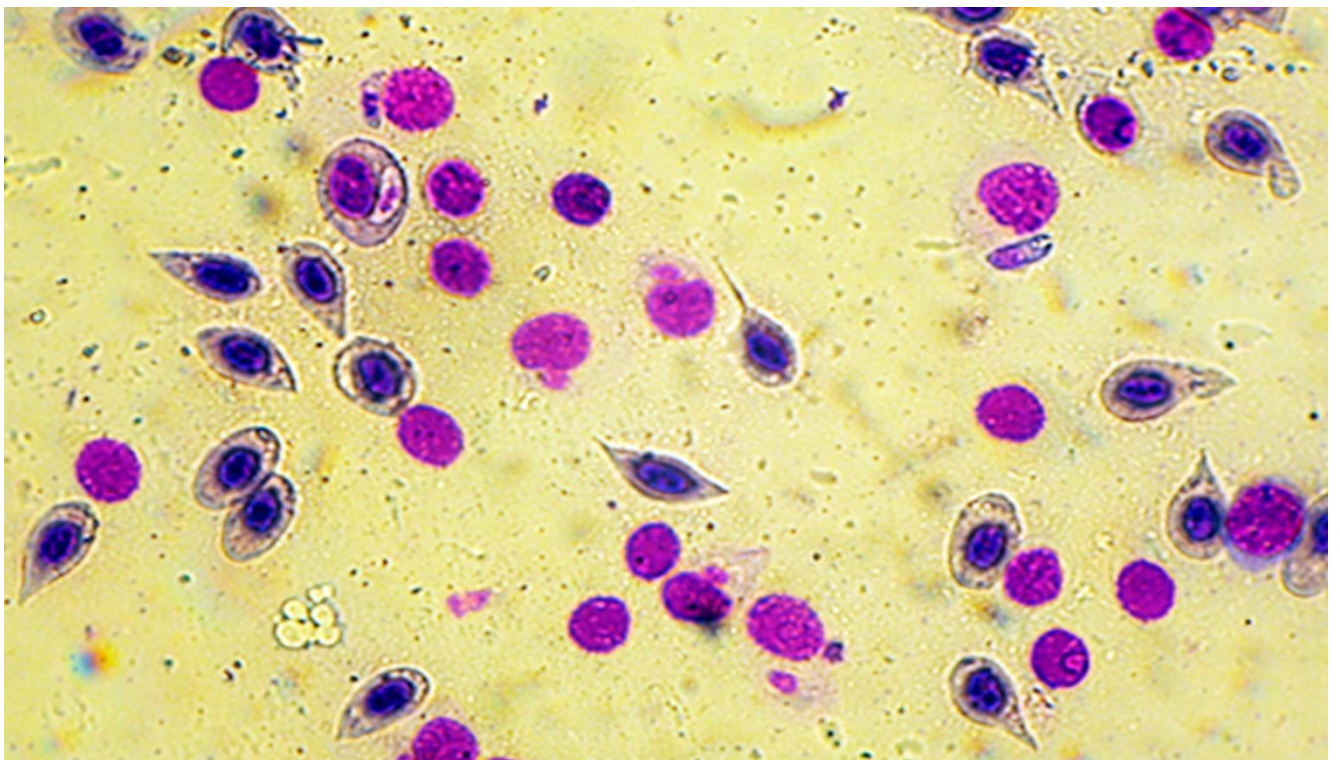


Рисунок 16 — Вакуолизация эритроцитов озёрной лягушки

Несмотря на наличие на препаратах эритроцитов с изменённой формой (пойкилоцитоз), мы не видели мелких эритроцитов (анизоцитоз) округлой формы, отмеченных ранее К. Gromysz-Kalkowska, E. Szubartowska [1986] и Т. Ю. Песковой [2001] у травяной и озёрной лягушек. Авторы полагают, что эти эритроциты могут быть аналогами сфероцитов, встречающихся у млекопитающих при гемолизе; возрастание числа таких эритроцитов авторы рассматривают как защитную реакцию организма на токсическое действие пестицидов трихлорфона и дециса.

Известно, что у рыб в условиях гипоксии (например, связанной с токсикозами при негативных антропогенных воздействиях) в кровяном русле появляются безъядерные эритроциты. Это результат учащения amitotического деления, протекающего с образованием микроцитов и безъядерных фрагментов цитоплазмы (щистоцитов) [Житенева, Макаров, Рудницкая, 2004]. По нашим данным, сходные изменения эритроцитов отмечены и нами в крови озёрной лягушки при действии карбаминовых пестицидов.

Таким образом, при действии относительно низких концентраций карбаминовых препаратов (в пределах 1—4 ПДК) в крови озёрной лягушки дозозависимо возрастает количество эритроцитов и гемоглобина. Феноксикарб более токсичен для амфибий по сравнению с карбарилом, во-первых, потому, что кровь лягушек реагирует даже на самую низкую его концентрацию (в пределах 1 ПДК); а во-вторых, высокая концентрация этого пестицида (10 ПДК) вызывает развитие анемии, в то время как в растворе карбарила концентрации в 10 ПДК ещё продолжается компенсаторное (адаптивное) увеличение показателей красной крови.

В исследовании по земноводным из водоёмов Северного Кавказа было показано, что и число эритроцитов, и количество гемоглобина достоверно выше в крови озёрных лягушек, постоянно обитающих в загрязнённом пестицидами водоёме, чем у животных из более чистого водоёма. В условиях загрязнения отмечена активация кроветворения в костном мозге, что проявилось в увеличении относительного числа ретикулоцитов [Жукова, Фиц, 1996; Пескова, 2000а].

Общее число лейкоцитов в крови контрольных и подопытных озёрных лягушек приведено в таблице 17.

Таблица 17 — Количество лейкоцитов ($10^9/л$) в крови озёрной лягушки в контроле и опытах с карбаминовыми инсектицидами

Вариант	Карбарил	Феноксикарб	Критерий Стьюдента при сравнении с контролем*	Критерий Стьюдента при сравнении действия карбарила и феноксикарба
Контроль	9,0—15,0	9,0—15,0	—	—
	$12,1 \pm 1,60$	$12,1 \pm 1,60$		
	$39,7 \pm 8,88$	$39,7 \pm 8,88$		
1 ПДК	10,5—17,5	11,0—18,8	$\frac{1,27}{1,53}$	0,27
	$15,4 \pm 2,05$	$16,2 \pm 2,15$		
	$39,9 \pm 8,92$	$39,8 \pm 8,90$		
2 ПДК	11,5—23,5	14,0—26,5	$\frac{2,66^{**}}{3,35^{**}}$	0,64
	$19,7 \pm 2,37$	$21,9 \pm 2,45$		
	$36,1 \pm 8,07$	$33,6 \pm 7,51$		
4 ПДК	15,5—29,0	19,0—36,0	$\frac{3,86^{**}}{5,88^{**}}$	1,43
	$24,1 \pm 2,67$	$29,3 \pm 2,45$		
	$33,2 \pm 7,42$	$25,1 \pm 5,61$		
10 ПДК	19,0—31,0	26,0—48,0	$\frac{6,15^{**}}{6,86^{**}}$	2,23**
	$29,3 \pm 2,36$	$38,8 \pm 3,55$		
	$24,2 \pm 5,41$	$27,4 \pm 6,13$		
Примечание — одна звёздочка (*) — числитель при сравнении количества лейкоцитов в растворе карбарила, знаменатель — в растворе феноксикарба; две звёздочки (***) — различия достоверны на 5%-ном уровне значимости				

В самой слабой из исследованных концентраций карбаминовых инсектицидов, равной величинам ПДК, изменения числа лейкоцитов в крови озёрной лягушки не происходит, различия значений у подопытных и контрольных лягушек находятся в пределах статистической ошибки. В растворе с вдвое большей кон-

центрацией инсектицидов у амфибий наблюдается лейкоцитоз — число лейкоцитов в 1,6 и 1,8 раза превышает контрольные значения (для карбарила и феноксикарба соответственно); при концентрациях, соответствующих 4 ПДК, превышение числа лейкоцитов ещё большее — в 2 и 2,4 раза. При концентрации пестицидов, равной 10 ПДК, возрастает количество лейкоцитов в растворе карбарила в 2,4 раза, а в растворе феноксикарба в 3,2 раза (различия величины лейкоцитоза в растворах двух исследованных инсектицидов статистически достоверны). Таким образом, начиная с концентрации карбаминовых инсектицидов, равной 2 ПДК, в крови озёрной лягушки имеет место лейкоцитоз, возрастающий по градиенту концентрации инсектицида.

Варьирование показателей числа лейкоцитов одинаковое у подопытных лягушек по сравнению с контрольными, о чём свидетельствуют величины коэффициентов вариации этого показателя.

По литературным данным, у озёрных лягушек в растворах пестицидов сирюса и фудзивана наблюдается явный лейкоцитоз как в остром, так и в хроническом опыте (контрольные значения числа лейкоцитов превышены в 2,4—2,5 раза) [Жукова, 1993]. В литературе описана специфичность действия двух фосфорорганических инсектицидов карбофоса и фозалона на изменение количества лейкоцитов озёрной лягушки. Так, кратковременное (в течение суток) пребывание в растворе фозалона высокой концентрации не вызывает статистически достоверного лейкоцитоза. Однако более длительное пребывание лягушек (5 и 10 сут) в растворах фозалона меньшей концентрации (хронический опыт) приводит к увеличению числа лейкоцитов в 1,2—1,4 раза. Карбофос действует иначе: высокая концентрация его вызывает увеличение числа лейкоцитов в 1,6 раза после суточной экспозиции, а более низкая концентрация, даже при длительной экспозиции, как правило, не сказывается на количестве лейкоцитов [Жукова, Шебалина, 1994]. Нам известны исследования влияния разных концентраций инсектицида карбофоса на картину белой крови карпа. При концентрации пестицида 1 мг/л у рыб отмечено увеличение общего числа лейкоцитов, тогда как при концентрации 10 мг/л этот показатель снижается [Микряков, Лапирова, 1997]. В растворах пиретроид-

ного пестицида дециса высокой концентрации у озёрной лягушки возрастает количество лейкоцитов в 1,6—2,0 раза [Жукова, Пескова, 1999].

В водоёмах Северного Кавказа, загрязнённых хлорорганическими пестицидами, летом число лейкоцитов в крови озёрной лягушки превосходит соответствующий показатель животных из чистых водоёмов в 2 раза [Peskova, Zhukova, 2005].

Лейкоцитарная формула крови озёрной лягушки в растворах исследованных инсектицидов (карбарил и феноксикарб) приведена в таблице 18. Для сравнения даны показатели относительного числа разных видов лейкоцитов в крови озёрной лягушки в наиболее слабых исследованных концентрациях инсектицидов, равных 1 ПДК (0,0005 мг/л — карбарил и 0,005 мг/л — феноксикарб) и в наиболее концентрированных растворах пестицидов, концентрация равна 10 ПДК (0,005 мг/л — карбарил и 0,05 мг/л — феноксикарб).

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.

Таблица 18 — Лейкоцитарная формула крови озёрной лягушки в контроле и растворах инсектицидов (лимфиты, $X \pm m$, Sv %)

Вариант (концентрация инсектицида), <i>мг/л</i>	Эозинофилы	Базофилы	Нейтрофилы		Лимфоциты	Моноциты
			палочкоядер- ные	сегментоя- дерные		
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						

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).

В литературе описаны изменения показателей крови у рыб, аналогичные тем, какие мы наблюдали в крови озёрной лягушки после пребывания в растворах карбарила различных концентраций; их наблюдали у карпа после воздействия карбофоса разных концентраций: при концентрации 1 мг/л содержание нейтрофилов достоверно падает по сравнению с контролем, тогда как при 10 мг/л их число, наоборот, резко увеличивается [Микряков, Лапирова, 1997].

Известно, что значительный нейтрофильный лейкоцитоз (по крайней мере, при воспалительных процессах) является выражением полноценной защитной реакции организма. Нейтропения наблюдается при некоторых хронических и вирусных инфекциях, при химических и радиационных повреждениях [Тодоров, 1968]. В нашем эксперименте нейтрофилёз отмечен у озёрных лягушек в растворе феноксикарба и карбарила концентрации 0,005 мг/л. Это самая слабая из исследованных концентраций феноксикарба (1 ПДК), и самая высокая из исследованных нами концентраций карбарила (10 ПДК). Нейтропения имеет место у амфибий после пребывания в растворе феноксикарба высокой концентрации — 0,05 мг/л, и одновременно в растворе карбарила низкой концентрации — 0,0005 мг/л.

В целом можно увидеть тенденцию к агранулоцитозу крови озёрных лягушек в самой высокой концентрации феноксикарба (сумма лимфоцитов и моноцитов 74,5 — 113,4 % по сравнению с контролем) и в самой низкой концентрации карбарила (сумма лимфоцитов и моноцитов 70,8 — 107,7 % по сравнению с контролем) по сравнению с контролем (65,7 клеток агранулоцитов). По литературным данным, в токсических условиях обитания у зелёных лягушек было обнаружено снижение всех типов гранулоцитов: нейтрофильных до 72,9 %, эозинофильных до 46,4 %, базофильных до 38,9 % и повышением количества лимфоцитов до 107,7 % по сравнению с условным контролем, принятым за 100 % [Романова, 2005б].

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.

Правда, в наших опытах наблюдаемая 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.

Сравнение абсолютного числа нейтрофилов в крови контрольных лягушек и лягушек из раствора карбарила концентрации 0,0005 *мг/л* показывает, что различий по этому показателю нет (3,28 и 3,19 *тыс. клеток*). В то же время повышенная концентрация карбарила (0,005 *мг/л*) существенно меняет все показатели числа лейкоцитов у озёрной лягушки.

Значительный нейтрофилёз свидетельствует о защитной реакции организма на действие токсиканта [Пескова, Жукова, 1996].

Анализируя изменения не всей лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки под воздействием карбаминовых препаратов в целом, а динамику лейкоцитов определённого типа в растворах разной концентрации двух инсектицидов, получаем следующие данные.

Доля *эозинофилов* уменьшается в растворах максимальных концентраций обоих пестицидов. Количество *базофилов и моноцитов* не меняется в растворах всех исследованных концентраций пестицидов.

Количество *палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов* увеличивается в минимальных растворах феноксикарба и максимальных карбарила (в резуль-

тате — общий нейтрофилёз), однако, в максимальной концентрации феноксикарба и минимальной — карбарила количество сегментоядерных нейтрофилов снижается и, соответственно, проявляется тенденция к нейтропении.

Количество *лимфоцитов* снижается у лягушек после пребывания в растворах минимальной концентрации феноксикарба и максимальной концентрации карбарила, но повышается в максимальной концентрации феноксикарба.

В целом изменения белой крови озёрной лягушки под влиянием карбаминовых пестицидов можно отнести к первому типу изменений белой крови земноводных, описанных Т. Ю. Песковой [2001] — лейкоцитоз при общем нейтрофилёзе (как правило) и разноплановых изменениях числа лимфоцитов и эозинофилов.

Анализ изменений гематологических показателей отдельно в растворах каждого из исследованных пестицидов приведён ниже.

В растворе феноксикарба низкой концентрации из клеток *гранулоцитарного ряда* количество *эозинофилов* в лейкоцитарной формуле крови озёрной лягушки не меняется, а в растворе высокой — снижается. Количество *базофилов* не меняется у подопытных земноводных в обеих концентрациях по сравнению с контролем. Из *нейтрофилов* в низкой концентрации феноксикарба увеличивается в крови обилие как палочкоядерных, так и сегментоядерных (то есть имеет место общий нейтрофилёз), а в высокой концентрации наблюдается нейтропения за счёт снижения числа сегментоядерных нейтрофилов при неизменном числе палочкоядерных. Из клеток *агранулоцитарного ряда* в лейкоцитарной формуле крови подопытных лягушек не меняется количество *моноцитов* по сравнению с контрольными особями; количество *лимфоцитов* в низкой концентрации феноксикарба снижается, а в высокой — увеличивается.

В растворе карбарила в низкой концентрации в крови озёрной лягушки из *гранулоцитов* количество *эозинофилов* не меняется, а в высокой снижается; количество же *базофилов* не меняется вообще по сравнению с контролем. Таким образом, динамика (или отсутствие таковой) этих клеток белой крови одинакова у амфибий в растворах обоих пестицидах.

Из *агранулоцитов* не меняется в растворе карбарила (как и в растворе фе-

ноксикарба) количество *моноцитов* у озёрной лягушки. Количество *лимфоцитов* в низкой концентрации карбарила не меняется по сравнению с контролем, а в высокой — уменьшается. Динамика числа *нейтрофилов* совершенно иная, чем у лягушек из растворов феноксикарба, а именно: в низкой концентрации наблюдается нейтропения (за счёт уменьшения доли сегментоядерных при неизменном количестве палочкоядерных по сравнению с контролем), а в высокой концентрации отмечен нейтрофилёз — как общий, так и для каждой из групп нейтрофилов.

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]).

Эозинофилы — клетки экстремального реагирования. В процессе проявления аллергии (базовой защитной реакции) на первых её стадиях идёт наращивание числа этих гранулоцитов. При хронических стрессах и тяжёлых случаях токсикозов у рыб и высших 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.

В литературе отмечено, что уменьшается число эозинофилов под действием зомана [Конешова, Шляхтин, Конешов, 2001], под влиянием пестицидов сириуса и фудзивана [Жукова, 1993], а также при обитании земноводных в загрязнённых городских озёрах [Романова, 2005б]. В условиях радиационного загрязнения обнаружено повышение относительного содержания эозинофилов (вплоть до гиперэозинофилии — до 20—30 %) и появление в ряде случаев малодифференцированных форм, что авторы рассматривают как признаки своеобразной защитной (антитоксической и антимикробной) реакции организма [Исаева, Вязов, 1996].

Базофилы — реже всего встречающаяся популяция гранулоцитов в периферической крови и кроветворных органах. Функции базофилов: захватывают частицы разрушенных эритроцитов, образуя при этом фагосому, могут влиять на процесс свёртывания крови.

Моноциты — активные фагоциты крови — поглощают не столько бактерии, сколько продукты распада клеток и тканей. Увеличение количества этих клеток в крови свидетельствует о повышении защитных сил организма. Вырабатывая антитела, моноциты принимают участие не только в регуляции иммуногенеза, но и в регуляции гранулопоэза. Они содержат специальные ферменты для дезинтоксикации некоторых веществ (то есть могут инактивировать токсины) [Житенева, Макаров, Рудницкая, 2004].

По нашим данным, под действием исследованных карбаминовых пестицидов у озёрной лягушки доли этих клеток белой крови не меняются.

Сходная картина имеет место и при воздействии некоторых других токсикантов. Так, по литературным данным, в растворах бензина АИ-95 на фоне общего лейкоцитоза в крови озёрной лягушки единичны базофилы и эозинофилы, доли моноцитов одинаковы при разных концентрациях токсиканта [Пескова, Вафис. 2007]. При экспозиции озёрной лягушки в растворах двух фосфорорганических инсектицида (фазалон и карбофос) в белой крови озёрной лягушки относительно

постоянно количество базофилов [Жукова, Шебалина, 1994]. У лягушек гибридного комплекса *Rana esculenta* в районе интенсивного радиационного загрязнения количество моноцитов без изменений [Исаева, Вязов, 1996]. Иногда отмечена моноцитопения у озёрных лягушек после экспозиции в сточных водах сахарного завода [Вафис, Пескова, 2009].

Лимфоцитам принадлежит существенная роль в реализации иммунологических реакций организма [Житенева, Макаров, Рудницкая, 2004].

По-видимому, лимфоцитоз озёрной лягушки в высокой концентрации феноксикарба является адаптивной реакцией, а лимфоцитопения в растворе высокой концентрации карбарила — показателем развивающейся патологии.

В литературе описаны разнонаправленные изменения числа лейкоцитов в крови земноводных в условиях загрязнения. Так, происходит рост количества лимфоцитов в крови озёрной лягушки под действием пестицидов рогора и дурсбана [Калашников, 1984], у озёрной лягушки и зелёной жабы под действием отравляющего вещества зомана [Конешова, Шляхтин, Конешов, 2001], а также у лягушек гибридного комплекса *Rana esculenta* в районе интенсивного радиационного загрязнения [Исаева, Вязов, 1996]. В то же время, по мере увеличения воздействующей токсодозы реакционных масс зомана определяется тенденция к снижению количества лимфоцитов [Конешова, Шляхтин, Конешов, 2001]. Кроме того, уменьшение числа лимфоцитов происходит под влиянием пестицидов сириуса и фудзивана [Жукова, 1993].

Нейтрофилы обладают максимально выраженной двигательной активностью. Основная функция нейтрофилов — защита организма от инфекции и от токсических воздействий. Они не способны вырабатывать антитела, но, адсорбируя их на своей оболочке, доставляют к очагам инфекции. Зрелыми нейтрофилами или продуктами их распада выделяются стимуляторы гранулопоэза.

Судя по данным лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки, повышение концентрации раствора феноксикарба приводит к нейтропении (число нейтрофилов уменьшается в 1,3 раза по сравнению с контролем), хотя имеет место увеличение доли более молодых форм — палочкоядерных нейтрофилов, что сви-

детельствует об интенсификации нейтрофилопоза (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 в том же масштабе (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). По литературным данным, в растворах пестицидов дециса и эфалья у озёрных лягушек нейтропения (доля нейтрофилов уменьшается в 1,3—2,1 раза) сопровождается сдвигом влево с 0,28 до 0,53 (децис) и с 0,16 до 0,63 (эфаль) [Пескова, 2001].

У сеголеток карпа иммунокомпетентные органы (печень, почки) реагируют на четырёхсуточное выдерживание в растворах карбофоса инволюцией лимфоидного ряда, но увеличением содержания нейтрофилов [Заботкина, 1993].

По литературным данным, у земноводных под действием различных токсиантов могут происходить разнонаправленные изменения количества нейтрофилов. Так, нейтрофилёз вызывают реакционные массы зомана и иприта [Конешова, Шляхтин, Конешов, 2001; Действие ... , 2001], сточные воды сахарного завода завода [Вафис, Пескова, 2009], а также действие нефти [Пескова, Шарпан, 2007]. Нейтропения отмечена при действии бензина АИ-95 [Пескова, Вафис. 2007], радиационного [Исаева, Вязов, 1996] и химического загрязнения [Чернышова, Старостин, 1994]. По мнению авторов, нейтропения обусловлена избирательным повреждением всего ряда дифференцировки нейтрофилов (особенно клеток-предшественников), что неизбежно приводит к «выпадению» всего ряда, хотя появление незрелых форм свидетельствует о компенсаторной стимуляции нейтрофильного ряда гранулоцитопоза. Конкретные клеточные механизмы нейтропении, однако, остаются неясными. Несомненное следствие нейтропении — ослабление защитных свойств организма, что косвенно подтверждается нахождением в периферической крови бактерий. Обнаружена нейтропения и у зелёных лягушек в антропогенно загрязнённых городских водоёмах [Романова, 2005а, 2005б; Романова Е. Б., Романова О. Ю., 2003].

Таким образом, сравнение полученных нами и литературных данных по лейкограмме озёрной лягушки показывает, что повышение защитных свойств крови земноводных при действии пестицидов и других загрязнителей может происходить разными путями.

Таким образом, в целом кровь озёрной лягушки реагирует на воздействие карбаминовых пестицидов следующим образом.

При экспозиции в растворах карбарила исследованных концентраций (1—10 ПДК) в красной крови происходит компенсаторное увеличение как числа эритроцитов, так и количества гемоглобина; в белой крови параллельно наблюдается общий лейкоцитоз (за исключением лягушек из самой низкой концентрации пестицида). Изменения лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки под воздействием феноксикарба сводятся к изменению доли нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов: в низкой концентрации нейтрофилёз и лимфоцитопения, в высокой концентрации — лимфоцитоз, эозинопения и нейтропения (снижение числа сегментоядерных нейтрофилов).

При экспозиции в растворах феноксикарба концентраций 1—4 ПДК компенсаторно увеличивается оба исследованных показателя красной крови, а в самой высокой концентрации (10 ПДК) наблюдается их снижение, что вероятнее всего, свидетельствует о тяжести токсического воздействия. Одновременно отмечен лейкоцитоз, более существенный, чем при воздействии карбарила. Изменения лейкоцитарной формулы крови озёрной лягушки под воздействием карбарила касаются нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов, как и в растворах феноксикарба, но направления этих изменений существенно другие, а именно: в низкой концентрации пестицида нейтропения за счёт уменьшения числа сегментоядерных нейтрофилов, а в растворе высокой концентрации — общий нейтрофилёз при эозинопении и лимфоцитопении.

В целом, мы констатируем, что одинаковые (в величинах ПДК) концентрации карбарила оказывают 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.

Мы использовали 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). Каждый из подходов имеет свои достоинства. При лабораторных исследованиях возможно так смоделировать условия опыта, чтобы варианты опыта различались только по изучаемому фактору. В течение всего опыта с головастиками мы поддерживали концентрацию пестицидов постоянной, возобновляя растворы каждые 10 дней. В результате отсутствует такой фактор, как имеющее место в природе постепенное уменьшение концентрации пестицида с течением времени вследствие его распада. В ходе гематологических исследований мы установили отсутствие смертности взрослых озёрных лягушек при действии пестицидов концентраций 1—10 ПДК в течение пяти дней.

В то же время в природных водоёмах влияние карбаминовых пестицидов, происходит 1) не изолированно, а в присутствии других факторов, не всегда поддающихся выравниванию в сравниваемых биотопах; 2) при изменении (снижении) установленной изначально концентрации токсиканта, в результате распада вещества, то есть в условиях снижения токсичности воды в водоёме. Например, концентрации пестицидов, равные 2 ПДК, в лабораторных условиях приводили к 100%-ной гибели головастиков озёрной лягушки, но в пруду при той же начальной концентрации карбаминовых пестицидов лягушки размножались, головастики выживали, так как очень скоро (через 6—16 сут) количество пестицидов в воде составляло уже 1 ПДК. А при этой величине они жили как в пруду, так и в

экспериментальных условиях. Н. М. Акуленко [2006] считает, что основной отбор на выживаемость у водных позвоночных происходит на стадиях раннего онтогенеза. Выжившие головастики, прошедшие метаморфоз, могут продолжать существовать в условиях хронического загрязнения среды токсикантами во взрослом состоянии.

В природных биотопах в результате несколько различного проявления адаптивных особенностей к условиям загрязнения земноводных разного пола, различных возрастных групп и генетически обусловленных морф складывается определённая половая, возрастная и фенетическая структура популяций в загрязнённых экотопах, обеспечивающая в наилучшей степени поддержание популяционного гомеостаза [Пескова, 2004]. Поэтому мы рассматривали динамику популяционных характеристик озёрной лягушки при её обитании в загрязнённых карбаминовыми инсектицидами водоёмах.

Экспериментальные исследования, проведённые на взрослых особях озёрной лягушки, дали возможность определить зависимость изменений гематологических показателей от конкретного карбаминового инсектицида, а также от его концентрации (абсолютной — в миллиграммах на литр и относительной — в ПДК) и дифференцировать отмеченные изменения на адаптивные и патологические. Так, например, лимфоцитоз озёрной лягушки в высокой концентрации феноксикарба является адаптивной реакцией, а лимфоцитопения в растворе высокой концентрации карбарила — показателем развивающейся патологии. Судя по эозинофилопении озёрной лягушки, при экспозиции в растворах высоких концентраций карбаминовых пестицидов, можно говорить об относительной тяжести токсикоза земноводных.

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

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 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айтбаева, Б.Т. Особенности проявления и изменчивости морфологических признаков различных морф сеголеток озёрной лягушки в местах сброса шахтных вод / Б.Т. Айтбаева, К.Я. Атаханова // Влияние генотипа и комплекса экологических факторов на жизнедеятельность организмов. — Караганда, 1989. — С. 6—12.
2. Акуленко, Н.М. Антропогенное загрязнение как специфический фактор отбора / Н.М. Акуленко // Современные проблемы популяционной экологии. — Белгород, 2006. — С. 7—8.
3. Атаханова, К.Я. Биомониторинг реки Нура (Центральный Казахстан) / К.Я. Атаханова, Б.Т. Айтбаева, З.А. Байназарова // Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология. — Днепропетровск, 1993. — Вып. 1. — С. 111—112.
4. Безель, В.С. Популяционная экотоксикология / В.С. Безель, В.Н. Большаков, Е.Л. Воробейчик. — М.: Наука, 1994. — 80 с.
5. Биохимические аспекты мониторинга пиретроидных пестицидов в экспериментах с головастиками *Xenopus laevis* / И.Л. Левина [и др.] // 8-й съезд Гидробиол. об-ва РАН. Калининград, 16—23 сентября, 2001 г.: тез. докладов. — Калининград, 2001. — Т. 2. — С. 138—139.
6. Бобылев, Ю.П. Охрана местообитаний и адаптивные особенности бесхвостых амфибий антропогенных ландшафтов Приднепровья / Ю.П. Бобылев // Вопросы степного лесоведения и научные основы лесной рекультивации земель. — Днепропетровск, 1985. — С. 124—130.
7. Большаков, В.Н. Половая структура популяций млекопитающих и её динамика / В.Н. Большаков, Б.С. Кубанцев. — М.: Наука, 1984. — 233 с.
8. Бондарцев, А.С. Шкала цветов: пособие для биологов при научных и научно-прикладных исследованиях / А.С. Бондарцев. — М.: Изд-во АН СССР, 1954. — 27 с.
9. Борисов, В.И. Реки Кубани / В.И. Борисов. — Краснодар: Кубанское книжное издательство, 2005. — 120 с.

10. Вафис, А.А. Реакция крови озёрной лягушки *Rana ridibunda* PAL. на воздействие сточных вод сахарных заводов / А.А. Вафис, Т.Ю. Пескова // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. — Тамбов, 2009. — №2. — С. 8—18.

11. Влияние этопрофоса на ранние стадии эмбриогенеза обыкновенной жабы / L. Hou [et al.] // Nongye huanjing kexue xuebao = J. Agro-Environ. Sci. — 2005. — 24, № 4. — P. 682—685. РЖ Биология. 08.07–04И 5.62.

12. Воробьева, Т.Н. Теоретическое и экспериментальное эколого-токсикологическое обоснование биорелаксации пестицидного загрязнения почвы виноградников / Т.Н. Воробьева, А.А. Волкова, Ю.А. Ветер // Наука Кубани. — 2009. — №1. — С. 23—28.

13. Воронова, Л.Д. Реакции пигментной системы личинок земноводных на малые концентрации некоторых пестицидов / Л.Д. Воронова // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. — Л., 1983. — С. 77—96.

14. Дабагян, Н.В. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. / Н.В. Дабагян, Л.А. Слепцова // Объекты биологии развития. — М.: Наука, 1975. — С. 442—462.

15. Действие сильнотоксических веществ на форменные элементы крови амфибионтов / Е.Ю. Конешова [и др.] // Фундаментальные и прикладные аспекты функционирования водных экосистем: проблемы и перспективы гидробиологии и ихтиологии в 21 веке: материалы Всероссийской науч. конф. — Саратов, 2001. — С. 90—92.

16. Денисова, А.В. Распространение инсектицида севина в наземных биоценозах различных ландшафтно-географических зон и его побочное действие на животных: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.08 / Денисова Анна Васильевна. — М., 1976. — 22 с.

17. Житенева, Л.Д. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) / Л.Д. Житенева, Э.В. Макаров, О.А. Рудницкая. — Ростов н/Д: Эверест, 2004. — 311 с.

18. Житенева, Л.Д. Атлас нормальных и патологически изменённых клеток крови рыб / Л.Д. Житенева, Т.Г. Полтавцева, О.А. Рудницкая. — Ростов н/Д: Кн. изд-во, 1989. — 111 с.

19. Жукова, Т.И. Изменения гематологических показателей озёрной лягушки в связи с обитанием в водоёмах, загрязнённых пестицидами / Т.И. Жукова // Экология. — 1987. — №2. — С. 54—59.

20. Жукова, Т.И. Гематологические показатели озёрной лягушки при содержании в воде с различной концентрацией пестицидов сириуса и фудзивана / Т.И. Жукова // Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология. — 1993. — Вып. 1. — С. 116—117.

21. Жукова, Т.И. Структура популяции озёрной лягушки в степных водоёмах Западного Предкавказья / Т.И. Жукова // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. — Тольятти, 2005. — Вып. 8. — С. 31—37.

22. Жукова, Т.И. Критерии определения стадий зрелости яичников озёрной лягушки / Т.И. Жукова, Т.В. Бокова // Современные проблемы зоологии и совершенствование её преподавания в вузе и школе. — Пермь, 1976. — С. 252—253.

23. Жукова, Т.И. Зависимость численности озёрной лягушки от степени загрязнения водоёма / Т.И. Жукова, Е.Н. Воробьевская // Биосфера и человек. — Майкоп, 2001. — С. 153—155.

24. Жукова, Т.И. Различия в состоянии гонад озёрной лягушки в зависимости от степени антропогенных воздействий на среду их обитания / Т.И. Жукова, Б.С. Кубанцев // Антропогенные воздействия на природные комплексы и экосистемы. — Волгоград, 1980. — С. 51—56.

25. Жукова, Т.И. Влияние пестицидного загрязнения водоёмов на некоторые морфофизиологические характеристики озёрной лягушки / Т.И. Жукова, Б.С. Кубанцев // Антропогенные воздействия на экосистемы и их компоненты. — Волгоград, 1982. — С. 104—120.

26. Жукова, Т.И. Некоторые реакции популяций озёрной лягушки на пестицидное загрязнение водоёмов / Т.И. Жукова, Б.С. Кубанцев, Т.Л. Бурлаченко // Антропогенные воздействия на популяции животных. — Волгоград, 1986. — С. 61—81.

27. Жукова, Т.И. Влияние гексахлорциклогексана на выживаемость икры и головастиков озёрной лягушки / Т.И. Жукова, С.С. Малахов // Актуальные вопро-

сы экологии и охраны природы водных экосистем и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 1995. — Ч. 1. — С. 147—148.

28. Жукова, Т.И. Шкала зрелости семенников бесхвостых земноводных / Т.И. Жукова, Т.П. Невзорова // Новые проблемы зоологической науки и их отражение в вузовском преподавании: тез. докл. науч. конф. зоологов пед. ин-тов. — Ставрополь, 1979. — Ч. 2. — С. 254—255.

29. Жукова, Т.И. Влияние различных доз гербицида базагран на выживаемость икры и головастиков озёрной лягушки / Т.И. Жукова, Я.Е. Николаева // Актуальные вопросы экологии и охраны природы Азовского моря и Восточного Приазовья: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 1989. — Ч. 1. — С. 146—148.

30. Жукова, Т.И. Некоторые популяционные характеристики озёрной лягушки при обитании в чистом и загрязнённом пестицидами водоёмах / Т.И. Жукова, Т.Ю. Пескова // Экология и охрана окружающей среды. — Рязань, 1998а. — С. 34—35.

31. Жукова, Т.И. Сезонные изменения возрастного состава популяций озёрной лягушки из чистого и загрязнённого пестицидами водоёмов / Т.И. Жукова, Т.Ю. Пескова // Проблемы развития биологии на Северном Кавказе. — Ставрополь, 1998б. — Вып. 3. — С. 52—58.

32. Жукова, Т.И. Фенетическая структура популяций озерной лягушки на Северном Кавказе / Т.И. Жукова, Т.Ю. Пескова // Проблемы развития биологии на Северном Кавказе. — Ставрополь, 1998в. — Вып. 3. — С. 58—65.

33. Жукова, Т.И. Реакция крови бесхвостых амфибий на пестицидное загрязнение / Т.И. Жукова, Т.Ю. Пескова // Экология. — 1999. — № 4. — С. 288—292.

34. Жукова, Т.И. Сравнительная характеристика гематологических показателей озёрной лягушки, обитающей в водоёмах разной загрязнённости / Т.И. Жукова, И.В. Фиц // Актуальные вопросы экологии и охраны природы экосистем южных и центральных регионов России: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 1996. — С. 160—162.

35. Жукова, Т.И. Влияние фосфорорганических пестицидов карбофоса и фозалона на гематологические показатели озёрной лягушки / Т.И. Жукова, И.О. Шебалина // Актуальные вопросы экологии и охраны природы степных экосистем и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 1994. — Ч. 2. — С. 329—331.

36. Жукова, Т.И. Анализ репродуктивного цикла озёрной лягушки на Северном Кавказе по степени зрелости гонад / Т.И. Жукова, В.Б. Широкова // Герпетология. — Краснодар, 1979. — С. 13—19.

37. Заботкина, Е.А. Влияние различных концентраций карбофоса на структуру иммунокомпетентных органов сеголеток карпа / Е.А. Заботкина // Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология. — Днепропетровск, 1993. — Вып. 1. — С. 193—194

38. Замалетдинов, Р.И. Экология земноводных в условиях большого города (на примере г. Казани): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Замалетдинов Ренат Ирекович. — Казань, 2003. — 25 с.

39. Иванова, Н.Л. Нарушение развития гонад амфибий как индикатор промышленных загрязнений среды обитания / Н.Л. Иванова, М.В. Пастухова, Г.В. Оленев // Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология. — Днепропетровск, 1993. — Вып. 1. — С. 117.

40. Исаева, Е.И. Иммунный статус / Е.И. Исаева, С.О. Вязов // Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье среды. Центр экологической политики России. — М., 1996. — С. 54—61.

41. Калашников, В.П. Влияние малых доз пестицидов на некоторые физиологические показатели крови озёрной лягушки / В.П. Калашников // Проблемы региональной экологии животных в цикле зоологических дисциплин педвуза. — Витебск, 1984. — С. 80.

42. Ковылина, Н.В. Использование озёрной лягушки (*Rana ridibunda* PALL.) для оперативной индикации техногенного загрязнения водоёмов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Ковылина Наталья Викторовна. — Волгоград, 1999. — 16 с.

43. Кожуро, Ю.И. Анализ мутагенной активности гербицида симазина с использованием клеток крови травяной лягушки / Ю.И. Кожуро, Е.А. Семенчик, В.Ю. Афонин // Актуальные проблемы биологии и экологии. — Сыктывкар, 2003. — С. 103—104.

44. Конешова, Е.Ю. Влияние зомана и его реакционных масс на форменные элементы крови амфибий / Е.Ю. Конешова, Г.В. Шляхтин, С.А. Конешов // Фундаментальные и прикладные аспекты функционирования водных экосистем: проблемы и перспективы гидробиологии и ихтиологии в 21 веке. — Саратов, 2001. — С. 84—86.

45. Косарева, Н.А. Изменения в состоянии половой системы озёрных лягушек как следствие антропогенных воздействий на среду их обитания / Н.А. Косарева, И.Л. Васюков // Антропогенные воздействия на природные комплексы и экосистемы. — Волгоград, 1976. — С. 74—81.

46. Кост, Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. — М.: Медицина, 1973. — 383 с.

47. Крылова, Т.В. Популяционные изменения у некоторых мелких млекопитающих как следствие применения в природе гонадотропного пестицида: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Крылова Татьяна Владимировна. — М., 1975. — 140 с.

48. Кубанцев, Б.С. Некоторые экологические результаты антропогенных воздействий на популяции и среду обитания озёрной лягушки / Б.С. Кубанцев, Т.И. Жукова // Экология. — 1982. — № 6. — С. 46—51.

49. Кубанцев, Б.С. Антропогенные воздействия на среду обитания земноводных и половая структура их популяций / Б.С. Кубанцев, Т.И. Жукова // Экологическая и морфологическая изменчивость животных под влиянием антропогенных факторов. — Волгоград, 1994. — С. 64—74.

50. Кубанцев, Б.С. Биология размножения озёрной лягушки и зелёной жабы на Северном Кавказе / Б.С. Кубанцев, Т.И. Жукова, Т.Н. Никифорова // Герпетология. — Краснодар, 1979. — С. 19—36.

51. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. — М.: Колос, 1974. — 293 с.

52. Кузьмин, С.Л. Земноводные бывшего СССР / С.Л. Кузьмин. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 1999. — 298 с.
53. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с.
54. Лесников, Л.А. Особенности токсичности загрязнения пресных вод в отношении некоторых гидробионтов / Л.А. Лесников // Вопросы водной токсикологии. — М., 1970. — С. 61—66.
55. Лунев, М.И. Пестициды и охрана агрофитоценозов / М.И. Лунев. — М.: Колос, 1992. — 270 с.
56. Мелехова, О.П. Оценка эмбриотоксичности водной среды / О.П. Мелехова // Известия РАН. Сер. Биологическая. — 1994. — № 4. — С. 661—666.
57. Мельников, Н.Н. Пестициды в окружающей среде / Н.Н. Мельников // Успехи химии. — 1992. — Т. 61, вып. 61. — С. 1932—1966.
58. Микропространственное распределение головастиков лягушки *Rana adenopleura* при воздействии гербицида атразина / Yingyong yu huanjing shengwuxuebao / Xu Shixia [et al.] // Chin. J. Appl. and Environ. Biol. 2004. 10, №2. P. 174—179. РЖ Биология 05.02–04И5.86.
59. Микряков, В.Р. Влияние карбофоса на картину белой крови карпа / В.Р. Микряков, Т.Б. Лапирова // Итоги научно-практических работ в ихтиопатологии. — М., 1997. — С. 72—73.
60. Мисюра, А.Н. Экология фонового вида амфибий центрального степного Приднепровья в условиях промышленного загрязнения водоёмов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 11.00.11 и 03.00.16 / Мисюра Андрей Николаевич. — М., 1989. — 22 с.
61. Моисеенко Т.И. Морфофизиологические перестройки организма рыб под влиянием загрязнения (в свете теории С.С. Шварца) // Экология. 2000. №6. С.463–472.
62. Никашин, И.А. Эколого-морфологические признаки популяций озёрной лягушки (*Rana ridibunda* PALL.) как средство оценки антропогенного воздействия

на водные экосистемы (на примере Липецкой области): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Никашин Игорья Александрович. — Липецк, 2007. — 17 с.

63. Оськина, В.Н. Обоснование эффективных регламентов применения фурадана для борьбы с вредителями на посевах сахарной свёклы: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.11 / Оськина Вера Николаевна. — Киев, 1984. — 19 с.

64. Перевозченко, И.И. Влияние производных карбаминовой и тиокарбаминовой кислот на рыб и амфибий / И.И. Перевозченко // Гидробиологический журнал. — 1975. — Вып. 11, № 1. — С. 95—98.

65. Перечень предельно допустимых концентраций наиболее распространённых химических веществ в воде рыбохозяйственных водоёмов // Перечень ПДК и ОБУВ вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоёмов. — М., 1995. — 48 с.

66. Пескова, Т.Ю. Различия индексов гонад краснобрюхой жерлянки в чистых и загрязнённых водоёмах / Т.Ю. Пескова // Актуальные вопросы экологии и охраны природы экосистем южных регионов России и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 1997. — С. 112—114.

67. Пескова, Т.Ю. Влияние загрязнителей на кровь озёрной лягушки / Т.Ю. Пескова // Актуальные вопросы экологии и охраны природных экосистем южных регионов России и сопредельных территорий: материалы науч.-практ. конф. — Краснодар, 2000а. — С. 110—111.

68. Пескова, Т.Ю. Половая структура популяций земноводных при обитании в чистых и загрязнённых пестицидами водоёмах / Т.Ю. Пескова // Современная герпетология. — Саратов, 2000б. — Вып. 1. — С. 20—35.

69. Пескова, Т.Ю. Морфологические и морфофизиологические изменения при обитании земноводных в условиях загрязнения / Т.Ю. Пескова // Герпетологический вестник. — Львов, 2000в. — Т. 2, № 3—4. — С. 25—33.

70. Пескова, Т.Ю. Влияние антропогенных загрязнений среды на земноводных / Т.Ю. Пескова. — Волгоград, 2001. — 156 с.

71. Пескова, Т.Ю. Структура популяций земноводных как биоиндикатор антропогенного загрязнения среды / Т.Ю. Пескова. — М., 2002. — 132 с.

72. Пескова, Т.Ю. Смертность головастиков земноводных под влиянием пестицидов / Т.Ю. Пескова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Приложение, №2. — 2003. — С. 20—27.

73. Пескова, Т.Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязнённой среде: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.08 / Пескова Татьяна Юрьевна. — Тольятти, 2004а. — 36 с.

74. Пескова, Т.Ю. Морфологические и морфофизиологические изменения земноводных при обитании в условиях загрязнения / Т.Ю. Пескова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. — 2004б. — № 1. — С. 60—64.

75. Пескова, Т.Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязнённой среде / Т.Ю. Пескова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. — 2005а. — № 3. — С. 66—70.

76. Пескова, Т.Ю. Адаптации земноводных к антропогенному загрязнению среды обитания / Т.Ю. Пескова // Биоразнообразие и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах. — Днепропетровск, 2005б. — С. 376—378.

77. Пескова, Т.Ю. Влияние бензина на гематологические показатели озёрной лягушки / Т.Ю. Пескова, А.А. Вафис // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2007. — Вип. 21. — С. 100—104.

78. Пескова, Т.Ю. Половая и возрастная структура популяций краснобрюхой жерлянки из водоёмов, различающихся по степени пестицидного загрязнения / Т.Ю. Пескова, В.И. Голубцов // Экологическая и морфологическая изменчивость животных под влиянием антропогенных факторов. — Волгоград, 1994. — С. 75—82.

79. Пескова, Т.Ю. Реакции белой крови амфибий на пестицидное загрязнение / Т.Ю. Пескова, Т.И. Жукова // Современные проблемы экологии. — Краснодар; Анапа, 1996. — Ч. 1. — С. 89—92.

80. Пескова, Т.Ю. Влияние пиретроидных инсектицидов на гематологические показатели озёрной лягушки / Т.Ю. Пескова, Т.И. Жукова // Устойчивое развитие: Загрязнение окружающей среды и экологическая безопасность: материалы

Международ. науч.- практ. конф. — Днепропетровск, 1999. — С. 123—125.

81. Пескова, Т.Ю. Использование краснобрюхой жерлянки для биоиндикации пестицидного загрязнения водоёмов / Т.Ю. Пескова, Т.И. Жукова // Наука Кубани. — 2008. — № 2. — С. 19—23.

82. Пескова, Т.Ю. Влияние нефти на гематологические показатели озёрной лягушки / Т.Ю. Пескова, Я.В. Шарпан // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2007. — Вип. 21. — С. 96—99.

83. Пестицид карбарил / Пестициды и регуляторы роста растений [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.cnshb.ru/AKDiL/0034/base/RK/000552.shtm> (дата обращения 14.09.09).

84. Пестицид карбарил / Список пестицидов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://rupest.ru/ppdb/carbaryl.html> (дата обращения 21.10.09).

85. Пестицид феноксикарб / Пестициды и регуляторы роста растений [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.cnshb.ru/AKDiL/0034/base/RF/000635.shtm> (дата обращения 14.09.09).

86. Пестицид феноксикарб / Список пестицидов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://rupest.ru/ppdb/fenoxycarb.html> (дата обращения 21.10.09).

87. Пестициды: справочник / В.И. Мартыненко [и др.]. — М.: Агропромиздат, 1992. — 368 с.

88. Пикулик, М.М. Земноводные Белоруссии / М.М. Пикулик. — Минск: Наука и техника, 1985. — 191 с.

89. Поведение головастика *Rana adenopleura* при воздействии гербицида атразина / Yingyong yu huanjing shengwu xuebao / Xu Shixia [et al.] // Chin. J. Appl. and Environ. Biol. — 2004. — 10, № 4. — P. 446—450. РЖ Биология 05.06–04И5.127.

90. Пястолова, О.А. Личинки земноводных и их лабораторное содержание / О.А. Пястолова // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. — Киев, 1989. — С. 134—144.

91. Романова, Е.Б. Гематологические аспекты механизмов адаптации природных популяций зелёных лягушек в условиях антропогенного средового стресса

са / Е.Б. Романова // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. — Тольятти, 2005а. — Вып. 8. — С. 169—176.

92. Романова, Е.Б. Использование иммунологических подходов для оценки состояния природных популяций амфибий в естественных условиях и при антропогенном воздействии / Е.Б. Романова // Вестник Нижегородского университета. Сер. Биология. — 2005б. — № 2. — С. 115—121.

93. Романова, Е.Б. Особенности лейкоцитарной формулы периферической крови зелёных лягушек в условиях антропогенной нагрузки / Е.Б. Романова, О.Ю. Романова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2003. — 39, № 4. — С. 384—387.

94. Ромейс, Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1954. — 719 с.

95. Роскин, Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин, А.Д. Левинсон. — М.: Советская наука, 1957. — 476 с.

96. Сакур, О.Ф. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб / О.Ф. Сакур, Н.А. Буцкая. — Мурманск: ПИНРО, 1968. — 47 с.

97. Скокова, Н.Н. Оценка побочного действия феноксигербицидов на животных / Н.Н. Скокова // Влияние пестицидов на диких животных наземных и водных экосистем. — М., 1977. — С. 58—82.

98. Скрылева, А.Ф. Развитие остромордой лягушки в норме и при воздействии пестицидов / А.Ф. Скрылева, Е.Н. Коннова // Вопросы герпетологии. — Киев, 1989. — С. 235—236.

99. Спирина, Е.В. Амфибии как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Спирина Елена Владимировна. — Ульяновск, 2007. — 23 с.

100. Усова, Н.Е. Возрастная структура представителей гибридогенного комплекса зелёных лягушек в Харьковской области / Н.Е. Усова // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы диагностики. — Белгород, 2010. — С. 131.

101. Федоренко, А.П. Пестициды как фактор естественного отбора /

А.П. Федоренко // Вестник зоологии. — 1982. — № 5. — С. 3—8.

102. Федоров, Л.А. Пестициды — токсический удар по биосфере и человеку / Л.А. Федоров, А.В. Яблоков. — М., Наука 1999. — 461 с.

103. Фоминых, А.С. Особенности экологии озёрной лягушки из отстойника Нижнетагильского металлургического комбината / А.С. Фоминых // Водное хозяйство России. — 2006. — № 6. — С. 50—57.

104. Фоновый мониторинг загрязнения экосистем суши хлорорганическими соединениями / Ф.Я. Ровинский [и др.]. — Л.: Гидрометеиздат, 1990. — 270 с.

105. Часовников, М.В. Клиническая фармакотоксикология пестицида фурадан: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.04 / Часовников Максим Валериевич. — Воронеж, 2003. — 20 с.

106. Чернышова, Э.В. Периферическая кровь лягушек рода *Rana* как тест-система для оценки загрязнения окружающей среды / Э.В. Чернышова, В.И. Старостин // Известия РАН. Сер. биологическая. — 1994. — № 4. — С. 656—660.

107. Чмиль, В.Д. Тонкослойная хроматография производных карбаминовой кислоты / В.Д. Чмиль, Р.Д. Васягина // Журнал аналитической химии. — 1989. — Т. 44, № 4. — С. 757—759.

108. Шахтарин, Г.Ю. К состоянию популяций озёрной лягушки на водораздельных озёрах Приказанья в условиях антропогенной трансформации ландшафта / Г.Ю. Шахтарин // Жизнь популяций в гетерогенной среде. — Йошкар-Ола, 1999. — Ч. 1. — С. 265—266.

109. Шварц, С.С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных / Тр. АН СССР. Урал. фил. Ин-т экологии растений и животных / С.С. Шварц, В.С. Смирнов, Л.Н. Добринский. — Свердловск, 1968. — Вып. 58. — 387 с

110. Шилова, С.А. Эколого-физиологические критерии состояния популяций животных при действии повреждающих факторов / С.А. Шилова, М.И. Шатуновский // Экология. — 2005. — № 1. — С. 32—38.

111. Шиян, А.А. Экологическая характеристика озёрной лягушки (*Rana*

ridibunda PALL.) при обитании на полях фильтрации сахарных заводов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / Шиян Анна Александровна. — Саратов, 2011. — 21 с.

112. Шляхтин, Г.В. Методика полевых исследований экологии амфибий и рептилий: учеб. пособие / Саратов. гос. ун-т им. Н.Г. Чернышевского / Г.В. Шляхтин, В.Д. Голикова. — Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1986. — 76 с.

113. Щербак, Н.Н. Количественный учёт // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся / Н.Н. Щербак. — Киев, 1989. — С. 121—125.

114. Яржомбек, А.А. Ихтиотоксикология / А.А. Яржомбек, И.В. Михеева. — М.: Колос, 2007. — 144 с.

115. Acute and chronic effects of carbaryl on survival, growth and metamorphosis in the bullfrog (*Rana tigerina*) / T.J. Pandian [et al.] // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1983. — 12, №3. — P. 271—275.

116. Allran, J.W. Effects of atrazine on embryos, larvae and adults of anuran amphibians / J.W. Allran, W.H. Karasov // Environ. Toxicol. and Chem. — 2001. — V. 20, № 4. — P. 769—775.

117. Alvarez, R. Skeletal malformations induced by the insecticides ZZ-Aphox and Folidol during larval development of *Rana perezii* / R. Alvarez // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1995. — V. 28, № 3. — P. 349—356.

118. Antony, A.J. Phosalone toxicity on the movement and feeding behavior of *Rana tigrina* (Daudin) / A.J. Antony, K. Ramalingam // Uttar. Pradesh. J. Zool. — 1990. — 10, № 2. — P. 180—181.

119. Atrazine exposure may affect lipid storage in *Xenopus laevis* tadpoles / R.M. Zaya [et al.] // Annual Conference of the International Association for Great Lakes Research. Ann Arbor (Mich.). — 2007. — P. 220—221.

120. Atrazine increases the sodium absorption in frog (*Rana esculenta*) skin / G. Cassano [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2006. — 25, № 2. — P. 509—513.

121. Atrazine-induced hermaphroditism at 0,1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): Laboratory and field evidence / T. Hayes [et al.] // Environ. Health Perspect. — 2003. — 111, № 4. — P. 568—575.

122. Atrazine is an immune disruptor in adult northern leopard frogs (*Rana pipiens*) / M. Brodtkin [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2007. — 26, № 1. — P. 80—84.
123. Bioaccumulation of organochlorine pesticides in frogs of *Rana esculenta-complex* in central Italy / A. Fagotti [et al.] // Amphibia-Reptilia. — 2005. — 26, № 1. — P. 93—104.
124. Boone, M.D. Juvenile frogs compensate for small metamorphose size with terrestrial growth. Overcoming the effects of larval density and insecticide exposure / M.D. Boone // J. Herpetol. — 2005. — 39, № 3. — P. 416—423.
125. Boone, M.D. The effect of temperature on the potency of carbaryl for survival of tadpoles of the green frog (*Rana clamitans*) / M.D. Boone, Ch.M. Bridges // Environ. Toxicol. and Chem. — 1999. — 18, № 7. — P. 1482—1484.
126. Boone, M.D. Examining multiple sublethal contaminants on the gray tree-frog *Hyla versicolor*: Effect of an insecticide, herbicide and fertilizer / M.D. Boone, Ch.M. Bridges-Dritton // Environ. Toxicol. and Chem. — 2006. — 25, № 12. — P. 3261—3265.
127. Broomhall, S.D. Egg temperature modifies predator avoidance and the effects of the insecticide endosulfan on tadpoles of an Australian frog / S.D. Broomhall // J. Appl. Ecol. 2004. 41, №1. P. 105—113.
128. Broomhall, S.D. Shine R. Effects of the insecticide endosulfan and presence of congenetic tadpoles of an Australian tree-frog (*Litoria freycineti*) / S.D. Broomhall // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 2003. — 45, № 2. — P. 221—226.
129. Carlson, A.R. Effects of longterm exposure to carbaryl (Sevin) on survival, growth, and reproduction of the fathead (*Pimephales promelas*) / A.R. Carlson // J. Fish. Res. Board Can. — 1972. — 29, № 5. — P. 583—587.
130. Cole, L.M. Pyrethroid toxicology in the frog / L.M. Cole, J.E. Casida // Pestic. Biochem. and Physiol. — 1983. — 20, № 2. — P. 217—224.
131. Comparison of sensitivity to dichlorvos of *Rhacophorus megacephalus* tadpoles at different developmental stages / B.-P. Geng [et al.] // Dongwu xuebao = Ac-

ta zool. sin. — 2006. — 52. — № 5. — P. 892—898.

132. Cooke, A.S. The effect of p,p'-DDT on tadpoles of the common frog (*Rana temporaria*) / A.S. Cooke // Environ. Pollut. — 1970. — V.1, № 1. — P. 57—71.

133. Cooke, A.S. Selective predation by newts on frog tadpoles treated with DDT / A.S. Cooke // Nature. — 1971. — V. 229, № 5282. — P. 275—276.

134. Cooke, A.S. The effects of DDT, dieldrin and 2,4-D on amphibian spawn and tadpoles / A.S. Cooke // Environ. Pollut. — 1972. — V. 3, № 1. — P. 51—68.

135. Cooke, A.S. Response of *Rana temporaria* tadpoles to chronic doses of p,p'-DDT / A.S. Cooke // Copeia. — 1973. — № 4. — P. 647—652.

136. Cooke, A.S. The effects of pp'-DDT on adult frogs (*Rana temporaria*) / A.S. Cooke // Brit. J. Herpetol. — 1974. — V. 5, № 2. — P. 390—396.

137. Cooke, A.S. Changes in status of the frog (*Rana temporaria*) and the toad (*Bufo bufo*) on the part of the east Anglian fenland in Britain / A.S. Cooke, P.F. Ferguson // Biol. Conserv. — 1976. — № 9. — P. 191—198.

138. Dietary exposure to low pesticide doses causes long-term immunosuppression in the leopard frog (*Rana pipiens*) / A. Albert [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2007. — 26, № 6. — P. 1179—1185.

139. Distel, Ch. Pesticides has asymmetric effects on two tadpole species across density gradient / Ch. Distel, M. Boone // Environ. Toxicol. and Chem. — 2011. — 30, № 3. — P. 650—658.

140. Effects of agricultural system of *Rana pipiens* and on its resistance to parasitic infection / M.-S. Christin [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2003. — 22, № 5. — P. 1127—1133.

141. Effects of chytrid and carbaryl exposure on survival, growth and skin peptide defenses in foothill yellow-legged frogs / C. Davidson [et al.] // Environ. Sci. and Technol. — 2007. — 41, № 5. — P. 1771—1776.

142. Effects of environmentally relevant concentrations of atrazine on gonadal development of snapping turtle (*Chelydra serpentina*) / S. de Solla [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2006. — 25, № 2. — P. 520—526.

143. Effect of sulfometuron methyl and nicosulfuron on development and met-

amorphosis in *Xenopus laevis*: Impact of purity / D.J. Fort [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 1999. — 18, № 12. — P. 2954—2940.

144. Effect of methoxychlor on various life stages of *Xenopus laevis* / D.G. Fort [et al.] // Toxicol. Sci. — 2004. — 81, № 2. — P. 454—466.

145. Exposure to the herbicide acetochlor alters thyroid hormone-dependent gene 3 expression and metamorphosis in *Xenopus laevis* / D. Crump [et al.] // Environ. Health Perspect. — 2002. — 110, № 12. — P. 1199—1205.

146. Floid, R. Differential acute sensitivity of wild *Rana sylvatica* and laboratory *Xenopus laevis* tadpoles to the herbicide atrazine / R. Floid, J. Wade, D. Crain // Dios (USA). — 2008. — 79, № 3. — P. 115—119.

147. Forson, D. Effects of atrazine and iridovirus infection on survival and life-history traits of the long-toed salamander (*Ambystoma macrodactylum*) / D. Forson, A. Storfer // Environ. Toxicol. and Chem. — 2006. — 25, № 1. — P. 168—173.

148. Freeman, J. Differential metamorphosis alters the endocrine response in anuran larvae exposed to T₃ and atrazine / J. Freeman, N. Beccue, A. Rayburn // Aquat. Toxicol. — 2005. — 75, № 3. — P. 263—276.

149. Freeman, J. Developmental impact of atrazine on metamorphosing *Xenopus laevis* as revealed by nuclear analysis and morphology / J. Freeman, A. Rayburn // Environ. Toxicol. and Chem. — 2005. — 24, № 7. — P. 1648—1653.

150. Gaizick, L. Toxicity of chlorpyrifos to *Rana pipiens* embryos / L. Gaizick, G. Gupta, E. Bass // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 2001. — 66, № 3. — P. 386—391.

151. Glennemeier, K.A. Impact of organochlorine contamination on amphibian populations in southwestern Michigan / K.A. Glennemeier, L.J. Begnoche // J. Herpetol. — 2002. — 36, № 2. — P. 233—244.

152. Geng, B.-R. Genotoxicity of the pesticide Dichlorvos and herbicide Butachlor in *Rhacophorus megacephalus* tadpoles / B.-R. Geng, D. Yao, Q.-Q. Xue // Dongwu xuebao = Acta zool. sin. — 2005. — 51, № 3. — P. 447—454.

153. Goulet, B.N. Toxicity of cadmium, endosulfan, and atrazine in adrenal steroidogenic cells of two amphibian species, *Xenopus laevis* and *Rana catesbeiana* /

B.N. Goulet, A. Hontela // Environ. Toxicol. and Chem. — 2003. — 22, № 9. — P. 2106—2113.

154. Greig-Smith, P.W. Effects of non-persistent insecticides on bird and mammal populations in farmland / P.W. Greig-Smith // Hum. Toxicol. — 1989. — № 1. — P. 57—58.

155. Gromysz-Kalkowska, K. Changes in the blood of *Rana temporaria* L. after different doses of trichlorfon / K. Gromysz-Kalkowska, E. Szubartowska // Folia biol. (PRL). — 1986. — V. 34, № 1. — P. 21—33.

156. Gucciardo, L.S. Chronic exposure of anuran larvae to three levels of atrazine does not affect growth and metamorphosis / L.S. Gucciardo, E.S. Farrar // Amer. Zool. — 1996. — V. 36, № 5. — P. 122.

157. Hall, R.J. Uptake of methoxychlor from food and water by the american toad (*Bufo americanus*) / R.J. Hall, D. Swineford // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1979. — 23, № 3. — P. 335—337.

158. Harri, M.N.E. Toxicity and retention of DDT in adult frogs, *Rana temporaria* L. / M.N.E. Harri, J. Laitinen, E.-L. Valkama // Environ. Pollut. — 1979. — V. 2. — P. 45—55.

159. Hazelwood, E. Frog pond contaminated / E. Hazelwood // Brit. J. Herpetol. — 1970. — V. 4, № 7. — P. 177—184.

160. Helgen, J.C. Investigations of deformed frogs in Minnesota / J.C. Helgen, M.C. Germes, D. Hoppe // Environ. and Mol. Mutagenes. — 1997. — V. 29. — P. 20.

161. Hermaphroditic. demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses / T. Hayes [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2002. — 99, № 8. — P. 5476—5480.

162. Hoffman, D.J. Wild Toxicology / D.J. Hoffman, B.A. Rattner, R.J. Hall // Environ. Sci. and Technol. — 1990. — 24, № 3. — P. 276—283.

163. Houck, A. Could atrazine affect the immune system of the frog *Rana pipiens*? / A. Houck, S. Sessions // Bios (USA). — 2006. — 77, № 4. — P. 107—112.

164. Immunosuppression in the northern leopard frog (*Rana pipiens*) induced by pesticide exposure / M.-K. Gilbertson [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. —

2003. — 22, № 1. — P. 101—110.

165. Impact of guthion on survival and growth of the frog *Pseudacris regilla* and the salamanders *Ambystoma gracile* and *Ambystoma maculatum* / A.V. Nebeker [et al.] // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1998. — 35, № 1. — P. 48—51.

166. Ingermann, R.L. Methoxychlor alters hatching and larval startle response in the salamander *Ambystoma macrodactylum* / R.L. Ingermann, D.C. Bencic, V.P. Eroschenko // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1997. — V. 59, № 5. — P. 815—821.

167. Jaskoski, B.J. DDT and methoxychlor in a frog population in Cook Country / B.J. Jaskoski, R.J. Kinders // Trans. Til. State Acad. Sci. — 1974. — V. 67, № 3. — P. 341—344.

168. Jordan, M. Wpływ kartapu na rozwój kijanek *Xenopus laevis* (Daud.) i *Rana temporaria* (L.) / M. Jordan, A. Maryanska-Nadachowska // Arch. oshr. srodow. — 1988. — № 1—2. — P. 113—119.

169. Jordan, M. The effect of two pesticides, miedzian 50 and gezagard 50, on the development of tadpoles of *Rana temporaria* / M. Jordan, K. Rzehak, A. Maryanska // Bull. Environ. Contam. and Toxycol. — 1977. — V. 17, № 3. — P. 349—354.

170. Kang, E. Effect of carbaryl on survival and development in *Bombina orientalis* (Boulenger) embryos / E. Kang, Ch. Park, M. Gye // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 2010. — V. 84, № 5. — P. 550—553.

171. Kaiser, T.O. The absorption of chlorinated hydrocarbon insecticides by frog skin / T.O. Kaiser, J. Dunham // Proc. Iowa Acad. Sci. — 1972. — V. 79, № 3—4. — P. 101—104.

172. Koprivnicar, J. Contaminant effects on host–parasite interactions: atrazine, frogs and trematodes / J. Koprivnicar, M.R. Forbes, R.L. Baker // Environ. Toxicol. and Chem. — 2007. — 26, № 10. — P. 2166—2170.

173. Krishnamurthy, S.V. Growth, abnormalities and mortality of tadpoles of American toad exposed to combinations of malathion and nitrate / S.V. Krishnamurthy, G.R. Smith // Environ. Toxicol. and Chem. — 2010. — 29, № 12. — P. 2845—2850.

174. Lethal and sublethal of atrazine, carbaryl, endosulfan, and octylphenol on the streamside salamander (*Ambystoma barbouri*) / J. Rohr [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2003. — 22, № 10. — P. 2385—2392.

175. Lianos, M.C. de Cholinesterase activities in developing amphibian embryos following exposure to the insecticides dieldrin and malathion / M.C. de Lianos, A.C. de Castro, P. de D'Angelo // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1985. — V. 14, № 2. — P. 161—166.

176. Licht, L.E. Time course of uptake, elimination and tissue levels of (¹⁴C) DDT in wood frog tadpoles / L.E. Licht // Can. J. Zool. — 1976. — V. 54, № 3. — P. 355—360.

177. Licht, L.E. Uptake of ¹⁴C-DDT by wood frog embryos after short term exposure / L.E. Licht // Comp. Biochem. and Physiol. — 1985. — V. 81, № 1. — P. 117—119.

178. Marchal-Segault, D.M. Toxicite de quelques insecticides pour des têtards de *Bufo bufo* (Amphibiens, Anoures) / D.M. Marchal-Segault // Bull. Ecol. — 1976. — V. 7, № 4. — P. 411—416.

179. Materna, E.J. Effects of the synthetic pyrethroid insecticide, esfenvalerate, on the larval leopard frog (*Rana* spp.) / E.J. Materna, C.F. Rabeni, T.W. LaPoint // Environ. Toxicol. and Chem. — 1995. — 14, № 4. — P. 613—622.

180. Mathur, D.S. Toxicity of Nuvacron to *Rana cyanophlyctis* (Schn.) / D.S. Mathur, P.D. Rane // Food. Farm. and Agr. — 1981. — 14, № 6. — P. 75—77.

181. Metts, B.S. Interaction of an insecticide with larval density in pond-breeding salamanders (*Ambystoma*) / B.S. Metts, W.A. Hopkins, J.P. Nestor // Freshwater Biol. — 2005. — 50, № 4. — P. 685—696.

182. Multiple sublethal chemicals negatively affect tadpoles of the green frog, *Rana clamitans* / M.D. Boone [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2005. — 24, № 5. — P. 1267—1272.

183. Organochlorine insecticides, polychlorinated biphenyls, and metals in water, sediment, and green frogs from southwestern Michigan/ C.D. Gilliland [et al.] // Chemosphere. — 2001. — 44, № 3. — P. 327—339.

184. Parathion accumulation in cricket frogs and its effects on american kestrels / W.J. Fleming [et al.] // J. Toxicol. and Environ. Health. — 1982. — 10, № 6. — P. 991—927.

185. Park, D. Endosulfan affects pheromonal detection and glands in the male red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens* / D. Park, C.R. Propper // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 2002. — 69, № 4. — P. 609—616.

186. Pauli, B.D. Sensitivity of amphibian embryos and tadpoles to Mimic^R 240LV insecticide following single or double exposures / B.D. Pauli, D.R. Coulson, M. Berril // Environ. Toxicol. and Chem. — 1999. — 18, № 11. — P. 2538—2544.

187. Peaslee, M.H. Influence of DDT upon pituitary melanocyte-stimulating hormone (MSH) activity in the anuran tadpoles / M.H. Peaslee // Gen. and Comp. Endocrinol. — 1970. — V. 14, №3. — P. 594—595.

188. Perturbation of organogenesis by the herbicide atrazine in the amphibian *Xenopus laevis* / J. Lenkowski [et al.] // Environ. Health Perspect. — 2008. — 116, № 2. — P. 223—230.

189. Peskova, T.Yu. Hematological indexes of *Rana ridibunda* inhabiting in clean and contaminated ponds / T.Yu. Peskova, T.I. Zhukova // 12th Ordinary General Meeting Societas Europea Herpetologica: Abstr. — St-Petersburg, 2003. — P. 128—129.

190. Peskova, T.Yu. Hematological indexes of *Rana ridibunda* in clean and contaminated ponds / T.Yu. Peskova, T.I. Zhukova // Herpetologia Petropolitana. — St-Petersburg, 2005. — P. 296—297.

191. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: Are we underestimating the impact? / T.B. Hayes [et al.] // Environ. Health Perspect. — 2006. — 114 (1). — P. 40—50.

192. Pyrethroid simulation of ion transport across frog skin / G. Cassano [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2003. — 22, № 10. — P. 1330—1334.

193. Raimondo, S. Potential impacts of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on five salamander species in West Virginia / S. Raimondo, T.K. Pauley, L. Butler // Northeast. Natur. — 2003. — 10, № 1. — P. 25—38.

194. Ralyea, R.A. Growth and survival of five amphibian species exposed to combinations of pesticides / R.A. Ralyea // Environ. Toxicol. and Chem. — 2004. — 23, № 7. — P. 1737—1742.

195. Ralyea, R.A. The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles / R.A. Ralyea // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 2005. — 48, № 3. — P. 351—357.

196. Ralyea, R.A. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to the gray treefrog (*Hyla versicolor*) / R.A. Ralyea, N. Mills // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2001. — 98, № 5. — P. 2491—2496.

197. Ranke-Rybicka, B. Badania nad przeżywalnością kijanek *Rana temporaria* z poddaanych okresowemu działaniu pestycydów fosfororganicznych (foschlor, malation) / B. Ranke-Rybicka // Roczn. Panst. Zakl. Hig. — 1972. — V. 23, № 3. — P. 371—377.

198. Response of the amphibian tadpole *Xenopus laevis* to atrazine during sexual differentiation of the ovary / L. Tavera-Mendoza [et al.] // Environ Toxicol Chem. — 2002a. — 21. — P. 1254—1267.

199. Response of the amphibian tadpole *Xenopus laevis* to atrazine during sexual of the testis / L. Tavera-Mendoza [et al.] // Environ Toxicol Chem. — 2002b. — 21. — P. 527—531.

200. Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: Assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology / J. Carr [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2003. — 22, № 2. — P. 396—405.

201. Rohr, J.R. Aquatic herbicide exposure increases salamander desiccation risk eight months later in a terrestrial environment / J.R. Rohr, B.D. Palmer // Environ. Toxicol. and Chem. — 2005. — 24, № 5. — P. 1253—1258.

202. Rzehak, K. The effect of karbatox 75, a carbaryl insecticide, upon the development of tadpoles of *Rana temporaria* and *Xenopus laevis* / K. Rzehak, A. Maryanska-Nadachowska, M. Jordan // Folia. Biol. (PRL). — 1977. — V. 25, № 4. — P. 391—399.

203. Saka, M. Developmental toxicity of p,p'-dichloro-diphenyl-trichloroethane,

2,4,6-trinitrotoluenc, their metabolites, and benzopyrene in *Xenopus laevis* embryos / M. Saka // Environ. Toxicol. and Chem. — 2004. — 23, № 4. — P. 1065—1073.

204. Sampath, K. Pesticide impact of excretory physiology of the common frog *Rana tigerina* (DAUD) tadpoles / K. Sampath, I.J.J. Kennedy, R. James // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 2002. — 68, № 5. — P. 652—659.

205. Saura-Mas, S. Evaluation of direct effects of an insecticide on gray treefrogs: Laboratory and field trials / S. Saura-Mas, M.D. Boone, Ch.M. Bridges // J. Herpetol. — 2002. — 36, № 4. — P. 715—719.

206. Semlitsch, R.D. Genetic variation and a fitness tradeoff in the tolerance of gray treefrog (*Hyla versicolor*) tadpoles to the insecticide carbaryl / R.D. Semlitsch, Ch.M. Bridges, A.M. Welch // Oekologia. — 2000. — 125, № 2. — P. 179—185.

207. Sparling, D.W. Effects of Altozid and Abate-4E on deformities and survival in southern leopard frogs under semi-natural conditions / D.W. Sparling // JIAS: J. Iowa Acad. Sci. — 2000. — 107, № 3—4. — P. 90—91.

208. Sparling, D.W. Toxicity of Abate to green frog tadpoles / D.W. Sparling, T.P. Low, A.E. Pinkney // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1997. — 58, № 3. — P. 475—481.

209. Sparling, D.W. Pesticides and amphibian population declines in California, USA / D.W. Sparling, G.M. Fellers, L.L. McConnel // Environ. Toxicol. and Chem. — 2001. — 20, № 7. — P. 1591—1595.

210. Storrs, S.I. Survivorship patterns of larval amphibians exposed to low concentrations of atrazine / S.I. Storrs, J.M. Kiesecker // Environ. Health Perspect. — 2004. — 112, № 10. — P. 1054—1057.

211. The functional integrity of northern leopard frog (*Rana pipiens*) and green frog (*Rana clamitans*) populations in orchard wetlands 1. Genetics, physiology, and biochemistry of breeding adults and young-of-the-year / M.L. Harris [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 1998. — 17, № 7. — P. 1338—1350.

212. The toxicity of the 2,4-di-chlorophenoxy-acetic acid to the adult crested newt / N.P. Zaffaroni [et al.] // Environ. Res. — 1986. — V. 41, № 1. — P. 79—87.

213. The toxicity of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid to the adult crested

- newt / N.P. Zaffaroni [et al.] // Environ. Res. — 1986. — V. 41, № 1. — P. 201—206.
214. Thyband, E. Toxicite aigue et bioconcentration du lindane et de la deltamethrine par les tetards de *Rana temporaria* et les gambusies (*Gambusia affinis*) / E. Thyband // Hydrobiologia. — 1990. — Vol. 190, N 2. — P. 137—145.
215. Time's up for atrazine? Weedkiller is implicated in two new studies. Is it enough for the U.S.Epa. // Glob. Pestic. Campaigner. — 2002. — 12, № 2. — P. 16.
216. Toxicologic and histopathologic response to the terrestrial salamander *Plethodon cinereus* to soil exposures of 1,3,5-trinitrohexahydro-1,3,5-triazine / M.S. Johnson [et al.] // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 2004. — 47, № 4. — P. 496—501.
217. Tomar, V. Melanophores response to chlorinated insecticide containing water: A study in tadpoles of *Bufo melanostictus* (SCHNEIDER) / V. Tomar, R. Sehgal, A.K. Pandey // Compar. Physiol. and Ecol. — 1985. — V. 10, № 14. — P. 183—186.
218. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four north American frog species / Ch.M. Howe [et al.] // Environ. Toxicol. and Chem. — 2004. — 23, № 8. — P. 1928—1938.
219. Webb, C. Effects of ecologically relevant doses of malathion on developing *Xenopus laevis* tadpoles / C. Webb, D.A. Crain // Bios (USA). — 2006. — 77, № 1. — P. 1—6.
220. Webber, N. Effects of aquatic and terrestrial carbaryl exposure on feeding ability, growth and survival of american toads / N. Webber, M. Boone, Ch. Distel // Environ. Toxicol. and Chem. — 2010. — 29, № 10. — P. 2323—2327.
221. Wojcik, J. Wrazliwose Kijanek *Xenopus laevis* DAUDIN i *Rana temporaria* na Tritox-30 (DDT, gamma-HCH, DMDT) / J. Wojcik, B. Ranke-Rybicka // Rocz. Panst. Zakl. Hig. — 1971. — V. 22, № 4. — P. 413—419.
222. Wu, T.H. Similarities in the effects of DDT and corticosterone on anuran larvae / T.H. Wu, T.B. Hayes, T.N. Gill // Sol. Eur. Herpetol. — 1995. — P. 108—109.
223. Zaffaroni, N.P. Effetti tocsici dell'acido 2,4-dichloro-fenossiacetico sul tritone crestato / N.P. Zaffaroni, T. Zavanella, E. Arias // Bull. Zool. — 1984. — V. 51. — P. 82.