

628.3

С-72

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
(ФГУП "АзНИИРХ")

Спивак Э.Г.

**ВЛИЯНИЕ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ
НА СОСТОЯНИЕ ОЛИГОХЕТ И СПОСОБЫ
СНИЖЕНИЯ ИХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Ростов-на-Дону
2008

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
АЗОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА
(ФГУП «АзНИИРХ»)

Спивак Э.Г.

**ВЛИЯНИЕ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ
НА СОСТОЯНИЕ ОЛИГОХЕТ И СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ
ИХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**



Ростов-на-Дону
2008

FEDERAL FISHERY AGENCY

FEDERAL STATE UNITARY ENTERPRISE

RESEARCH INSTITUTE OF THE AZOV SEA FISHERY PROBLEMS

(FGUP AzNIIRKH)

Spivak E.G.

**EFFECT OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES
ON OLIGOCHAETES AND WAYS
OF DECREASING THEIR TOXIC ACTION**

Rostov-on-Don

2008

УДК 628.394.17:632.95:595.142.3+628.394.6

ББК 52.84

Автор: **Спивак Э.Г.**, кандидат биологических наук

Рецензент: **Абросимова Н.А.**, доктор биологических наук, профессор

Влияние хлорорганических пестицидов на состояние олигохет и способы снижения их токсического воздействия/Э.Г. Спивак - Ростов-на-Дону: ООО "Диапазон", 2008.- 100 с.

В книге представлены данные изучения механизмов снижения содержания и нейтрализации хлорорганических пестицидов в грунтах и олигохетах модельной системы с помощью веществ и биологически активных соединений, встречающихся в донных отложениях, а также имитирующих повышение устойчивости биоты во время сезонных изменений в водоемах.

Положенные в основу работы материалы получены в экспериментах по отработке оптимальных параметров содержания на затравленном грунте олигохет и насыщению их линданом. Проанализировано его влияние на выживаемость, дыхание, поведение и функциональное состояние червей. Кроме того, на основе полученных материалов установлен ряд количественных характеристик по накоплению пестицидов и токсический эффект их влияния на такие функциональные показатели олигохет, как дыхание, питание, энергетический обмен, ферментативная активность.

Книга предназначена для токсикологов, гидробиологов, экологов, специалистов рыбохозяйственных организаций, студентов биологических факультетов.

ISBN 978-5-904063-02-3

© ФГУП «АзНИИРХ»

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

© Э.Г. Спивак

Author: **Spivak E.G.**, Master of Biology

Reviewer: **Abrosimova N.A.**, Dr. of Biology, Professor

Effect of organochlorine pesticides on oligochaetes and ways of decreasing their toxic action / E.G. Spivak - Rostov-on-Don: OOO "Diapazon", 2008.- 100 pp.

Simulation models were developed to study mechanisms of lowering and neutralizing the content of organochlorine pesticides in bottom sediments and oligochaetes. Substances and biologically active compounds common to bottom sediments were used in the models where the biota stability increase during seasonal changes in water bodies was simulated.

The materials presented were obtained in the tests with polluted sediments where lindan concentrations producing no effect on the oligochaetes had been assessed. The effect of lindan on oligochaetes survival, breathing, behavior and functional state of the worms was studied. Besides, we determined qualitative characteristics of the accumulation of some pesticides and revealed their toxic effect on such functional parameters of oligochaetes as breathing, feeding, metabolism and enzyme activity.

The book is intended for toxicologists, hydrobiologists, ecologists, specialists in fishery and students of biological faculties.

ISBN 978-5-904063-02-3

© FGUP "AzNIIRKH"
Federal State Unitary Enterprise
"Research Institute of the Azov Sea Fishery Problems"
© E.G. Spivak

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. ПОСЛЕДСТВИЯ ПЕСТИЦИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ.....	9
2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА.....	15
3. ОТРАБОТКА ПРИЕМОВ НАСЫЩЕНИЯ ОЛИГОХЕТ ЛИНДАНОМ ЧЕРЕЗ КОРМОВОЙ СУБСТРАТ.....	20
3.1. Основные свойства и токсикологические особенности линдана.....	20
3.2. Экологическая характеристика грунта как среды обитания олигохет.....	20
3.2.1. Гранулометрический состав.....	22
3.2.2. Соотношение неорганических и органических компонентов в грунте Таганрогского залива.....	22
3.2.3. Биологическая характеристика грунта.....	24
3.3. Эксперименты по влиянию плотности посадки и продолжительности содержания олигохет на их состояние и накопление линдана.....	26
3.4. Содержание общих каротиноидов и потребление кислорода олигохетами при воздействии линдана.....	31
3.5. Потребление общих каротиноидов и хлорофилла олигохетами при воздействии линдана.....	33
3.6. Оценка состояния олигохет по биохимическим показателям при воздействии линдана.....	34
3.7. Структурно-морфологические показатели олигохет при воздействии линдана.....	40
4. ОТРАБОТКА ПРИЕМОВ УПРАВЛЕНИЯ ДИНАМИКОЙ НАКОПЛЕНИЯ ХОП И ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ У ОЛИГОХЕТ.....	42
4.1. Механизмы снижения содержания токсикантов в грунте модельной системы.....	45

4.2. Абиотические условия проведения экспериментов с олигохетами.....	56
4.3. Экспериментальные материалы по динамике накопления хлорорганических пестицидов.....	57
4.4. Влияние физических приемов детоксикации на олигохет.....	58
4.4.1. Физиолого-энергетические показатели.....	58
4.4.2. Биохимические показатели.....	63
4.4.3. Морфологические показатели.....	67
4.5. Выведение хлорорганических пестицидов из олигохет с использованием веществ, изменяющих биохимические параметры.....	68
4.5.1. Функционально- энергетические показатели.....	68
4.5.2. Биохимические показатели.....	72
4.5.3. Морфологические показатели.....	77
4.6. Динамика содержания хлорорганических пестицидов в олигохетах при детоксикации в эксперименте.....	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	86
ЛИТЕРАТУРА.....	88
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	95

ВВЕДЕНИЕ

Среди проблем, связанных с экологической ситуацией в бассейне Азовского моря, особый интерес представляет изучение механизмов устойчивости биоты в условиях токсического прессинга. С точки зрения восстановления былой рыбопродуктивности бассейна особенно актуально исследование этого вопроса в аспекте динамики кумуляции токсикантов гидробионтами из среды обитания, передачи и накопления их по трофической цепи.

Настоящая работа посвящена изучению влияния на гидробионтов (на примере олигохет) и кумуляции наиболее распространенных среди приоритетных токсикантов – хлорорганических пестицидов (ХОП) на примере линдана и модельной шестикомпонентной смеси ХОП, а также механизмов снижения и нейтрализации этого влияния.

Следует отметить, что в донных отложениях концентрации гидрофобных ХОП значительно выше, чем в воде, что делает особенно опасными условия обитания гидробионтов в придонных биоценозах (Воловик и др., 1996; Макаров, Семенов, 1996). В связи с этим, в процессе исследований, уделено особое внимание рассмотрению токсико-резистентности биоты донных отложений как единой биологической системы. При этом рассматривалось влияние физических, биохимических и гидрологических факторов среды на устойчивость комплекса донных отложений с учетом сезонной специфики.

Учитывая недостаточную изученность и методическую разработанность затронутых проблем, а также невозможность в короткие сроки получить всеобъемлющие сведения по обсуждаемым проблемам непосредственно в бассейне Азовского моря, исследования проводились в условиях модельных экспериментов.

Работы осуществлялись в рамках отраслевых научно-технических программ Госкомрыболовства России.

Считаю необходимым выразить глубокую благодарность про-

фессору Семёнову А.Д., а также сотрудникам бывшей лаборатории санитарной гидробиологии АзНИИРХ Е.И. Аксёновой, Н.Х. Идрисовой, Г.В. Головки, В.И. Живонкиной, Е.И. Пальчиковой, Н.И. Цема, принимавших участие, наряду с автором, в проведении экспериментов.

1. ПОСЛЕДСТВИЯ ПЕСТИЦИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ

Проблема взаимодействия человека и окружающей среды имеет достаточно продолжительную историю. Особенно острой она стала в прошлом веке, когда население Земли резко увеличилось; быстрый прирост населения продолжается и сейчас. При этом отмечается увеличение численности городского населения и уменьшение сельского. Одновременно происходил рост промышленного производства. Все в большей мере стала ощущаться нехватка продовольствия, а несколько позже и чистой воды. Стало очевидным, учитывая демографические особенности, что неотложной задачей является подъем сельскохозяйственного производства. Получение стабильно высоких урожаев сельскохозяйственных растений связано с применением пестицидов, в частности ХОП, в борьбе с вредителями зерновых, зернобобовых, технических, овощных и полевых культур, а также плодовых деревьев и виноградников. Зарегистрированы случаи, когда применение пестицидов дало больший эффект, чем применение удобрений. Установлено, что использование пестицидов способствует улучшению усвоения растениями питательных веществ, что также помогает повышению урожайности. Использование пестицидов в ряде стран Европы в 1970-90-х годах дало возможность повысить урожай, в частности зерновых культур, в два раза и более (Мельников и др., 1995). Кроме того, пестициды применяются в качестве химических средств борьбы с вредителями лесных угодий.

Токсикологическое значение пестицидов обусловлено тем, что они являются, как правило, биологически активными веществами и могут действовать неблагоприятно не только на вредных насекомых, сорные растения, но и на полезных насекомых, культурные растения, домашних животных и человека. Побочный эффект широкого использования пестицидов сказывается в загрязнении внешней среды, например, - с неизбежным их попаданием в водоемы.

Неограниченное применение пестицидов довольно быстро привело в некоторых странах, особенно в США, к рассеянию их на огромных площадях сельскохозяйственных угодий. В конце 50-х годов прошлого века участились случаи массовой гибели различных видов гидробионтов. Опасность пестицидов для рыб и водных беспозвоночных обеспокоила ученых уже в результате исследований в 40-50-х годах, но только в середине 60-х годов в СССР начались интенсивные исследования отрицательных последствий применения пестицидов.

Пестициды, в отличие от других химических веществ, попадают в водоемы не столько с промышленными стоками, сколько с поверхностными. Миграции пестицидов способствует увеличение площадей орошаемого земледелия, рисосеяния и авиаобработки.

По данным ряда американских авторов, для дустов ХОП смывы дождями составляют более 60 % общего количества препарата. При обработке с помощью авиации 60-80 % вещества относится ветром за пределы обрабатываемых территорий.

Как показывают результаты исследований отечественных и зарубежных авторов, к настоящему времени все водные биоценозы Европейской и Юго-Азиатской части СНГ оказались в той или иной мере загрязненными различными пестицидами, зачастую не являясь объектами обработки.

Сохраняясь продолжительное время в водоемах, пестициды могут накапливаться в опасных для человека количествах в рыбе и водоплавающей птице.

Накапливаясь в сублетальных дозах в тканях водных организмов, пестициды проявляют себя в течение всего жизненного цикла, особенно в периоды голодовок, миграций и размножения. Массовая гибель водных организмов может наблюдаться как в результате прямого острого отравления гидробионтов, так и вследствие действия «скрытого эффекта», обусловленного накоплением ядохимикатов в половых продуктах и жизненно важных тканях и органах. В первом случае летальный исход проявляется во всех возрастных группах, во

втором, - в основном, на ранних начальных стадиях онтогенеза. Особую опасность для водных организмов представляют ХОП в связи с их способностью кумулироваться по мере продвижения по пищевым цепям от низших организмов к высшим.

Согласно схемам пелагической и донной цепей, составленным А.Ф. Карпевич (1973), в пелагиали Азовского моря используется только 25 % продукции первичного органического вещества, основной поток идет через донную пищевую цепь.

По данным А.Д. Семенова и др. (2002), максимальный уровень загрязнения пестицидами водной толщи Азовского моря был в 1988-1989 гг., донных отложений - в 1988-1990 гг. После некоторой стабилизации наметилась тенденция к снижению концентрации пестицидов. Значительное снижение концентрации ХОП в водной толще моря отмечено в 1997-1999 гг., в донных отложениях - с 1993 по 1999 гг. Однако это снижение не снимало потенциальную опасность, так как ряд ХОП относится к стойким и очень стойким препаратам. Так, ДДТ обнаружен в почве через 8-12 лет после его применения, ГХЦГ определялся на протяжении 4-12 лет, остатки линдана обнаруживали в течение от 1,0 до 4,5 лет. Характерным свойством многих ХОП является нарастание концентрации их в последующих звеньях биологической цепи. Кроме того, степень кумулятивного действия их увеличивается с уменьшением доз вещества, ежедневно попадающих в организм. ХОП, оказывающие хроническое воздействие в очень малых дозах, по этой причине наиболее опасны (Коган, 1981).

Вследствие высокой сорбционной и кумулятивной способности, значительная часть ХОП способна накапливаться в донных отложениях водоемов и в гидробионтах, и поэтому рыбы-бентофаги быстрее реагируют на загрязнение (Врочинский, 1966; Ковалева, Сергеева, 1987; Комаровский, 1987; Комаровский и др., 1988; Лукьяненко, 1992). ХОП обычно накапливаются в органах и тканях рыб, богатых липидами. Анализ уровней накопления, характера распределения и трансформации стойких ХОП (α - и γ - ГХЦГ, группа ДДТ)

в ихтиофауне реки Дунай показал накопление пестицидов во всех исследованных видах рыб, содержание которых во многих случаях превышает ПДК (Комаровский и др., 1992, 1993).

При исследовании токсичности линдана на 16 видах рыб найдена положительная линейная зависимость между содержанием липидов в организме и токсичностью линдана. При этом установлено, что липиды гидробионтов являются как бы защитным поясом против токсического действия линдана и других липофильных веществ, которые аккумулируются в них (Geyer et al., 1994).

Исследования по токсикологии пестицидов выдвигают ряд сложных теоретических и методических задач, предусматривающих изучение длительного хронического воздействия в различные периоды онтогенеза рыб. Особый интерес представляет рассмотрение воздействия токсикантов на различных стадиях раннего онтогенеза рыб, поскольку нарушение процессов сперма-ово-эмбриогенеза приводит к прекращению размножения или получению неполноценного потомства и является наиболее серьезным с точки зрения последствий для популяций. Отрицательное воздействие загрязнений в ранний период развития может быть незамеченным в начале и вследствие длительного латентного периода интоксикации окажет влияние на популяцию только в будущем. Токсическое вещество может «выхватывать» одну какую-либо стадию из общего биологического цикла, тем самым, приводя к гибели яиц, хотя этот организм на других стадиях при той же концентрации вещества будет чувствовать себя нормально. Икра - период жизни, который является решающим для выживания поколения рыб, так как именно в ранний период своего развития у многих рыб происходит наибольшая элиминация за счет нежизнеспособных особей, а качество потомства в большей мере зависит от условий эмбрионального развития (Владимиров, 1964).

Применение пестицидов наряду с другими факторами антропогенного воздействия привели к изменению экологических условий и нарушению эволюционно сложившихся связей в природе.

Наиболее наглядным последствием токсического влияния на биоту является смена видового состава биоценозов (Корпакова, Воловик, 2001). Но при любом составе биоценоза открытым остается вопрос о механизме его устойчивости в условиях существующего загрязнения. Принято считать, что новый биоценоз формируется из тех организмов, на чьи биохимические процессы конкретный токсикант не действует или в данной концентрации не угрожает их выживанию. В любом случае затрагиваются физиолого-биохимические процессы организмов.

В последнее время накоплено много данных о повреждающем действии ХОП на различные стороны жизнедеятельности гидробионтов, тем не менее разработка единой теории механизма действия этих токсикантов на организм ещё не закончена. Учитывая сложность вопроса, необходимо всестороннее исследование, позволяющее исключить возможности неблагоприятного воздействия пестицидов на потомство и другие отдаленные последствия. Поэтому развитие широких комплексных исследований в этом направлении представляется в настоящее время задачей весьма актуальной.

В доступной нам литературе не удалось найти сведения о роли химического состава донных отложений, проточности в придонном слое и других факторах внешней среды, влияющих на формирование токсикорезистентности как отдельных гидробионтов, так и их сообществ. В связи с этим, весьма значимым и интересным, на наш взгляд, является изучение взаимодействия донных отложений с бентосными гидробионтами, в частности, - олигохетами, как начальным звеном в движении токсикантов по трофической цепи. Необходимо, в том числе и с помощью модельных экспериментов, более глубокое изучение процессов кумуляции токсикантов в гидробионтах, влияния этих процессов на жизнедеятельность организма. Нужно искать эффективные способы детоксикации ХОП для создания условий нормального функционирования гидроекосистем. Так, в наших опытах с олигохетами и линданом отработаны параметры содержания червей на затравленном грунте,

что позволит в дальнейшем усложнить подобные эксперименты с целью решения более сложных задач. Проведены эксперименты по изучению механизмов снижения содержания ХОП в грунтах и олигохетах модельной системы с помощью веществ и химических соединений, встречающихся в донных отложениях, а также имитирующих повышение устойчивости биоты во время сезонных изменений в водоемах.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу выполняли в 1993 и 1994 гг. Материалом для исследований в 1993 г. послужили: грунт, отобранный в двух районах - в среднем течении р. Кизитеринка (приток р. Дон у г. Ростова-на-Дону) и в восточной части Таганрогского залива; олигохеты сем. Tubificidae рода *Limnodrilus*, отлавливаемые и доставляемые партиями из р. Кизитеринки. Всего было доставлено для опытов 5 партий олигохет с разными исходными характеристиками загрязнения. В 1994 г. использовали грунт из восточной части Таганрогского залива. Как и в 1993 г. было доставлено 5 партий олигохет с различавшимися исходными характеристиками загрязнения.

В опытах 1993 г. в качестве токсиканта использовали пестицид γ -ГХЦГ (линдан), вносимый в грунт опытных сосудов. В опытах 1994 г. в качестве токсиканта использовали шестикомпонентную смесь ХОП в концентрации 0,025 мкг/г. Состав и процентное соотношение компонентов этой смеси подобраны по аналогии с отмеченными в грунтах Таганрогского залива и приведены в таблице 1.

Таблица 1

Моделируемый состав и соотношение компонентов токсической смеси

Компоненты смеси ХОП, %					
α -ГХЦГ	β -ГХЦГ	γ -ГХЦГ	п.п. ДДТ	п.п. ДДД	п.п. ДДЕ
2,0	3,0	4,0	11,0	16,0	64,00

Исследования 1993 г. включали проведение экспериментов по отработке методики содержания олигохет в лабораторных условиях на грунте, затравленном линданом до заданной концентрации и методики его внесения.

Фоновое содержание линдана в грунте составляло 0,00035 мкг/г, в теле первой партии олигохет - 0,0012 мкг/г, второй партии - 0,025, третьей - 0,0006, четвертой - 0,0016 и в теле пятой партии

олигохет - 0,00157 мкг/г.

Опыты велись в прямоугольных литых из стекла аквариумах объемом 4 л, в которые вносили грунт, затравленный линданом, затем добавлялась отстоянная водопроводная вода и вносились олигохеты.

Испытывались две концентрации линдана: 0,00032 и 0,0044 мкг/г, что соответствовало среднему и максимальному содержанию его в грунтах Таганрогского залива. Опыты проводились в трех повторностях.

Одновременно испытывали две разные плотности посадки олигохет на грунт, обычно используемые в олигохетниках: 15 и 30 г на аквариум, что соответствует 1 и 2 кг/м² (Константинова, 1955). Количество затравленного линданом грунта с содержанием кормовых частиц вносилось из расчета 600-700 % веса олигохет и составляло 90-100 г на аквариум. Поверх грунта наливали 100-150 мл отстоянной воды. Продолжительность эксперимента составляла 10 суток.

В день постановки эксперимента, затем через 24 и 48 часов, а также на 5-е, 7-е и 10-е сутки велся контроль за состоянием червей. Ежедневно контролировались температура и pH среды. Одновременно исследовался гранулометрический состав грунта, содержание в нем органического вещества, процентное соотношение и состав населяющих его микроводорослей, содержание линдана. Анализ гранулометрического состава грунта и таксономического состава населяющих его организмов проводился с помощью микроскопа Биолам-М при увеличении 20x10 и 40x10.

Содержание органического вещества в грунте определяли по методу Е.А. Яблонской (1969).

При контроле за состоянием олигохет регистрировали их окраску, подвижность, способность собираться в колонии-комки.

Исследования, проведенные в 1994 г., включали эксперименты по отработке способов управления динамикой накопления ХОП в олигохетах путем повышения и снижения их содержания с использованием физических и биохимических приемов. При этом коэф-

коэффициенты накопления (K_n) рассчитывались как отношение концентрации пестицидов в олигохетах в день наблюдения к их исходным значениям. Коэффициенты межуровневой кумуляции ($K_{МК}$) рассчитывались как отношение концентрации пестицидов в олигохетах к концентрации их в грунте.

Эксперименты по отработке приемов регулирования содержания ХОП в теле подопытных гидробионтов проводили в аквариумах емкостью 4 л, в каждый из которых вносили по 200 г грунта, 300 мл водопроводной воды, 10г олигохет с соответствующими различным вариантам добавками.

Были поставлены 5 опытных вариантов по детоксикации ХОП физическими приемами. В 1-й вносили дополнительно активированный уголь (АУ) из расчета 100 мг на 100 г грунта; во 2-й - АУ из расчета 200 мг на 100 г грунта; в 3-й - 300 мл талой воды (вместо отстоянной); в 4-й - АУ из расчета 200 мг на 100 г грунта совместно с 300 мл талой воды и в 5-м создавалась проточность водопроводной воды со скоростью протока 10 л/час. Дозы внесения АУ выбраны с учетом рекомендаций по применению его для детоксикации почв (Рекомендации по применению активных углей..., 1990).

В опытах по снижению содержания ХОП в олигохетах биохимическими методами для оптимизации энергообмена и детоксикации ксенобиотиков на этапе гликолиза использовано внесение в среду (грунт-вода) глюкозы в концентрациях 1,55 и 3,10 мг/л с витамином B_5 в концентрациях 0,5 и 1,0 мкг/г, соответственно. Для оптимизации энергообмена и детоксикации ксенобиотиков на этапе трикарбоновых кислот - внесение янтарной кислоты в концентрациях 10 и 40 мг/л с коферментом сукцинатде-гидрогеназы (СДГ), в качестве источника которого использован витамин B_2 в концентрациях 1 и 2 мкг/г, соответственно.

Дозировки внесения глюкозы выбраны с учетом рекомендаций по приготовлению искусственных кормов для олигохет и опытов по биоразложению пестицидов активным илом; дозировки янтарной кислоты - с учетом данных по её использованию в качестве антидота

в сельском хозяйстве (Константинова, 1955; Кирюхин, 1961; Янантиева, 1964; Благовещенский, Рахманов, 1966, 1970; Джаманкулов, 1967; Благовещенский, 1968; Кефели, 1974; Жукова, 1976; Environ, 1987). Дозировки витаминов рассчитаны на единицу биомассы с учетом потребностей в них по данным Большой медицинской энциклопедии. Контролем служили олигохеты, помещенные в грунт с отстоянной водопроводной водой без каких-либо добавок. Каждый вариант обеих серий проведен в трех повторностях в течении пяти суток. Фоновое содержание ХОП в олигохетах составляло 0,009-0,025 мкг/г.

Контроль за состоянием червей в опытах по детоксикации велся в день постановки эксперимента, через сутки, на 3-и и на 5-е сутки.

Оценка результатов в экспериментах проводилась по показателям, определявшимся следующими методами:

- хроматографические данные по содержанию линдана и ХОП в грунтах и олигохетах (Методы определения микроколичеств пестицидов..., 1977; Бабкина и др., 1979);

- интенсивность дыхания олигохет по кислороду (Строганов, 1962; Алёкин и др., 1973);

- спектрофотометрические данные по содержанию в тканях олигохет дыхательных пигментов - каротиноидов (Карнаухов, 1988);

- содержание фотосинтетических пигментов в грунтах и феофитина ($C_{\text{фео}}$) в ацетоновых вытяжках из грунтов (Бульон, 1983);

- ферментативная активность организмов по динамике содержания СДГ (Бэрстон, 1965) и ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (Козловская и др., 1987);

- влажность и содержание липидов, белков и сульфгидрильных (SH-) групп в олигохетах (Бэрстон, 1965; Веревкина и др., 1977; Lowry et al., 1951);

- сухой вес грунта и олигохет в опыте (Методические указания по физиологической оценке..., 1983;

Лиманский и др., 1986);

- морфологическое состояние олигохет (Елисеев, 1967);
- физиологическое состояние и выживаемость олигохет.

Достоверность полученных данных рассчитывали методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента (Рокицкий, 1967). Активность СДГ выражалась в условных единицах и рассчитывалась по формуле:

$$A = \frac{E}{1 \text{ мг сырого веса}} \cdot 100,$$

где А - активность СДГ,

Е - оптическая плотность.

Для оценки состояния белкового обмена олигохет при токсической нагрузке проводили электрофоретическое исследование белкового состава тканевого гомогената червей. Диск-электрофорез проводили в среднепористом 10%-ном полиакриламидном геле [рН разделяющего и концентрирующего гелей, соответственно 8,9 и 6,7 - первая система по Х. Мауреру (1971)]. В экспериментах использовали прибор оригинальной конструкции для проведения электрофореза в блоке полиакриламидного геля. В каждый «карман» концентрирующего геля вносили 250-400 мкг буферорастворимого белка гомогенатов олигохет. По окончании электрофореза блоки полиакриламидного геля окрашивали и фиксировали в растворе красителя Кумасси-голубого G-250 с добавлением 5%-ной трихлоруксусной кислоты. После отмывки в растворе 7%-ной уксусной кислоты гели подсушивали на стекле между листами целлофана, затем фотографировали. Состояние белкового спектра буферорастворимых белков гомогенатов олигохет определяли по относительной электрофоретической подвижности (R_M) и изменению отдельных белковых фракций.

3. ОТРАБОТКА ПРИЕМОВ НАСЫЩЕНИЯ ОЛИГОХЕТ ЛИНДАНОМ ЧЕРЕЗ КОРМОВОЙ СУБСТРАТ

Изучение процессов накопления токсикантов и их воздействия на гидробионтов требует, прежде всего, отработки режима содержания и насыщения ими объектов исследований. Поскольку в качестве последних использовались олигохеты, сведения, приводимые в рассматриваемой главе, включают данные о свойствах и токсикологических особенностях линдана, характеристику грунта как среды обитания олигохет, а также экспериментальные данные по поиску оптимальных условий их содержания на затравленном линданом кормовом субстрате (плотности посадки, продолжительность насыщения токсикантом). Одновременно выяснялось влияние токсиканта на выживаемость, дыхание, поведение, биохимические и структурно-морфологические показатели червей.

3.1. Основные свойства и токсикологические особенности линдана

Линдан - 1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексана γ -изомер (γ -ГХЦГ, линдатокс или агрезерит) по литературным данным является высокоактивным инсектицидом из группы ХОП, обладающим широким спектром действия (Мельников и др., 1985; Справочник по пестицидам..., 1985). Представляет собой белый кристаллический порошок, устойчивый к действию света, окислителей и кислот, плохо растворимый в воде, не реагирующий с ней при обычных температурах, но хорошо растворимый в непредельных и ароматических углеводородах. Под действием щелочи и при нагревании водных растворов превращается в трихлорбензол.

По имеющимся данным, линдан вызывает гибель 50 % насекомых в дозе 0,73 мкг/г, лабораторных животных - 25 мкг/г, млекопитающих - 100-1000 мкг/г, планктонных беспозвоночных животных - 30-100 мкг/л, рыб - 0,02-0,06 мг/л (Метелев и др., 1971; Беспамятов, Кротов, 1985; Щербань, 1986). Наиболее устойчивыми к этому ток-

сиканту среди водных беспозвоночных являются моллюски, хирономиды и олигохеты. Летальные концентрации для них (по данным различных авторов) - от 2 до 25 мг/л (Корде и др., 1982; Воронкин, Лейба, 1984).

Механизм токсического действия ХОП, в том числе и линдана, связан с угнетением энергетического обмена.

Влияние линдана на фитопланктон выражается в угнетении всей системы энергетического метаболизма клеток под влиянием хлора, отщепляющегося от молекулы пестицида и в результате торможением окислительно-восстановительных процессов (Контуги, 1992).

Влияние линдана на зоопланктонный ценоз выражается, прежде всего, в снижении видового разнообразия и смене ведущих комплексов за счет угнетения репродуктивной функции отдельных видов, особенно ветвистоусых рачков (Щербань, 1986).

У олигохет под влиянием этого токсиканта установлено угнетение гидрогеназной активности тканей (Воронкин, Лейба, 1984).

Утвержденное рыбохозяйственное ПДК для линдана - его отсутствие в воде, условное - 0,00001 мг/л (Ежегодник качества поверхностных вод, 1989). Санитарно-гигиеническое ПДК для водоемов составляет 0,02 мг/л.

Анализ вышеприведенных сведений о свойствах и особенностях линдана, а также его широкое распространение в бассейне Азовского моря позволили выбрать его в качестве модельного токсиканта при проведении наших исследований.

3.2. Экологическая характеристика грунта как среды обитания олигохет

Накопление донных отложений в водоемах различного происхождения - процесс неизбежный, интенсивность которого характеризует состояние водных экосистем, седиментационные свойства водоемов, интенсивность продукционно-деструктивных процессов и, в конечном счете, качество воды. Известно, что основными ис-

точниками образования донных отложений являются растительные и животные остатки, осажденные взвешенные вещества, вносимые речными и склоновыми стоками. Кроме того, в многокомпонентной экологической системе естественных водоемов донные отложения рассматриваются как место наибольшего накопления и длительного сохранения загрязняющих веществ, в частности ХОП.

По имеющимся сведениям, тип донных отложений Азовского моря обнаруживает тенденцию к уменьшению частиц осадков от крупных алевритов в 1957 г. до глинистых - в 1990 г. (Фроленко и др., 1991).

3.2.1. Гранулометрический состав

Предварительные исследования влияния линдана на олигохет проводились с использованием грунта из р. Кизитеринка. Размеры частиц этих донных отложений были: $1,18 \pm 0,205$ на $1,21 \pm 0,175$ мкм, что позволяет отнести их к илам тонких фракций.

Микроскопирование грунта восточной части Таганрогского залива, на котором содержали олигохет, используемых в опыте, показало, что размер частиц грунта выражался величинами $1,75 \pm 1,37$ на $29,99 \pm 2,94$ мкм. Грунт из Таганрогского залива, в котором отбирались морские олигохеты с целью фоновых определений содержания в них линдана, имел ракушечный характер и состоял из частиц порядка: $70,56 \pm 2,15$ на $3,28 \pm 0,19$ мкм. Крупные частицы составили до 35 %.

3.2.2. Соотношение неорганических и органических компонентов в грунте Таганрогского залива

С целью изучения соотношения органических и минеральных веществ в грунте в процессе культивирования на нем олигохет определяли качественный его состав. Динамика содержания органического вещества в грунте в течение 5 суток представлена в таблице 2.

Содержание органического вещества в грунте, %

Номер поля зрения под микроскопом	Исходный грунт	Сутки опыта		
		1-е	3-е	5-е
1	15	15	1	5
2	10	3-5	2-5	2-5
3	9-8	10	2-5	2
4	15	15	0	2-5
5	10-12	12	2	2-5
6	1-2	2-5	0-1	2
7	1-2	8-10	0	2
8	5	2-5	0-1	2
9	10	2	0	2
10	15-20	2-5	2	5
Среднее содержание, %	9,5-10,0	7,75	1,3	3,05-3

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что нами был взят грунт с низким содержанием органического вещества (10 %). В процессе культивирования олигохет на этом грунте уже через сутки происходило снижение содержания органики до 7,75 %. На третьи сутки эксперимента содержание органического вещества снизилось в 7 раз по сравнению с исходным. На 5-е сутки количество органического вещества несколько повысилось по сравнению с таковым на третьи сутки, но оставалось ниже исходного. Это, вероятно, может быть объяснено появлением на пятые сутки бактериальной пленки на поверхности воды, покрывающей грунт и частичной гибелью олигохет (около 20 %).

Всё вышеизложенное свидетельствует о том, что содержание олигохет на «низкокалорийном» грунте более трех суток нецелесообразно.

3.2.3. Биологическая характеристика грунта

В донных отложениях р. Кизитеринки обнаружены микроводоросли численностью 800 тыс. экз./г при биомассе 0,103 мг/г (табл. 3). Альгофлора была представлена практически полностью водорослями диатомового комплекса - 96,3 % по биомассе (табл. 4).

Остальные 3,7 % были почти поровну представлены протококковыми и эвгленовыми микроводорослями (Приложение 1).

В донных отложениях этой серии обнаружены также простейшие живые организмы размером 2,34x1,20 мкм, численностью 2,13 экз./г (табл. 3).

Таблица 3

Биологический состав грунтов

Места отбора проб	Микроводоросли		Простейшие, экз./г	Каротиноиды, мкг/мг	Хлорофилл, мкг/мг
	численность, тыс. экз./г	биомасса, мг/г			
Р. Кизитеринка	800	0,103	2,13	0,013	не определ.
Таганрогский залив - грунт, на котором содержали олигохет в опыте	88	0,0055	0,50	не определ.	не определ.
Таганрогский залив - грунт из места отлова морских олигохет	182	0,0004	0	0,010	1,969

Микроскопирование грунта Таганрогского залива, на котором содержали олигохет в опыте, показало содержание микроводорослей в количестве 88 тыс. экз./г с сырой биомассой 0,0055 мг/г (см. табл. 3). Микроводоросли были представлены в основном диатомовыми (99 %). Протококковые составили 0,9, сине-зелёные - 0,1 % по биомассе (табл. 4).

Простейшие организмы обнаружены в количестве 0,5 экз./г (см. табл. 3); их размеры в среднем составили 1,5x2,5 мкм.

Таблица 4

Состав микроводорослей обследованных грунтов, %

Места отбора проб	Микроводоросли			
	диатомовые	протококковые	сине-зелёные	эвгленовые
Река Кизитеринка	96,3	1,8	-	1,9
Грунт Таганрогского залива, на котором содержали олигохет в опыте	99,0	0,9	0,1	-
Грунт Таганрогского залива - из места отлова морских олигохет	55,3	44,7	-	-

Грунт Таганрогского залива, отобранный в месте отлова олигохет, по численности микроводорослей был богаче (182 тыс. экз./г), чем использованный в эксперименте; биомасса его, однако, составила всего 0,0004 мг/г и состояла почти в равных количествах из диатомовых и протококковых водорослей (см. табл.3, 4). Спектрофотометрирование показало наличие здесь каротиноидов и хлорофилла, что также, как и присутствие микроводорослей, определяет хорошую кормность грунта для донной фауны и возможность фотосинтетической активности альгофлоры, обеспечивающей, в свою очередь, прирост кормовой биомассы растительного происхождения и фотосинтетическую аэрацию придонных слоев биоты.

Таким образом, из трех проанализированных типов грунта наиболее богатым органическим веществом и тонкофракционным илом был грунт из р. Кизитеринки, наименее богатым органическим веществом - грунт из восточной части Таганрогского залива, который использовался в опытах по затравке его линданом и содержанию на нем олигохет.

3.3. Эксперименты по влиянию плотности посадки и продолжительности содержания олигохет на их состояние и накопление линдана

Для отработки оптимальных условий насыщения олигохет линданом был проведен многофакторный эксперимент по влиянию плотности посадки и продолжительности содержания их на грунте, затравленном этим пестицидом в различных концентрациях, на состояние червей и накопление в их теле токсиканта.

Колебания температуры и рН среды на протяжении первых пяти суток эксперимента были незначительны: от 20 до 22,5 °С и от 6,5 до 7,5, соответственно. Лишь на 7-9-е сутки наблюдался сдвиг реакции среды в щелочную сторону с подъемом рН до 8-8,5.

Наблюдения за состоянием, поведением и выживаемостью олигохет показали, что отход червей в течение первых суток в обеих концентрациях линдана был незначительным и не превышал 2,3 % в варианте с более высокой плотностью посадки олигохет (табл. 5). Указанная величина находится в пределах допустимого отклонения от контроля. В варианте с меньшей плотностью посадки ни в одной из концентраций отхода не было. В течение вторых суток ни в первом, ни во втором вариантах опыта, также как и в контроле, отход не наблюдался.

Поведение олигохет, их окраска и подвижность не отличались от наблюдаемых в контроле. Лишь на 5-е сутки эксперимента отход заметно увеличился, особенно в варианте с более высокой плотностью посадки, достигая в емкостях с большей концентрацией линдана 25 %.

В опытных вариантах наблюдалось нарушение рефлекса собирания особей в комки. На 7-е сутки эксперимента во всех опытных и даже в контрольной емкости варианта с более высокой плотностью посадки олигохет наблюдалась 100%-ная их гибель. В варианте с меньшей плотностью посадки количество погибших особей колебалось от 50 % в контроле до 70 % в емкостях с более высокой концентрацией линдана (табл. 5). При дальнейшем проведении опыта наблюдалась прогрессирующая гибель олигохет, составившая на 10-е сутки 100 % как в опыте, так и в контроле. Исключение составила

одна емкость, где 10 % олигохет оказались живы, что позволило провести анализ на содержание в их теле линдана на 10-е сутки.

Основными причинами гибели олигохет при содержании их свыше 5 суток, по нашему мнению, явилось ухудшение газового режима среды, возможно за счет малой емкости аквариумов и образования бактериальной плёнки, что перекрывало токсический эффект действия линдана. В связи с этим достоверными данными влияния линдана на выживаемость олигохет можно считать только первые пять суток.

Учитывая тот факт, что в варианте с повышенной плотностью посадки состояние олигохет было значительно хуже, а отход больше, в дальнейшей работе использовалась только меньшая плотность посадки червей, соответствующая 1 кг/м^2 . Контроль за накоплением линдана в теле олигохет при указанной плотности их посадки показал, что уже через сутки после начала эксперимента в теле олигохет, содержащихся на грунте, затравленном линданом в концентрации $0,0044 \text{ мкг/г}$, зафиксировано содержание его $0,0093 \text{ мкг/г}$, на пятые сутки оно достигло $0,039 \text{ мкг/г}$. На десятые сутки зарегистрировано снижение содержания линдана в теле оставшихся в живых олигохет до $0,0068 \text{ мкг/г}$ (табл. 5).

Не вызывает сомнений, что это связано с патологическими изменениями обменных процессов в теле животных во второй половине эксперимента. У олигохет, содержащихся на грунте затравленном линданом в концентрации $0,00032 \text{ мкг/г}$, кумуляция этого пестицида не происходила. Содержание его в теле червей через сутки даже снизилось по сравнению с фоновым и составляло всего $0,0009 \text{ мкг/г}$, увеличиваясь на пятые сутки лишь до $0,0014 \text{ мкг/г}$, то есть до величины, близкой к фоновой. Описанное явление, по-видимому, связано с тем, что кумуляция линдана в теле гидробионтов возможна лишь при его концентрации в среде (в данном случае в грунте) выше фоновой в теле живого объекта. В связи с этим для дальнейших работ по накоплению линдана в теле олигохет была использована лишь более высокая из двух первоначально испытанных концентраций этого пестицида - $0,0044 \text{ мкг/г}$.

**Выживаемость олигохет в условиях содержания их на грунте
из реки Кизитеринки, затравленном линданом**

Даты отбора проб	Сутки наблюдений	Варианты	Концентрация линдана в грунте, мкг/г			Концентрация линдана в олигохетах, мкг/г	Плотность посадки	
			фоновая	вносимая	суммарная		1 кг/м ²	2 кг/м ²
27 мая	1-е	Контроль	0,00035	0,0	0,00035	0,0012	0	0
		Опыт-1	0,00035	0,00032	0,00067	0,0009	0	2,3
		Опыт-2	0,00035	0,0044	0,00475	0,0093	0	1,5
28 мая	2-е	Контроль	0,00035	0,0	0,00035	нет наблюдений	0	0
		Опыт-1	0,00035	0,00032	0,00067	нет наблюдений	0	0
		Опыт-2	0,00035	0,0044	0,00475	нет наблюдений	0	0
31 мая	5-е	Контроль	0,00035	0,0	0,00035	нет наблюдений	0	1,6
		Опыт-1	0,00035	0,00032	0,00067	0,0014	1,3	6,4
		Опыт-2	0,00035	0,0044	0,00475	0,039	7,7	25,0
2 июня	7-е	Контроль	0,00035	0,0	0,00035	нет наблюдений	50,0	100,0
		Опыт-1	0,00035	0,00032	0,00067	нет наблюдений	60,0	100,0
		Опыт-2	0,00035	0,0044	0,00475	нет наблюдений	70,0	100,0
5 июня	10-е	Контроль	0,00035	0,0	0,00035	нет наблюдений	100,0	100,0
		Опыт-1	0,00035	0,00032	0,00067	нет наблюдений	100,0	100,0
		Опыт-2	0,00035	0,0044	0,00475	0,0068	90,0	100,0

Данные по накоплению линдана в теле олигохет, содержащихся на затравленном грунте из р. Кизитеринка, подтвердились материалами, полученными при их содержании на затравленном грунте из Таганрогского залива (табл. 6).

При выдерживании на этом грунте олигохет 2-ой партии с высоким содержанием в их теле линдана (0,025 мкг/г), намного превышающем содержание его в затравленном грунте (0,0007 мкг/г), накопление этого пестицида в теле червей не происходило и даже наблюдалось снижение его концентрации, что можно было связать с выведением его из организма с продуктами метаболизма.

Таблица 6

Концентрация линдана в олигохетах и грунте из восточной части Таганрогского залива в 1993 г., мкг/кг

Даты	Сутки наблюдений	Грунт			Олигохеты	
		обнаруженная концентрация линдана	вносимая концентрация линдана	суммарная концентрация линдана	обнаруженная концентрация линдана	партии
9 июля	Фон	0,0007	0,0	0,00070	0,0250	2-я партия с высоким содержанием линдана
10 июля	1-е	0,0003	0,00032	0,00062	0,0080	
12 июля	3-и	-	-	-	0,0090	
14 июля	5-е	0,0009	0,00032	0,00122	0,0029	3-я партия
28 июля	Фон	0,0007	0,0	0,00070	0,0006	
29 июля	1-е	0,0007	0,0044	0,0051	0,0056	
29 июля	1-е	0,0007	0,0110	0,0117	0,0039	
16 августа	Фон	0,0007	0,0	0,0007	0,0016	4-я партия, истощенная
17 августа	1-е	0,0007	0,0044	0,0051	0,0024	
20 августа	Фон	0,0007	0,0	0,0007	0,00157	5-я партия
21 августа	1-е	0,0007	0,0044	0,0051	0,0022	
21 августа	1-е	0,0007	0,0066	0,0073	0,0060	

Однако заметного повышения концентрации линдана в грунте отмечено не было. Этот феномен может быть объяснен, во-первых, небольшой долей массы олигохет относительно массы грунта (1:8); во-вторых, возможным участием олигохет в частичной деструкции линдана. Содержание на том же грунте из Таганрогского залива, обогащенного линданом с концентрацией 0,0044 мкг/г, олигохетновой (3-ей) партии с низким фоновым содержанием линдана в их теле (0,0006 мкг/г) привело к увеличению его уже через 24 часа почти в 10 раз (до 0,0056 мкг/г).

При содержании олигохет 3-ей партии на этом же грунте, затравленном в 2,5 раза более высокой концентрацией линдана (0,011 мкг/г), увеличение кумуляции его в теле червей не наблюдалось, что по-видимому связано с токсическим эффектом, замедляющим все физиологические процессы, в том числе и кумуляцию линдана. В литературе имеются сведения об ингибирующем влиянии этого токсиканта на ферментативные процессы, отвечающие за накопление линдана в липидах (Воронкин, Лейба, 1984).

Олигохеты 4-й и 5-й партий имели несколько более высокое фоновое содержание линдана - 0,0016 мкг/г, близкое к таковому у 1-й партии. Однако, ввиду истощенного состояния олигохет, а также бедности органическим веществом используемого в качестве кормового субстрата грунта из Таганрогского залива, накопление линдана в теле червей этих партий шло слабо, достигая через 24 часа концентрации всего 0,0022-0,0024 мкг/г, что превышало исходную лишь на 40-50 %. Для достижения более высокой концентрации линдана в олигохетах этих партий дозировка пестицида при внесении его в грунт, служивший кормовым субстратом для червей, была увеличена в 1,5 раза, то есть до 0,0066 мкг/г. В результате этого уже через 24 часа концентрация линдана в олигохетах увеличилась до 0,006 мкг/г (см. табл. 6)

Таким образом, в результате проведенных экспериментов установлено, что олигохеты обладают способностью к кумуляции линдана. Продолжительность содержания олигохет в опытах по затравке

их линданом не должна превышать 5 суток, в течение которых наблюдаются минимальный отход червей и максимальное накопление токсиканта в их теле. Фоновая концентрация линдана в олигохетах не должна быть выше его содержания в предназначенном для за- травки грунте. Плотность посадки олигохет на затравленный грунт не должна быть выше 1 кг/м^2 (Семенов, Спивак и др., 2000).

3.4. Содержание общих каротиноидов и потребление кислорода олигохетами при воздействии линдана

Существование свободноживущих организмов в неблагоприятных условиях обеспечивается системой приспособительных реакций, осуществление которых достигается дополнительными энергозатратами. Последние соответствуют уровню окислительных процессов. В обычных условиях это происходит за счет пропорционального потребления кислорода. Однако ХОП блокируют нормальный (кислородный) путь энергетического обмена в животном организме (Мороз, Жилин, 1991). В определенном диапазоне концентраций ХОП во внешней (или во внутренней) среде адаптивно развивается эволюционно более древний тип энергетических процессов, выступающих в данном случае в качестве аварийного - за счет усиления роли общих каротиноидов (Карнаухов, 1988). В ходе наблюдений, в модельной биосистеме получены данные, полностью совпадающие с изложенным теоретическим положением. При передаче линдана в звене (грунт - олигохеты) трофической цепи обнаружено достоверное (на 58,64 % по сравнению с контрольным вариантом) угнетение потребления кислорода олигохетами уже в первые сутки экспозиции с токсикантом (табл. 7). На 5-е сутки интенсивность дыхания олигохет выражается величиной того же порядка, что и на первые - $0,730 \text{ мг O}_2/\text{г}\cdot\text{час}^{-1}$ и на 10,30 % выше, чем в контроле за это время наблюдений.

Абсолютное снижение расхода кислорода на дыхание олигохет сопровождалось адаптивным увеличением к этому времени содержания общих каротиноидов в их биомассе (табл. 8).

Потребление кислорода в условиях затравки линданом

Варианты		1-е сутки		5-е сутки	
		Потребление кислорода, мг O ₂ /г·час ⁻¹	±K, %	Потребление кислорода, мг O ₂ /г·час ⁻¹	±K, %
Олигохеты	Опыт	0,500	-58,64	0,730	+10,30
	Контроль	1,209	-	0,679	-
Грунт	Опыт	1,175	-20,95	0,456	-64,90
	Контроль	1,525	-	1,292	-

Таблица 8

Содержание каротиноидов в олигохетах

Варианты	Вносимая концентрация линдана, мкг/г	Концентрация каротиноидов, мкг/мг	
		исходная	5-е сутки
Контроль	0,0	0,0052	0,00707
Опыт	0,00032	0,0194	0,05437
	0,0044	0,0077	0,0469

Таким образом, увеличение содержания этих дыхательных пигментов в тканях обеспечивает устойчивость олигохет к исследуемому пестициду в пределах испытанных концентраций.

Донные отложения - это, как правило, сложное многокомпонентное образование. На их формирование оказывают влияние многочисленные, как внутри-, так и внешневодоемные факторы. Значительная роль принадлежит химическим и биологическим процессам в самих донных отложениях. Любое вмешательство извне нарушает естественный ход жизни грунтов. Наши наблюдения показали, что общий расход кислорода на химико-биологические процессы в грунте под влиянием линдана в концентрации 0,0044 мкг/г ингиби-

ровался в течение первых суток на 20,95 %. Это угнетение в ходе экспозиции прогрессировало и достигло на пятые сутки 64,9 % (см. табл. 7).

3.5. Потребление общих каротиноидов и хлорофилла олигохетами при воздействии линдана

Основным источником питания бентосным организмам служит органическое вещество донных отложений. На пятые сутки эксперимента по передаче линдана установлено снижение пищевой активности олигохет. К этому сроку удалось обнаружить снижение содержания общих каротиноидов в грунтах опытного варианта на 8,6 %, контрольного - на 44,4 % (табл. 9).

Таблица 9

Содержание общих каротиноидов и хлорофиллов донных отложений в процессе эксперимента

Варианты	Каротиноиды, мкг/мг	Хлорофиллы, мкг/мг				
		а	б	с	сумма	
Исходный грунт	0,0151	0,853	2,202	1,658	4,713	
5-е сутки	опыт	0,0138	1,785	2,411	0	4,196
	контроль	0,0084	1,527	1,853	0	3,380

Снижение суммарного хлорофилла за эти же 5 суток в опыте составило 10,89, в контроле - 28,30 %. Обращает на себя внимание большая потребляемость олигохетами каротиноидов, чем хлорофиллов - белково-липоидного комплекса. Отмеченное снижение концентрации кормовых фракций в грунте, при содержании олигохет, дает основание рассматривать взятую трофическую систему как многокомпонентную, приближающуюся к естественным условиям.

В пользу того, что изменения содержания фотосинтетических пигментов в донных отложениях произошли как следствие пищевой активности олигохет, а не под влиянием линдана, служат данные дополнительного эксперимента. Изучалось влияние различных концентраций линдана на численность и состояние комплекса хлорел-

лы. Оценка состояния фотосинтетических пигментов осуществлялась по интенсивности флуоресценции (табл. 10).

В варианте с концентрацией линдана почти в 20 раз более высокой, чем в эксперименте по передаче этого токсиканта в звене трофической цепи, снижение приростов численности хлореллы и изменения в состоянии пигментной системы были весьма незначительны, а отклонения величин этих показателей от контрольных лежало в пределах ошибки, допустимой для такого рода исследований.

Таблица 10

Состояние хлореллы при затравке линданом

Показатели	Контроль, абсолютные значения показателей	Опыт	
		абсолютные значения показателей	± К, %
Численность, млн кл./мл (3-и сутки)*	0,596	0,480	-19,50
Относительная интенсивность флуоресценции	1 ч	130,000	107,800
	5 ч	130,000	124,300
	24 ч	116,000	107,500

* Исходная численность - 0,35 млн кл./мл.

3.6. Оценка состояния олигохет по биохимическим показателям при воздействии линдана

Поскольку механизм накопления линдана связан с пластическим обменом организмов, при проведении работ по насыщению им олигохет представляло интерес определение содержания жира в сухом и сыром веществе их биомассы.

Содержание сухого вещества в олигохетах, используемых в наших опытах, обнаружено в пределах от 20,12 до 21,06 % (табл. 11). Эти величины незначительно выше, чем приводимые в литературе. Так, по материалам С.Б. Гарджиевой (1974), сухой вес олигохет из водоемов в районе г. Баку составляет 11,0-19,0 %.

Жирность олигохет в наших экспериментах через сутки после

затравки линданом возможно не успевала значительно изменяться. Вследствие этого, содержание жира определено в узком диапазоне 3,21-3,26 % сырого вещества и 15,3-16,0 % сухого вещества вне зависимости от количеств линдана в среде обитания. Содержание жира в биомассе олигохет в наших экспериментах было почти вдвое ниже, чем приводимое в литературе (табл. 11) и, очевидно, может быть объяснено различными условиями содержания и питания, а также бедностью органикой грунта, использованного в опытах.

О нарушениях белкового обмена в организме животных при постановке токсикологических экспериментов принято судить по изменению уровня свободных сульфгидрильных (SH-) групп в белках, содержание которых непосредственно зависит от активности окислительно-восстановительных процессов в клетке (Воронкин, Лейба, 1984). С целью увеличения точности расчета количества SH-групп были проведены определения содержания общего буферорастворимого белка в олигохетах с содержанием аккумулированного линдана в биомассе 0,0016-0,009 мкг/г сырого веса. Буферорастворимый белок в гомогенатах олигохет определен в пределах 71,5-101,8 мг/г (в среднем 79,7 мг/г) сырого веса (табл. 12). Значительный разброс полученных данных возможно обусловлен присутствием в пищеварительных трактах некоторых олигохет минеральных частиц грунта. Суммарное содержание буферорастворимого белка в гомогенатах олигохет не имело выраженной зависимости от количества аккумулированного в теле червей линдана. Содержание свободных SH-групп в буферорастворимых белках гомогенатов олигохет определено в диапазоне 29,8-51,3 мкМ SH-групп/г белка (табл. 12).

Средний уровень SH-групп в белках гомогенатов олигохет с содержанием линдана в биомассе 0,0016-0,0024 мкг/г составлял 43,8 мкМ SH-групп/г белка, а при концентрации линдана 0,0056-0,0090 мкг/г - 36,45 мкМ SH-групп/г белка. По имеющимся материалам рассчитан коэффициент ранговой коррекции - 0,51, указывающий на незначительную обратную коррелятивную зависимость уровня SH-групп от содержания линдана в биомассе олигохет.

Содержание жира и сухого вещества в олигохетах

Олигохеты, отловленные в р. Кизитеринка	Источник данных	Концентрация внесенного линдана, мкг/л	Содержание жира, % к сухому веществу	Содержание жира, % к сырому веществу	Сухой вес, % к сырому веществу
3-я партия	наши	0,0044	16,08	3,24	20,12
3-я партия	наши	0,0110	15,92	3,25	20,42
5-я партия	наши	0,0044	15,34	3,21	20,93
5-я партия	наши	0,0066	15,49	3,26	21,06
Район г. Баку	С.Б. Гарджиева, 1974	без лндана	-	5,3-7,8	11,0-19,0

Таблица 12
Биохимические показатели гомогенатов олигохет (на грунте с различными концентрациями линдана)

Даты	Сутки наблюдений	Вариант	Концентрация линдана в теле олигохет, мкг/г	Содержание буфер-растворимого белка, мг/г веса	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/г веса·час ⁻¹	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/мг белка·час ⁻¹	Суммарные SH-группы, мкМ SH-групп/г белка
10.07	1-е	Опыт	0,0080	101,8	522,0±18,3	5,13±0,18	35,3
12.07	3-и	Опыт	0,0090	75,9	429,0±10,1	5,65 ±0,13	29,8
14.07	5-е	Опыт	0,0020	94,3	757,3±20,2	8,03±0,21	51,3
04.08	1-е	Опыт	0,0056	68,0	346,0±10,7	5,09±0,16	37,7
09.08	фон	Контроль	0,0016	71,5	5 18,1± 19,5	7,25±0,27	40,2
17.08	1-е	Опыт	0,0024	75,4	555,6±8,3	7,37±0,11	41,6
20.08	фон	Контроль	0,0016	71,9	589,1 ±15,2	8,19±0,11	39,9
21.08	1-е	Опыт	0,0022	72,4	555,5±9,3	7,67±0,13	46,1
22.08	1-е	Опыт	0,0060	85,9	381,6± 17,7	4,44±0,20	43,0

Полученные в ходе исследований материалы подтверждают-ся известными из литературы данными, несмотря на то, что испы-тываемые нами концентрации линдана (от 0,0016 до 0,009 мкг/г) значительно ниже, чем в рассматриваемом литературном источни-ке: 1,0-300,0 мг/л (Воронкин, Лейба, 1984). Следует отметить, что содержание SH-групп в белках гомогенатов олигохет в значитель-ной степени может быть вызвано перераспределением белков и их фракций при токсической нагрузке. Выяснить возможные измене-ния белкового спектра при различных функциональных состояниях организма позволяют электрофоретические исследования. В наших исследованиях при дисэлектрофоретическом разделении буферора-створимых белков гомогенатов олигохет, накопивших в теле различ-ные концентрации линдана, наблюдались изменения отдельных зон белковых фракций (рис. 1) . Так, на белковых спектрах гомогена-тов олигохет, содержащих линдан в концентрации 0,008-0,009 мкг/г веса, отсутствуют зоны низкомолекулярных белков с относитель-ной электрофоретической подвижностью (R_M) 0,89-0,92. На этих же электрофореграммах отсутствует зона белка с R_M 0,59. В вариантах с концентрацией линдана 0,0016-0,0024 мкг/г наблюдается зона белка с R_M 0,8, которая отсутствует в гомогенатах олигохет, накопивших большие количества линдана. Как видим, заправка олигохет линданом в диапазоне испытанных концентраций может быть причиной изменений белкового состава вследствие изменений белкового об-мена и изоферментного спектра и подтверждается литературными данными (Вредные химические вещества..., 1990).

Как известно, линдан, как и другие ХОП, обладает сильным нейротоксическим эффектом (Вредные химические вещества..., 1990). Одним из надежных показателей состояния нервной систе-мы организмов различной эволюционной организации при стрес-сорных эффектах, вызванных разнообразными факторами, является активность АХЭ. В связи с этим в каждой постановке эксперимента определяли активность АХЭ в расчете на 1 г массы олигохет и на 1 мг буферорастворимого белка.

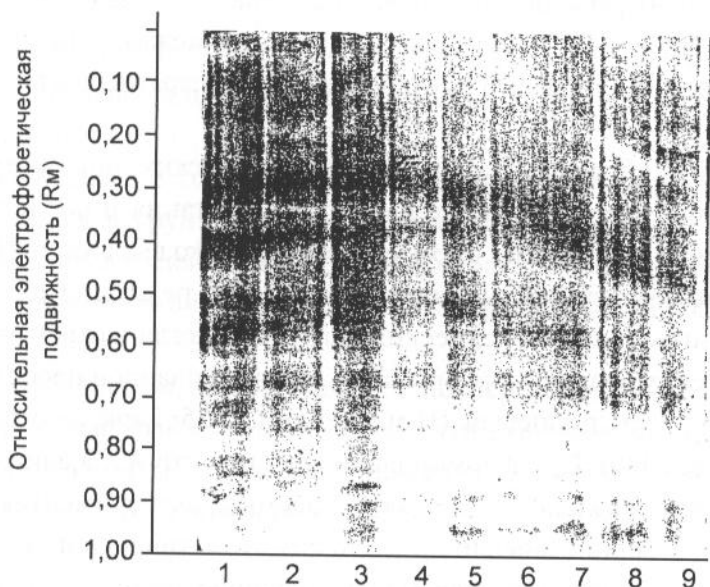


Рис.1. Электрофореграммы белков гомогенатов олигохет с различной концентрацией линдана в теле, мг/г веса олигохет

Цифрами обозначены варианты экспериментов (порядок расположения соответствует таблице 12): 1 - 0,0080; 2 - 0,0090; 3 - 0,0020; 4 - 0,0056; 5 - 0,0016; 6 - 0,0024; 7 - 0,0016; 8 - 0,0022; 9 - 0,0060.

Во всех вариантах экспериментов наблюдались достаточно высокие колебания АХЭ [от 346,0 до 757,3 мкМ ацетилхолина (АЦТХ)/г веса·час⁻¹], причем прослеживается определенная обратная зависимость степени активности АХЭ от концентрации аккумулированного в теле олигохет линдана. Так, при концентрации линдана порядка 0,0016-0,0024 мкг/г активность АХЭ определена в пределах 518,8-757,3 мкМ АЦТХ/г веса·час⁻¹. При концентрациях линдана 0,0056-0,009 мкг/г активность АХЭ не превышала 346-522 (среднее значение 419,6) мкМ АЦТХ/г веса·час⁻¹ (см. табл. 12). Следовательно, при повышении концентрации линдана в теле олигохет с 0,0016 до 0,009 мкг/г веса активность АХЭ ингибируется в среднем в 1,42 раза. Аналогичные закономерности в изменении активности АХЭ наблюдались и при пересчете фермента в мкМ АЦТХ/мг белка·час⁻¹. Причем

степень ингибирования составляла 1,52. Наблюдаемая значительная отрицательная корреляционная зависимость между концентрацией линдана в теле олигохет и активностью АХЭ выражалась величиной - 0,68.

Таким образом, изменение биохимических показателей состояния олигохет при подаче в среду их обитания и последующем накоплении линдана в их биомассе не было ярко выражено. В общих чертах это согласуется с описанной в литературе стратегией адаптации организмов при токсических нагрузках, когда в ответ на значительную силу воздействия организм отвечает плавной перестройкой метаболических процессов (Имшенецкий, 1975; Гаркави и др., 1979; Казначеев, 1980). При формировании активности АХЭ олигохет при токсическом воздействии, в обсуждаемых экспериментах имело преимущественное значение то, что симптоматически линдан влияет не только на дыхательную, но и на нервную системы. Отмеченное снижение содержания свободных SH-групп в буферорастворимых белках олигохет может быть следствием перераспределения белков и их фракций при токсической нагрузке.

3.7. Структурно-морфологические показатели олигохет при воздействии линдана

В согласовании с общей теорией адаптации, указывающей на формирование реакции организма, направленной на снижение силы токсической нагрузки, уже через 24 часа пребывания червей из р. Кизитеринка в среде с линданом наблюдались изменения. Так, кожные покровы были сильно ослизнены, что должно было препятствовать дальнейшему поступлению в организм токсикантов извне. Под влиянием токсиканта гладкомышечный слой был нарушен, что проявлялось в искривлении и разрывах волокон; изредка в полости тела были видны отдельные оторванные щетинки. Со стороны кровеносной системы иногда отмечались разрывы капилляров и небольшие кровоизлияния в полость тела. При рассмотрении продольных срезов отмечались изменения в метанефридиях, которые приоб-

ретаги выпрямленную форму. Обращало на себя внимание наличие большого количества агрегированных сгустков, представляющих, вероятно, не выводящиеся из организма продукты распада хлорогенных клеток.

Исследование олигохет, подвергавшихся действию линдана, вносившегося в грунт, взятый из Таганрогского залива, показало усиливающиеся изменения со стороны кровеносной системы, выразившиеся в возникновении значительных кровоизлияний, как точечных, так и общих.

Таким образом, анализ олигохет, подвергавшихся воздействию линдана, вносимого в грунт, показал, что выраженные нарушения отмечались на пятые сутки эксперимента; характерной чертой при этом являлись изменения в кровеносной системе олигохет.

4. ОБРАБОТКА ПРИЕМОМ УПРАВЛЕНИЯ ДИНАМИКОЙ НАКОПЛЕНИЯ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ И ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ У ОЛИГОХЕТ

Стойкие пестициды: ДДТ, ГХЦГ и другие, интенсивно применявшиеся в 50-80-е годы, вошли в круговорот веществ почвы и вод. Довольно высоким уровень загрязнения толщи воды и донных отложений Азовского моря и Нижнего Дона остается и в настоящее время (Семенов и др., 2002). Наметившаяся в 1997-1999 гг. тенденция снижения содержания ХОП в воде и донных отложениях водоемов привела к необходимости изучения влияния на гидробионтов сублетальных концентраций ХОП, кумуляции и передачи их по трофической цепи. Полученные в предыдущей главе материалы продемонстрировали отрицательное влияние ХОП на жизнедеятельность бентосных организмов. В этой связи возникают вопросы о познании механизмов устойчивости бентосного ценоза естественных водоемов в условиях хронического токсического пресса и, исходя из этого, возможности снижения токсического воздействия на бентосных гидробионтов.

Донные отложения водоемов являются местом накопления различных загрязняющих веществ, в том числе и пестицидов. Основная масса их остается надолго захороненной до полного распада. Поступающие в водоемы токсические соединения накапливаются в донных отложениях и включаются в пищевые цепи через бентосные организмы. Большая роль в этом процессе принадлежит малощетинковым червям класса *Oligochaeta* (Ковалева, Сергеева, 1983; Моложанова, Осокина, 1991). Кроме того, бентосные организмы способствуют перемещению хлороорганических соединений из глубоких слоев грунта на поверхность с фекалиями, что создает опасность вторичного загрязнения водоемов.

Донные отложения представляют собой сложную многокомпонентную систему, состоящую из воды, органических, минеральных и газообразных веществ (Воронкин, Лейба, 1984). Соотношение

последних меняется в различных водоемах, определяя их функциональную специфику. По данным отечественных и зарубежных исследователей в составе донных отложений обнаружены, иногда в значительных количествах, мальтоза, сахароза, арибиноза, фруктоза, галактоза, рибоза, глюкоза (Vallentyne, Bidwell, 1956; Whittaker, Vallentyne, 1957); летучие жирные кислоты, способствующие растворению ХОП (Омелянский, 1953); органические кислоты: муравьиная, уксусная, масляная, пропионовая, валериановая, капроновая – от десятых долей до нескольких сот мг на 1 кг сырой массы (Сперанская, 1935); витамины, в том числе большие количества B_{12} .

По данным Л.И. Толоконниковой (1983), в Таганрогском заливе основная часть донных отложений представлена алевритовыми илами. Химический анализ грунтов, проведенный Т.И. Горшковой (1955) показал, что минеральная часть осадков Азовского моря образуется в основном за счет взвешенных частиц, выносимых из Дона, и представлена глинистыми, минеральными частицами и, в небольшом количестве, кварцами. Органогенная часть осадков формируется из обломков кремневых, известковых и хитиновых частиц. Как показали исследования Т.И. Горшковой (1955), в органическом веществе осадков Азовского моря 47-63 % - лигнино-гумусный комплекс, 5-10 % - углерод сахаров и гемицеллюлоза и 4,6-14 % - клетчатка.

В нижерасположенные слои дна органическое вещество может попадать лишь в результате диффузии, переноса олигохетами, перемешивания или с фекалиями бентосных рыб (Robbins, 1981).

Благодаря накоплению в донных отложениях минеральных и органических соединений, здесь создается питательная среда для развития бактерий и первичного продуцирования, обеспечиваемого в значительной мере микроводорослями.

В донных отложениях водоемов ежедневно разрушается от 14 до 1050 мг C/m^2 органического вещества (Кокшин, 1939). При этом ведущая роль принадлежит микроорганизмам. Их активность в большой мере определяется содержанием в окружающей среде

органики. В частности, В.И. Романенко (1985) приводит данные по интенсификации этого процесса в присутствии глюкозы концентрацией от 0,0011 до 0,0094 мкг С/60 мл.

В связи с вышеизложенным представляет интерес изучение влияния ряда веществ и биологически активных соединений, из тех, что встречаются в грунтах водоемов, на токсикорезистентность биоценозов донных отложений.

В качестве физических приемов детоксикации использованы активированный древесный уголь, талая (структурированная) вода и создание условий проточности. Активированный уголь (АУ) используется в механических и биологических фильтрах, а также в медицине и ветеринарии перорально при отравлении. АУ получают из различных видов органического сырья: торфа, бурого и каменного угля, лигнина и других веществ путем их карбонизации и последующей активации (Рекомендации по применению активных углей..., 1990). В качестве метода активации наиболее широко применяется парогазовая активация, в процессе которой в угле происходит развитие пористого пространства. Внутри последнего и сорбируется пестицид, что резко ограничивает его негативное воздействие.

Судя по имеющимся публикациям, талая вода не содержит тяжелого водорода – дейтерия, который подавляет нормальные биологические процессы; она гораздо легче обычной вступает в соединения с органическими веществами (Лакшина, 1992). Процесс замерзания стирает из информационной памяти талой воды сведения о присутствии в ней токсиканта, и при оттаивании она становится информационно чистой (Сергеев, 1990).

Положительным эффектом в детоксикации ХОП обладает также проточная вода. Условия проточности, помимо выравнивания температурных и других гидрологических градиентов, обуславливают вымывание и вынос продуктов метаболизма с поверхности тела и из среды обитания гидробионтов (Константинов, 1972).

Наряду с физическими приемами детоксикации несомненной эффективностью обладают биохимические, основанные на стимуля-

ции энергетического обмена организмов и повышении их резистентности. В опытах по снижению содержания ХОП биохимическими приемами апробировано внесение глюкозы и янтарной кислоты в сочетании с витаминами группы В. Важнейшим механизмом при детоксикации чужеродных веществ у животных, при действии глюкозы, является глюкуроновая конъюгация, то есть соединение ксенобиотика с глюкуроновой кислотой, источником которой является активированная при участии аденозинтрифосфорной (АТФ) кислоты глюкоза и ее предшественники (Лукияненко, 1983). Внесение в качестве антидота янтарной кислоты (или ее солей - сукцинатов) основано на снижении под ее влиянием энергетического барьера ферментативных реакций и увеличение скорости окислительно-восстановительных процессов в организме. Кроме того, как установил Сент-Дьерди (цит. по Krebs, 1957), такие кислоты как янтарная, фумаровая и щавелевоуксусная усиливают каталитическим образом тканевое дыхание и особенно окисление пировиноградной кислоты (Мороз, 1987; Straub, 1939; Krebs, 1957).

4.1. Механизмы снижения содержания токсикантов в грунте модельной системы

В лабораторных емкостях наблюдаемый нами эффект детоксикации не ограничивался лишь олигохетами, а сказывался также и на состоянии среды, в частности, - контролируемого в эксперименте грунта. Суммарный эффект влияния детоксикации на деструкционные процессы в донных отложениях хорошо иллюстрируется уровнем потребления кислорода. Наблюдения за потреблением кислорода донными отложениями на пятые сутки показали, что из четырех вариантов физических приемов наибольший эффект влияния на кислородный баланс, также как и на червей, отмечался при совместном воздействии АУ и талой воды, повышая потребление кислорода на 20 % по сравнению с контролем. Такой же эффект отмечался с внесением 200 мг угля. И лишь в варианте с меньшей концентрацией угля стимуляции дыхания грунта не отмечено (рис. 2). Изъя-

тие фекалий олигохет из грунта в наших экспериментах повысило эффект детоксикации грунта за счет усиления его дыхания (рис. 2). При этом в варианте с внесением талой воды и угля интенсивность дыхания усилилась, достигая 180 % по сравнению с контролем; в варианте с талой водой без добавок угля расход кислорода усилился на 125 % по сравнению с контролем. И лишь в варианте с меньшей концентрацией угля зарегистрировано угнетение расхода кислорода на 30 % (как с удалением, так и без удаления фекалий).

мгО₂/г.час

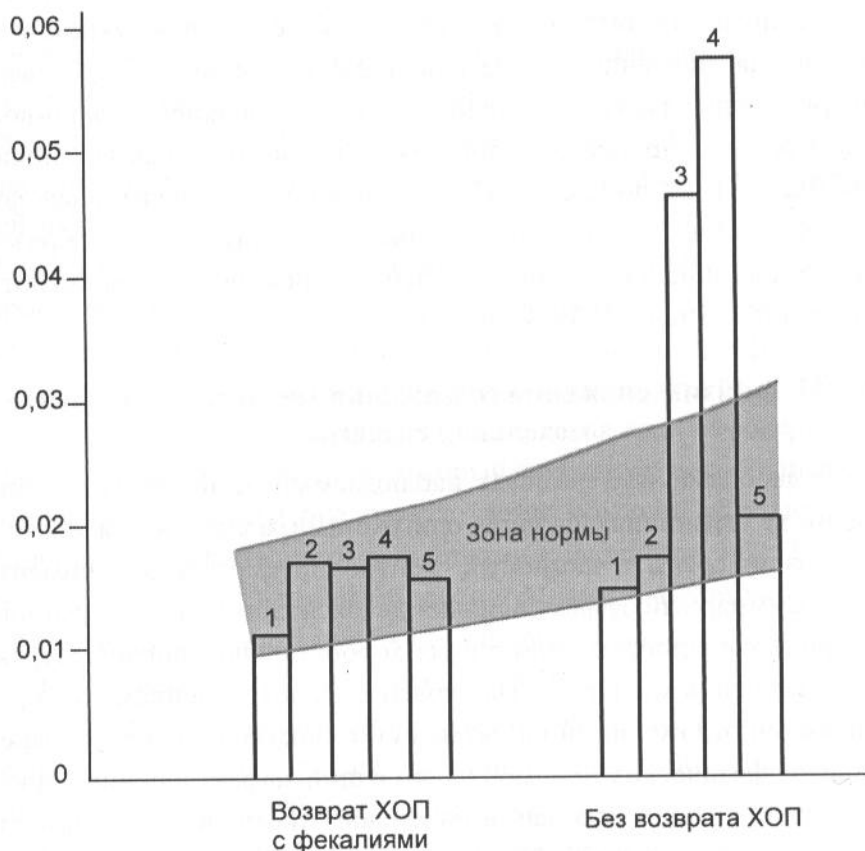


Рис. 2. Дыхание грунта, 5-е сутки

1 – активированный уголь, 100 мг/100 г; 2 – активированный уголь, 200 мг/100 г; 3 – талая вода; 4 – талая вода с углем; 5 – контроль.

В соответствии с классификацией донных отложений, использованный в экспериментальных емкостях ил имел все признаки экранирующего слоя, концентрирующего все попадающие сюда частицы минерального или органического происхождения, которые здесь разрушаются (Романенко, 1985).

Как показали наши исследования, во всех модельных системах соотношение групп хлорофиллов складывалось в пользу хлорофилла «с», что указывает на доминирование в фитоценозе диатомовых микроводорослей. Последние, как известно, имеют высокое содержание жира, что позволяет им хорошо накапливать ХОП и передавать их по пищевой цепи. Пигментный индекс бентосного фитоценоза был наиболее высоким в варианте с талой водой, достигая на пятые сутки величины 3,86 по сравнению с 0,61 в контрольном варианте, что свидетельствует об усилении здесь, за счет процессов детоксикации, первичного продуцирования (табл. 13). Суммарный хлорофилл при этом достигал максимальной величины – 554,6 мкг/г сырого веса. В вариантах с углем пигментный индекс оставался на уровне величин контроля.

Содержание общих каротиноидов грунта в условиях опыта обнаружило достоверные изменения лишь при изъятии из него фекалий олигохет и только в варианте с талой водой увеличивалось на 163,7 % по сравнению с контролем (рис. 3).

В последующих опытах нами экспериментально проконтролировано влияние янтарной кислоты, глюкозы и витаминов В₂ и В₅ на функциональные особенности модельного донного ценоза и, в связи с этим, динамику содержания в нем ХОП.

Во второй серии экспериментов с антидотами биохимической природы, так же как и в предыдущих опытах, суммарный эффект деструкционных процессов в воде и донных отложениях также оценивали по потреблению кислорода.

Содержание хлорофиллов в донных отложениях, мкг/г

Варианты	С фекалиями (возврат ХОП)				Без фекалий (без возврата ХОП)							
	Лигментный индекс	Хлорофиллы, % от их суммы			Лигментный индекс	Хлорофиллы, % от их суммы						
		"а"	"б"	"с"		Сумма хлорофиллов мкг/г	±К, %	Сумма хлорофиллов				
								"а"	"б"	"с"	мкг/г	±К, %
Уголь, 100 мг/100 г	0,62	16,45	21,59	61,96	56,24	-74,48	0,57	15,11	48,36	36,53	205,00	-3,20
Уголь, 200 мг/100 г	0,40	35,60	18,22	46,18	40,95	-81,42	0,48	14,21	21,65	64,14	291,81	+37,76
Талая вода	3,86	5,06	14,56	80,38	42,09	-80,91	1,41	12,26	17,93	69,81	554,62	+161,84
Талая вода с углем, 200 мг на 100 г грунта	0,98	14,57	27,42	58,01	171,65	-22,12	0,50	18,51	11,76	69,73	132,44	-37,48
Контроль	0,61	22,51	23,31	54,18	220,41	-	0,92	10,69	18,13	71,18	211,82	-

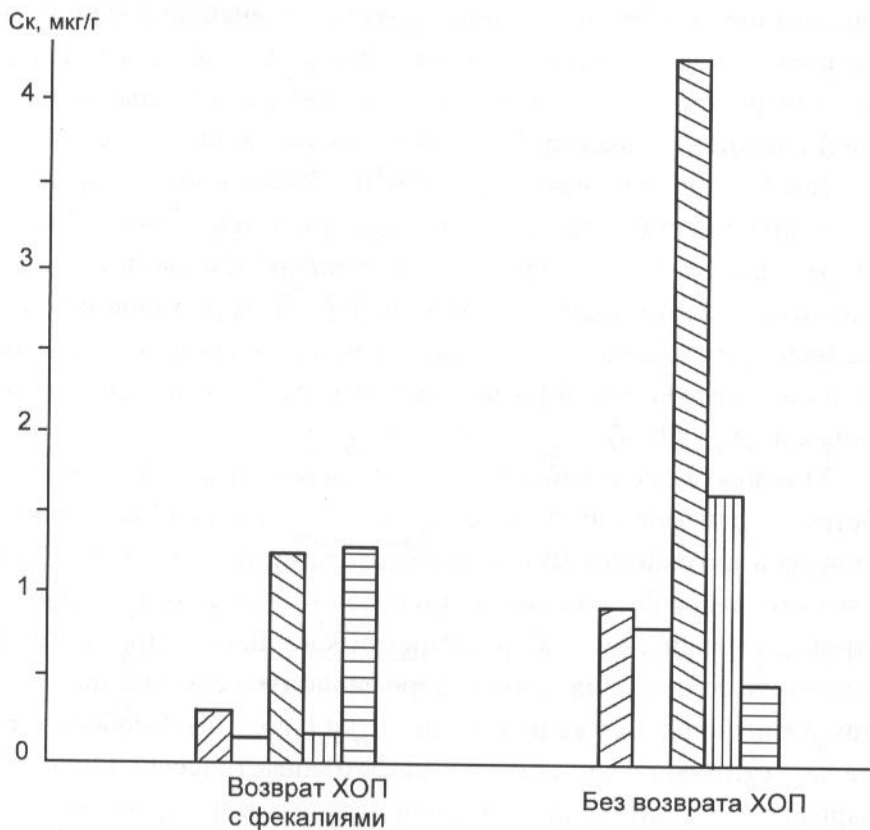
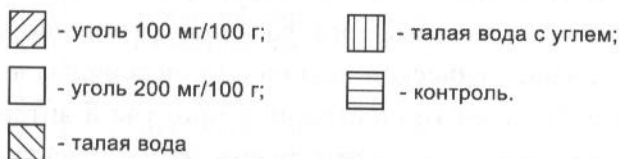


Рис. 3. Общие каротиноиды в иле, 5-е сутки



Расход на дыхание природного, без каких-либо добавок, ила, по нашим наблюдениям, составил величины от 0,0048 до 0,0098 мг O_2 /мг·час. Причем интенсивность «дыхания» ила в значительной мере зависела от температуры окружающей среды, чему способствовал недостаточно большой в эксперименте слой воды над илом – 1,5-2,0 см. В условиях опыта потребление кислорода илом к пятым суткам

увеличивалось в четыре с лишним раза по сравнению с фоновыми величинами. Характерно увеличение расхода кислорода по сравнению с контролем в вариантах с более высокими концентрациями янтарной кислоты и глюкозы: 15,4 и 103,9 %, соответственно.

Такой эффект в значительной мере связан с интенсификацией дыхания микрофлоры, развитие которой усиливается на таком субстрате как глюкоза в ещё большей степени, чем дыхание беспозвоночных. Таким образом, расход кислорода на дыхание ила обуславливает повышение уровня деструкционных процессов, обеспечивающих более высокий уровень жизнедеятельности всего экотопа (Спивак и др., 1995 б).

Микроводорослевый комплекс донных отложений также способствует трансформации вещества и энергии в ценозе. О физиологической активности микрофитобентоса судили по содержанию фотосинтетических пигментов. Отмечено значительное развитие микроводорослей в иле лабораторных емкостей, регистрируемое по увеличению содержания суммы хлорофиллов во всех опытных вариантах и контрольном уже на первые сутки (табл. 14). Особенно значительно стимулирование комплекса фотосинтетических пигментов в вариантах с минимальными концентрациями янтарной кислоты и глюкозы – на 472,98 и 239,1% по сравнению с фоновыми величинами соответственно. К концу пятых суток экспозиции эта тенденция сохраняется и, кроме того, развивается хорошо выраженная стимуляция физиологической активности первичных продуцентов в вариантах с большей концентрацией глюкозы и янтарной кислоты, что подтверждается высокими значениями пигментного индекса 2,0-2,69 (табл. 14).

В иле всех вариантов с органическими добавками обнаружены в составе хлорофильного комплекса заметные количества хлорофилла "с". Особенно сильно это выражено к концу пятых суток в варианте с содержанием янтарной кислоты 40 мг/л и глюкозы 1,55 мг/л + В₅ (рис. 4). Такое соотношение хлорофиллов указывает на преобладание в биосистеме микроводорослей диатомового сообщества.

Фотосинтетические пигменты в иле и фекалиях олигохет в опытах по детоксикации

Варианты	Сутки наблюдений											
	1-е				5-е				5-е			
	Ил		Ил		Ил		Ил		Фекалии		Фекалии	
	Σ хлорофилла, мкг/л	концентрация каротиноидов, мкг/л	концентрация феофитина, %	пигментный индекс	Σ хлорофилла, мкг/л	концентрация каротиноидов, мкг/л	концентрация феофитина, %	пигментный индекс	Σ хлорофилла, мкг/л	концентрация каротиноидов, мкг/л	концентрация феофитина, %	пигментный индекс
Фон	22,65	0,824	3,39	3,42	22,65	0,824	3,39	3,42	-	-	-	-
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	129,78	1,47	3,84	4,71	89,11	0,555	1,81	0,76	62,73	0,677	2,20	1,44
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	46,26	1,45	1,64	3,33	42,12	1,042	1,26	2,69	131,46	0,839	2,75	0,85
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	76,80	1,60	2,68	2,00	85,54	0,591	2,71	1,13	156,70	0,772	2,84	0,82
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	31,78	0,53	0,56	0,86	90,83	0,847	2,05	2,00	89,36	0,630	2,33	1,00
Контроль	48,88	0,57	1,56	1,00	60,66	1,027	0,93	2,53	73,08	1,008	1,39	2,00

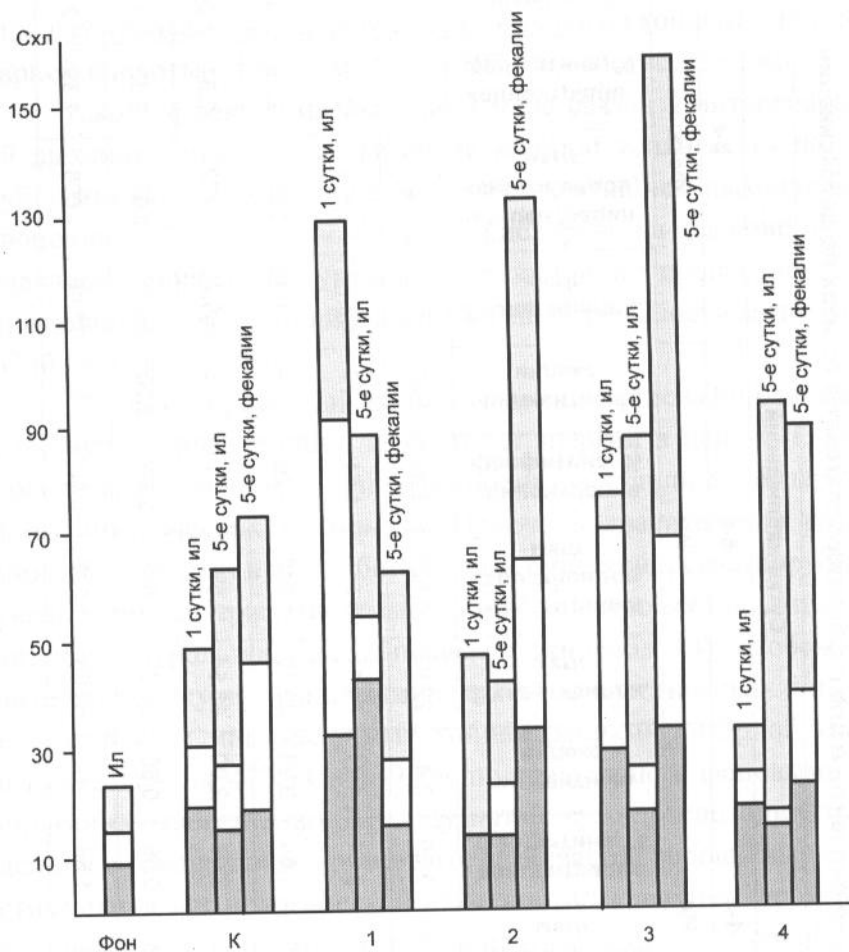


Рис. 4. Содержание суммы хлорофиллов и их соотношение

К – контроль, без добавок; 1 – янтарная кислота 10 мг + 1 мкг V_2 ; 2 – янтарная кислота 40 мг + 2 мкг V_2 ; 3 – глюкоза 1,55 мг/л + V_5 ; 4 – глюкоза 3,1 мг/л + V_5 .

■ - хлорофилл "а"; □ - хлорофилл "б"; ▨ - хлорофилл "с".

Содержание в иле пигментов хлорофильной и каротиноидной природы в значительной мере зависит от пищевой активности донных животных. Как показали наблюдения, хлорофилл "с" усваивался плохо, о чем свидетельствует более высокое его содержание в фекалиях олигохет опытных вариантов по сравнению с исходным содержанием в иле и в фекалиях олигохет контрольных вариантов (см. рис. 4, рис. 5). Вероятно, пищевые потребности олигохет удовлетворялись, в основном, за счет хлорофилла "а".

Ск, мкг/г

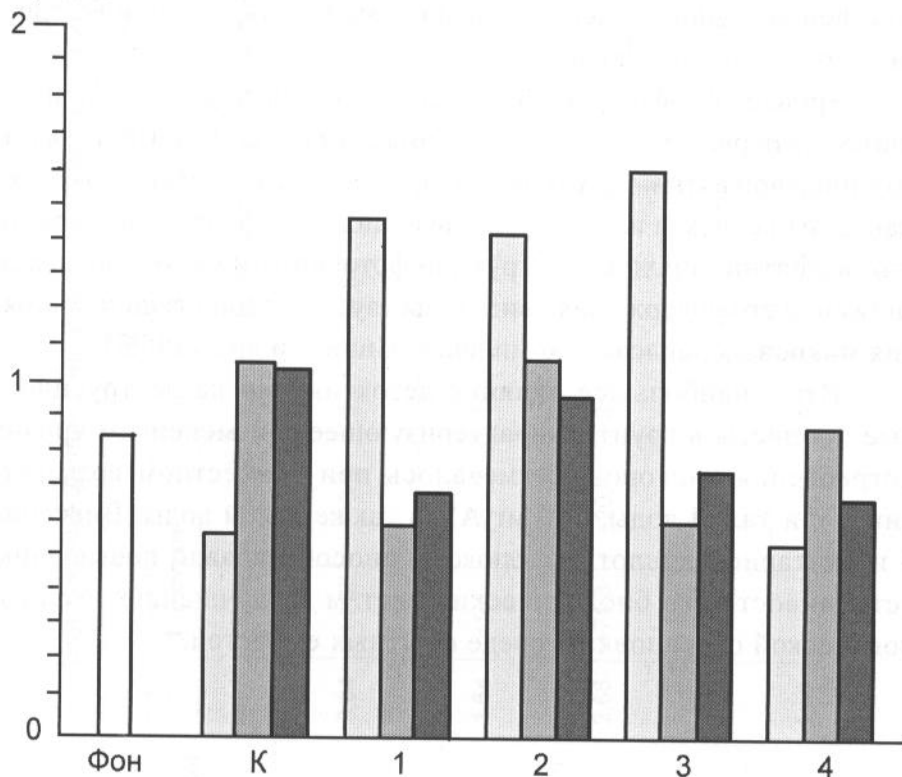


Рис. 5. Общие каротиноиды в иле и в фекалиях олигохет

К – контроль, без добавок; 1 – янтарная кислота 10 мг + V_2 ; 2 – янтарная кислота 40 мг + V_2 ; 3 – глюкоза 1,55 мг/л; 4 – глюкоза 3,1 мг/л.

□ - 1-е сутки, ил; ▒ - 5-е сутки, ил; ■ - 5-е сутки, фекалии.

Содержание общих каротиноидов в донных отложениях имело тенденцию к увеличению по сравнению с фоновой величиной на первые сутки. К пятым суткам содержание каротиноидов снизилось, что может быть свидетельством стабилизации токсикологической ситуации в иле опытных емкостей. Содержание общих каротиноидов в фекалиях олигохет было невысоким - на уровне фоновых величин (см. рис. 5). Таким образом, снижение содержания общих каротиноидов на пятые сутки во всех вариантах произошло как за счет пищевой активности экспериментальных животных, так и вследствие нормализации условий среды.

Уровень феофитина в иле опытных вариантов с янтарной кислотой от первых к пятым суткам снижался (табл. 15), что не связано с пищевой активностью олигохет, в фекалиях которых его содержание выше, чем в иле соответствующих вариантов. Учитывая то, что феофитин - продукт деструкции фотосинтетического аппарата, снижение его содержания свидетельствует о стабилизации состояния микроводорослевого комплекса (Спивак и др., 1995 б).

Итак, наибольшее влияние детоксикации на деструкционные процессы в грунте, характеризующееся изменением уровня потребления кислорода, отмечалось при совместном воздействии АУ и талой воды, 200 мг АУ, а также талой воды. Внесение в ил янтарной кислоты и глюкозы способствовало повышению устойчивости его биологических систем и улучшению токсикологической обстановки в среде опытных емкостей.

Содержание феофитина в иле и в фекалиях олигохет

Варианты	Фон	Ил										Фекалии	
		1-е сутки					5-е сутки					5-е сутки	
		мкг/г	± К, %	± Фон, %	мкг/г	± К, %	± Фон, %	±1-е сутки, %	мкг/г	± Фон, %	± К, %		
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂		3,84	+14,62	+13,3	1,81	+94,6	-46,6	-52,9	2,20	-35,1	+58,3		
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂		1,64	+5,1	-51,6	1,26	+35,5	-62,8	-23,2	2,75	-18,9	+97,9		
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	3,39	2,68	+71,8	-20,9	2,71	+191,4	-20,1	+ 1,1	2,84	-16,2	+104,3		
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅		0,56	-64,1	-83,5	2,05	+120,4	-39,5	+266,1	2,33	-31,3	+67,6		
Контроль		1,56	-	-54,0	0,93	-	-72,6	-40,4	1,39	-58,9	-		

4.2. Абиотические условия проведения экспериментов с олигохетами

Микроскопирование взятого из Таганрогского залива в 1994 г. грунта показало, что средний размер его частиц составлял $13,1 \times 10,0 \pm 1,4$ мкм, характеризуя его как ил мелких фракций. В исследуемом грунте обнаружены микроводоросли, преимущественно диатомовые (95 %), общей численностью 42 тыс. экз./г при биомассе 0,0027 мг/г. Кроме того, в грунте обнаружены бактерии и простейшие.

Фоновое содержание ХОП в исследуемом грунте составляло 0,0103 мкг/г. Данные по содержанию кислорода, рН и температуры воды в опытных емкостях в экспериментах по детоксикации олигохет приведены в таблице 16.

Таблица 16

Основные абиотические условия

Методы детоксикации	Варианты	Содержание O ₂ , мг/л		рН		Температура воды, °С
		Сутки наблюдений				
		1-е	5-е	1-е	5-е	
Физические	Уголь 100 мг/100 г	0,42	0,63	-	7,0	22,5-25,0
	Уголь 200 мг/100 г	0,51	0,64	-	6,5	22,5-25,0
	Талая вода	0,58	0,59	-	7,0	22,5-25,0
	Талая вода + уголь 200 мг/100 г	0,74	0,59		6,5	22,5-25,0
	Проточная вода	10,00	10,50	-	7,0	22,5-23,0
	Контроль	0,50	0,55	-	7,0	22,5-25,0
Биохимические	Янтарная к-та 10 мг/л + V ₂	0,32	0,70	8,0	8,0	21,0-23,0
	Янтарная к-та 40 мг/л + V ₂	0,27	0,82	7,9	7,4	21,0-23,0
	Глюкоза 1,55 мг/л + V ₅	0,17	0,47	8,0	7,9	21,0-23,0
	Глюкоза 3,1 мг/л + V ₅	0,17	0,35	8,0	8,0	21,0-23,0
	Контроль	0,50	0,75	7,9	8,0	21,0-23,0

Как видно из таблицы, температура воды во время опытов по детоксикации колебалась в узком диапазоне: при использовании физических методов в основном от 22,5 до 25 °С, при использовании биохимических методов - от 21 до 23 °С. Содержание растворенного кислорода в слое воды над илом на протяжении обеих серий экспериментов было низким. При использовании физических методов оно колебалось незначительно и в опытных емкостях было близким к контрольным показателям, превышая их на пятые сутки в вариантах с АУ на 10-12 %. В варианте с проточной водой содержание кислорода было на порядок выше и на протяжении пяти суток подерживалось на уровне 10,0-10,5 мг/л.

Во второй серии экспериментов отрицательное влияние на кислородный режим отмечено в вариантах с внесением глюкозы, особенно с большей её концентрацией. В вариантах с янтарной кислотой кислородный режим мало отличался от регистрируемого в контроле, находясь в диапазоне 0,27-0,32 мг/л в начале эксперимента при более высоких температурах и 0,70-0,82 мг/л - в конце его при менее высоких температурах.

Уровень рН в опытах с физическими методами детоксикации находился в узком диапазоне: от 6,5 до 7; с биохимическими - в пределах 7,4-8. Наиболее кислой среда была в присутствии янтарной кислоты концентрацией 40 мг/л. На уровне 7 рН держалась в проточной воде и в контроле. В присутствии глюкозы рН имела более щелочной характер - 8 (см. табл. 16). В целом, эксперименты с олигохетами проводились в условиях, близких для естественной среды их обитания.

4.3. Экспериментальные материалы по динамике накопления хлорорганических пестицидов

С целью выяснения динамики накопления пестицидов в олигохетах поставлен опыт с дополнительным внесением в грунт ХОП в концентрации 0,025 мкг/г. Опыт проведен в трех повторностях с контролем. Данные по динамике содержания и накопления ХОП в

теле олигохет, а также олигохет, находившихся на грунте с фоновой концентрацией ХОП 0,0103 мкг/г без дополнительного их внесения приведены в таблице 17.

Таблица 17

Динамика накопления ХОП в олигохетах через 24 часа

Варианты	1-я партия олигохет					2-я партия олигохет			
	Сумма ХОП в грунте, мкг/г	Сумма ХОП в фоне олигохет, мкг/г	Сумма ХОП в олигохетах в олигохетах через 24 часа, мкг/г	K_{mk}	K_n	Сумма ХОП в фоне олигохет, мкг/г	Сумма ХОП в олигохетах в олигохетах через 24 часа, мкг/г	K_{mk}	K_n
Затравка грунта суммой ХОП	0,0353	0,0247	0,0444	1,3	1,8	0,0088	0,0247	0,7	2,8
Грунт без затравки	0,0103	0,0247	0,0287	2,8	1,1	0,0088	0,0227	2,3	2,6

Как видно из таблицы, олигохеты обладают кумулятивной способностью по отношению к пестицидам и характеризуются коэффициентами суточного накопления ХОП от 1,1 на грунте без дополнительного их внесения до 2,8 - в грунте с дополнительным внесением ХОП. Интересно отметить, что коэффициенты кумуляции пестицидов у олигохет находятся в обратной зависимости от концентрации их в грунте. Последнее делает весьма опасными невысокие концентрации пестицидов в среде обитания, особенно при последующей их передаче по трофической цепи (Спивак и др., 1996).

4.4. Влияние физических приемов детоксикации на олигохет

4.4.1. Физиолого-энергетические показатели

Как известно, среди показателей состояния организмов наиболее лабильными, первыми, откликающимися на изменения состояния среды, являются физиолого-энергетические, такие как дыхание,

питание, ферментативная активность.

Анализ полученных материалов показал, что снижению концентрации ХОП в олигохетах предшествует улучшение их состояния, которое отмечается уже через сутки. Наиболее заметно эффект детоксикации проявляется в варианте совместного использования талой воды с активированным углем. Как видно из рисунка 6, дыхание олигохет активизировалось в варианте с талой водой по сравнению с контролем уже на 1-е сутки.

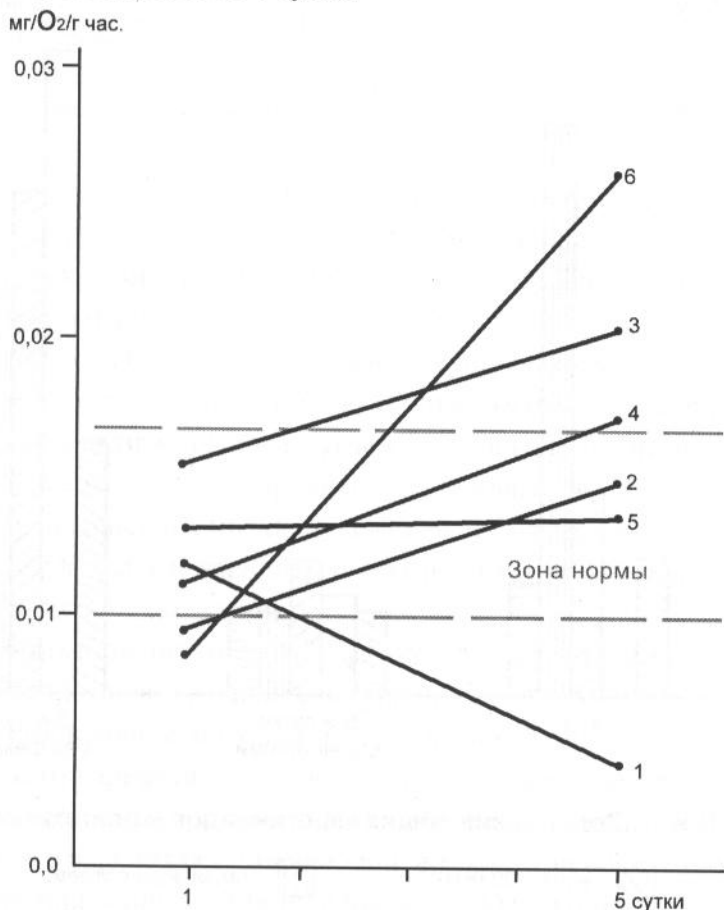


Рис. 6. Дыхание олигохет в опытах по детоксикации

1 - уголь, 100 мг; 2 - уголь, 200 мг; 3 - талая вода; 4 - талая вода + уголь 200 мг; 5 - контроль; 6 - проточная вода.

В остальных вариантах дыхание их было в пределах зоны нормы. Наиболее чувствительным показателем дыхательной активности олигохет является содержание в них каротиноидов, которые дали мощную вспышку уже на первые сутки в вариантах: с талой водой и активированным углем - 3,984 мкг/г, с талой водой - 1,32 мкг/г, увеличившись по сравнению с контролем на 373 и 56 %, соответственно (табл. 18, рис. 7).

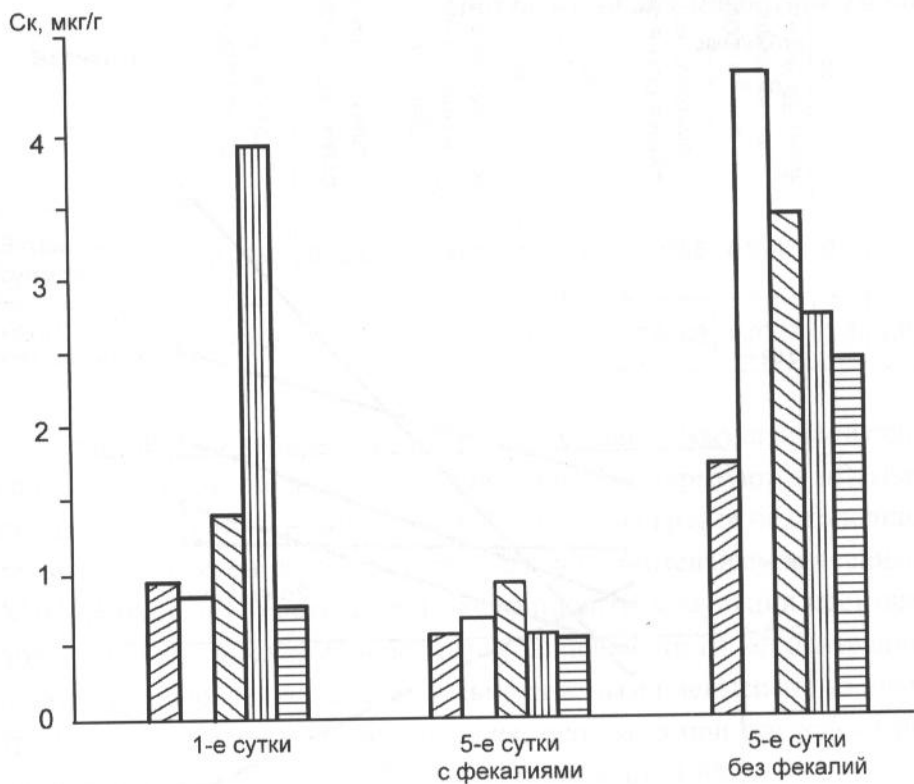


Рис. 7. Содержание общих каротиноидов в олигохетах

- уголь 100 мг/100 г;
- талая вода с углем;
- уголь 200 мг/100 г;
- контроль.
- талая вода

Содержание общих каротиноидов при детоксикации

Варианты детоксикации	С фекалиями				Без фекалий	
	1-е сутки		5-е сутки		5-е сутки	
	мкг/г	± К, %	мкг/г	± К, %	мкг/г	± К, %
Уголь 100 мг/100 г	0,964	+14,5	0,59	-15,7	1,909	-
Уголь 200 мг/100 г	0,917	+8,9	0,63	-10,0	4,186	+75,2
Талая вода	1,320	+56,8	0,90	+28,6	3,289	+37,6
Талая вода + уголь 200 мг/100 г	3,984	+373,8	0,75	+7,2	2,63	+10,1
Проточная вода	0,84	-	-	-	4,27	+78,7

Количество интенсивно питающихся особей олигохет в варианте с талой водой и углем было значительно выше, чем в контроле. Время прохождения пищи увеличилось с 1,9 до 2,8 минут, что свидетельствует об улучшении условий питания.

На пятые сутки эксперимента наилучшие показатели снижения содержания токсикантов в олигохетах также отмечены в вариантах с талой водой и активированным углем с талой водой. Интенсивность дыхания олигохет в этом варианте увеличилась на 33 %. Здесь же количество интенсивно питающихся червей было в 2 раза выше, чем в контроле. Остальные варианты опыта по этому показателю занимали промежуточное положение.

Заметный положительный эффект отмечался также в варианте с талой водой, где интенсивность дыхания червей увеличивалась на 66 % по сравнению с контролем. Содержание каротиноидов в олигохетах этого варианта также было на 29 % выше, чем в контроле. Общее содержание каротиноидов на пятые сутки опыта было максимальным в вариантах с талой водой, а также при совместном действии активированного угля и талой воды. Однако по сравнению с первыми сутками наблюдений содержание их снизилось, что свидетельствует о стабилизации адаптационного процесса. Тем не менее, концентрация пигментов в обсуждаемых вариантах была выше по

сравнению с контролем на 29 и 7 %, соответственно.

Удаление экскрементов олигохет из опытных емкостей позволяет снизить токсическое воздействие. Так, содержание каротиноидов в червях на пятые сутки увеличивалось по сравнению с контролем в варианте с талой водой и углем на 10 %, в варианте с талой водой - на 37,6 %. В то время как в тех же вариантах без удаления фекалий эти показатели составили 7,2 и 28,6 %, соответственно.

Из двух вариантов использования активированного угля наиболее эффективным оказался вариант с его дозировкой 200 мг на 100 г грунта. В этом варианте отмечалось значительное усиление, по сравнению с контролем, интенсивности питания олигохет; увеличилось количество особей, производящих активные дыхательные движения. По этим показателям указанный вариант занимал второе место после варианта с активированным углем и талой водой. И лишь на третьем месте по интенсивности детоксикации оказался вариант с меньшей концентрацией угля.

Интенсивность дыхания олигохет, регистрируемая по количеству потребленного в единицу времени кислорода, в присутствии большей концентрации угля находилась на пятые сутки в пределах зоны нормы, отклоняясь от контроля на 13 %, тогда как в варианте с меньшей его концентрацией интенсивность дыхания была меньше, чем в контроле на 72 %. Достоверное увеличение содержания каротиноидов в олигохетах обнаружено лишь в варианте с большей концентрацией угля при удалении фекалий и составляло 4,19 мкг/г, что на 75 % выше, чем в контроле. В варианте с меньшей концентрацией угля этот показатель был в 1,5 раза ниже, чем в контроле.

Весьма заметный положительный эффект наблюдался при поддержании проточности воды до 10 л/час. Так, интенсивность дыхания олигохет за счет постоянной механической аэрации среды в этом варианте (на протяжении 5 суток) была значительно выше, чем в контроле (98,4 %) (см. рис. 6). При этом активизировался резервный механизм энергообеспечения, способствующий повышению резистентности организма. Данные по содержанию общих кароти-

ноидов свидетельствуют об увеличении их к концу пятых суток по сравнению с контролем на 78,7 % (см. табл. 18). Полученные данные совпадают с увеличением на 89,7 % по сравнению с контролем ферментативной активности олигохет, оцениваемой по содержанию в гомогенатах их тела СДГ (табл. 19). Несомненно, состояние обоих рассматриваемых показателей указывает на стимуляцию энергетических процессов в организме, имеющих адаптивный характер. Достоверные изменения СДГ в теле олигохет были отмечены также в опытах с углем, превышая контрольные величины на 16,8 % в варианте с меньшей концентрацией угля и на 27,5 % - с большей.

Таблица 19

Динамика активности сукцинатдегидрогеназы олигохет

Варианты	Фон	3-и сутки		5-е сутки	
		абсолютные значения	% от К	абсолютные значения	% от К
Уголь 100 мг/100 г	19,2	6,74	+15,8	4,88	+16,8
Уголь 200 мг/100 г		4,98	-14,4	3,52	+27,5
Талая вода		5,10	-12,4	2,50	-9,4
Талая вода + уголь 200 мг/100 г		5,56	-4,5	2,32	-16,0
Контроль		5,82	-	2,76	-
Проточность 10 л/час	-	5,90	-24,0	7,40	+89,7
Проточность 0 л/час (контроль)	-	7,76	-	3,90	-

4.4.2. Биохимические показатели

Контроль за содержанием влаги и липидов (жирностью) находящихся в эксперименте олигохет показал, что влажность варьировала незначительно, в пределах 78-82 %. Содержание жира претерпевало значительные изменения как во времени так и в вариантах с применением различных антидотов. Так, отмечено значительное увеличение этого показателя в вариантах с комплексным воздействием талой воды и активированного угля (+57,6 % отклоне-

ния от контроля) и в варианте с талой водой (+17,8 % отклонения от контроля). В варианте с двойной дозировкой угля отклонение составило всего +9 %, тогда как в варианте с его одинарной дозировкой отмечено снижение жирности олигохет (табл. 20).

В варианте с проточной водой и отсутствием питания содержание жира было близким к контрольному и к показателям с меньшей концентрацией угля. Снижение содержания липидов по сравнению с контролем на пятые сутки в этом варианте может рассматриваться как положительный факт, свидетельствующий о разблокировке реакций цикла Кребса, проходящих с расщеплением жиров.

Как известно, изменения содержания белка в тканях являются показателями скорости метаболизма (Lowry et al., 1951). Результаты исследования по применению физических приемов детоксикации показали, что через 24 часа экспозиции содержание буферорастворимого белка в тканевых гомогенатах олигохет увеличилось по сравнению с фоном и находилось в пределах от 87,2 мг/г веса в варианте с меньшей концентрацией угля до 99,4 мг/г веса - в варианте с большей его концентрацией. Заметных отклонений от контроля не наблюдалось, за исключением варианта с проточностью, где повышение содержания его отмечалось на 11,3 %. К пятым суткам детоксикации в большинстве вариантов содержание белка достоверно не отличалось от контроля. Лишь при использовании проточной воды наблюдалось незначительное его повышение на 3 % (табл. 21).

Содержание SH-групп в тканевых гомогенатах было в пределах от 16,6 мкМ SH-групп /г белка в варианте с совместным внесением в субстрат талой воды и угля до 30,8 мкМ SH-групп/г белка в условиях проточности. В большинстве вариантов отклонения уровня SH-групп от регистрируемого в контроле находились за пределами достоверности. Эффективным в отношении детоксикации, судя по этому показателю, также как по другим биохимическим характеристикам, оказался прием с использованием условий проточности. Так, в белках олигохет, находившихся в проточной воде, к концу эксперимента содержание свободных SH-групп было выше контрольных значений (табл. 21).

Таблица 20

Содержание влаги и жира в олигохетах в экспериментах по детоксикации (1-е сутки экспозиции)

Варианты	Влага, %				Жирность, %							
	исходное значение	абсолютные значения	отклонения, %		% к сырому в-ву			% к сухому в-ву				
			± исх.	± К	исходное значение	абсолютные значения	отклонения, %		исходное значение	абсолютные значения	отклонения, %	
							± исх.	± К			± исх.	± К
Уголь 100 мг/100 г	80,55	78,14	-3,0	-6,4	4,26	2,80	-34,3	-11,9	21,93	12,82	-41,5	-32,8
Уголь 200 мг/100 г		80,21	-0,4	-3,9	4,66	4,66	+9,4	+46,5		23,91	+9,0	+25,3
Талая вода		80,51	-0,1	-3,6	5,03	5,03	+18,1	+58,2		25,83	+17,8	+35,9
Талая вода с углем 200 мг/100 г		80,04	-0,6	-4,1	6,90	6,90	+62,0	+116,9		34,56	+57,6	+81,1
Проточная вода, 10 л/час		82,12	+1,9	-1,6	2,49	2,49	-41,5	-21,7		13,90	-36,6	-27,1

**Динамика биохимических показателей тканевых гомогенатов олигохет в процессе детоксикации
с использованием физических методов**

Варианты опытов	Сумма ХОП, мкг/г	Содержание буферрастворимого белка, мг/г веса	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/г веса·час ⁻¹	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/мг белка·час ⁻¹	Суммарные SH-группы, мкМ SH-групп/г белка
Фон	0,0330	81,6	476,5	5,84	23,3
Через 24 часа инкубации					
Контроль	0,0094	89,3	626,1	7,01	28,6
Уголь 100 мг/100 г	0,0147	87,2	497,3	5,70	25,5
Уголь 200 мг/100 г	0,0101	99,4	649,7	6,54	24,3
Талая вода	0,0104	90,7	597,0	6,58	27,8
Талая вода + уголь 200 мг/100 г	0,0133	88,9	478,0	5,38	18,7
Проточная вода	0,0116	111,0	686,7	6,19	20,7
Через 5 суток инкубации					
Контроль	0,0171	95,2	754,5	7,93	25,1
Уголь 100 мг/100 г	0,0246	101,2	587,4	5,80	20,0
Уголь 200 мг/100 г	0,0144	95,9	621,4	6,48	29,6
Талая вода	0,0133	83,7	682,9	8,16	30,3
Талая вода + уголь 200 мг/100 г	0,0115	107,8	572,7	5,31	16,6
Проточная вода	0,0029	109,9	888,3	8,08	30,8

Между концентрацией ХОП в теле олигохет и активностью ацетилхолинэстеразы (АХЭ) отмечена обратная коррелятивная зависимость. Наименьшая активность АХЭ отмечалась в фоновых пробах и в вариантах с углем меньшей концентрации, а также с талой водой и углем в первые сутки экспозиции. В варианте с большей дозировкой активированного угля активность АХЭ была несколько выше, чем в контроле. К пятым суткам наблюдений заметного увеличения активности АХЭ по сравнению с контролем не отмечалось ни в одном варианте. Исключение составляют условия проточности, при которых отмечалась активация АХЭ на 13 %. Следует отметить, что в этом варианте содержание ХОП в теле олигохет к 5-м суткам значительно снизилось за время экспозиции, и было минимальным для всей серии наблюдений. Это дает основание судить об улучшении состояния нервной системы экспериментальных животных. По-видимому, прием детоксикации с использованием проточности совмещает в себе механизм как физической, так и биохимической детоксикации.

Полученные материалы биохимического контроля показали, что физические методы детоксикации, не затрагивая белковый обмен, сказываются на ферментативной активности (Спивак и др., 1995).

4.4.3. Морфологические показатели

Гистологическими исследованиями подтверждено, что существенный эффект в реабилитации структурно-морфологического состояния олигохет достигался внесением активированного угля в количестве 200 мг/100 г грунта. Отмечаемые в фоновых пробах червей: разрушение эпителиоцитов целомического эпителия, расширение капилляров сосудистого плектуса, отечность окологлоточной коннективы, продукты распада хлорогеновых клеток в районе мета-нефридий существенно ослабели. После пятисуточной экспозиции олигохет в варианте с указанной концентрацией угля наблюдались лишь незначительные повреждения кожного эпителия.

При содержании олигохет в проточной воде, структурные нарушения ограничивались лишь изменениями в капиллярах сосудистого плектуса. Остальные изменения, отмеченные в фоновых образцах, отсутствовали.

Полученные материалы продемонстрировали большую роль физических факторов среды обитания гидробионтов по обеспечению биоты на границе вода-грунт при токсическом воздействии.

Модельные эксперименты показали, что наибольшая эффективность повышения токсикорезистентности олигохет достигается в условиях проточности.

Выведение ХОП из олигохет и активная перестройка метаболических процессов при применении угля и талой воды иллюстрируют большие возможности в выживании организмов донных отложений в весенний период, когда их биомасса недостаточно высока. Отмеченная высокая скорость перестройки процессов метаболизма у олигохет характерна вообще для гидробионтов маленьких размеров (Константинов, 1979). Эти особенности обеспечивают выживание большинства видов бентосных организмов и сохранения, тем самым, функционирования донных биоценозов при воздействии токсикантов.

4.5. Выведение хлорорганических пестицидов из олигохет с использованием веществ, изменяющих биохимические параметры

4.5.1. Функционально-энергетические показатели

Анализ данных второй серии экспериментов показал, что вносимые в качестве антидотов биологически активные соединения, такие как янтарная кислота и глюкоза, в течение первых суток действуют как раздражители, приводя к сдвигу функциональных показателей жизнедеятельности червей от исходного их значения. В течение последующих суток происходит оптимизация функционально-энергетического состояния организмов, в результате чего снижается содержание в них ХОП (Спивак и др., 1995 а).

Как известно, интенсивность дыхания животных дает представление об уровне их энергетического обмена. Не менее информативным показателем глубинных энергетических процессов является динамика пигментов тканевого дыхания - каротиноидов.

Так, полученные данные свидетельствуют о снижении общего потребления кислорода олигохетами в первые сутки по сравнению с исходными. Однако по сравнению с контролем интенсивность дыхания олигохет в вариантах с янтарной кислотой увеличивалась уже за первые сутки на 16,5-100 %. На пятые сутки интенсивность потребления кислорода во всех экспериментальных емкостях продолжала возрастать, превышая контрольные показатели в вариантах с меньшей и большей концентрацией янтарной кислоты на 60,3 и 57,7 %, в вариантах с меньшей и большей концентрацией глюкозы - на 46,2 и 91,1 %, соответственно (табл. 22).

Таблица 22

Общее потребление кислорода олигохетами

Варианты	Фон	1-е сутки		5-е сутки		
		мгО ₂ /мг-час	±К, %	мгО ₂ /мг-час	±К, %	±Фон, %
Янтарная к-та 10 мг/л+В ₂	0,028 мгО ₂ /мг-час	0,016	+16,57	0,125	+60,3	+346,4
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂		0,012	+100,00	0,123	+57,7	+339,3
Глюкоза 1,55 мг/л+В ₅		0,004	-33,30	0,114	+46,2	+307,1
Глюкоза 3,1 мг/л+В ₅		0,003	-50,00	0,149	+91,1	+432,2

Данные по содержанию в олигохетах суммарных каротиноидов свидетельствуют об усилении тканевого дыхания уже спустя сутки во всех опытных вариантах по сравнению как с фоновым, так и с контрольным. Особенно заметным это увеличение было в варианте с меньшей концентрацией янтарной кислоты (на 29,6 % по сравнению с контролем). На пятые сутки эта величина достиг-

ла уже 105 % отклонения от контроля. Заметное увеличение количества каротиноидов отмечалось также в варианте с более высокой концентрацией глюкозы, превышая контрольные величины на 14 % в первые сутки и на 47,3 % - на пятые (табл. 23).

Таблица 23

Содержание общих каротиноидов в олигохетах

Варианты	Фон	1-е сутки			5-е сутки			
		мкг/мг	±K, %	±Фон, %	мкг/мг	±K, %	±Фон, %	± 1-е сутки, %
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	0,241 мкг/г	0,92	+29,6	+281,7	1,52	+105,0	+530,7	+65,2
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂		0,72	+1,4	+198,8	0,60	-18,9	+148,9	-16,7
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅		0,58	-18,3	+140,7	0,50	-32,4	+107,5	-13,8
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅		0,81	+14,1	+236,1	1,09	+47,3	+352,3	+34,6
Контроль		0,71	-	+194,6	0,74	-	+207,1	+4,2

Повышение интенсивности тканевого дыхания сопровождалось понижением в течение первых трех суток и затем активированием на пятые сутки сукцинатдегидрогеназы (ключевого фермента энергетических процессов цикла Кребса) по сравнению с контролем. При этом наибольший стимулирующий эффект отмечался при использовании янтарной кислоты, составляя на пятые сутки в варианте с большой ее концентрацией в среднем +50,6 %, с меньшей её концентрацией - +35,9 % отклонения от контроля (табл. 24).

В вариантах с меньшей и большей концентрацией глюкозы эффект стимулирования составлял в среднем +16,9 и +29,5 % отклонения от контроля, соответственно. Снижение активности СДГ в олигохетах через сутки после начала эксперимента можно рассматривать как адаптацию организмов к новым условиям среды обитания. Наблюдения за интенсивностью питания олигохет показали, что между

разными вариантами опыта наблюдались незначительные различия. Так, наименьшее время между очередными поглощениями пищевого комка наблюдалось в контроле обеих серий (табл. 25).

Таблица 24

Динамика активности СДГ в олигохетах в процессе детоксикации

NN опыта	Варианты	1-е сутки		5-е сутки	
		абсолютные значения	% отклонения от К	абсолютные значения	% отклонения от К
1	Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	11,64	-1,0	7,28	+49,0
	Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	10,76	-8,8	7,40	+51,6
	Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	10,32	-12,5	6,20	+27,8
	Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	8,88	-24,7	6,48	+32,0
	Контроль	11,80	-	4,88	-
2	Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	6,50	-16,6	4,16	+22,8
	Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	6,70	-14,0	5,84	+49,7
	Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	5,55	-28,8	4,14	+6,0
	Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	8,25	+5,8	4,96	+27,0
	Контроль	7,80	-	3,90	-

Таблица 25

Время между дефекациями у олигохет в эксперименте по детоксикации, мин.

Варианты	Сутки наблюдений	
	1-е	5-е
Янтарная кислота 10 мг/л + В ₂	4,3	2,5
Янтарная кислота 40 мг/л + В ₂	3,5	2,3
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	3,4	2,2
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	4,8	2,6
Контроль	2,3	1,86

Максимальное время наблюдалось в варианте с большей концентрацией глюкозы и витамина В₅. Очевидно, глюкоза отчасти удовлетворяет пищевые потребности животных, снижая скорость потребления ими детрита грунта. Кроме того, указанный эффект в значительной мере, по-видимому, связан со стимулированием глюкозой бактериальной микрофлоры, дыхание которой приводило к дефициту кислорода и, следовательно, к ухудшению абиотических условий. В вариантах с меньшей концентрацией глюкозы, где процессы бактериального брожения шли не столь интенсивно и ухудшение кислородного режима было значительно слабее, время прохождения грунта было наименьшим из всех опытных вариантов. Варианты с добавкой янтарной кислоты занимали промежуточное положение по этому показателю. Таким образом, эффект детоксикации, судя по времени прохождения пищи, в значительной мере зависит от состояния кислородного режима и интенсивности бактериальных процессов.

4.5.2. Биохимические показатели

Достаточно информативными характеристиками состояния гидробионтов, наряду с физиологическими, являются биохимические - такие как содержание липидов, белка, суммарных SH-групп, ферментативная активность.

Контроль за содержанием влаги и липидов (жирность) у находящихся в эксперименте червей показал, что влажность варьировала незначительно и обнаружена в пределах 73-93 %. Лишь в контроле снижение этого показателя составило 68 % (табл. 26, 27).

В серии экспериментов с применением биологически активных детоксикантов содержание жира в теле олигохет уже на первые сутки в большинстве вариантов возросло по сравнению с контролем. Максимальной величины содержание жира достигало в варианте с глюкозой меньшей концентрации, превышая на первые сутки контрольные показатели на 78 %, на пятые - на 157 %, что свидетельствует об использовании её в качестве дополнительного источника пи-

тания. Исключение составил вариант с более высоким содержанием янтарной кислоты и В₂, где отмечалось снижение содержания жира по сравнению с контролем на 6 % по сырому веществу и на 10,8 % - по сухому. На пятые сутки при снижении содержания липидов в биомассе опытных образцов, тем не менее, наблюдается их увеличение по сравнению с контролем до 21 % в варианте с большей концентрацией янтарной кислоты и до 103 % - в варианте с меньшей её концентрацией (см. табл. 26). Снижение жирности под влиянием янтарной кислоты более высокой концентрации, по-видимому, связано с нормализацией реакций цикла Кребса за счет снятия блокировки использования жировых запасов в качестве источника энергии. Этот эффект сопровождался усилением, как указано выше, интенсивности тканевого дыхания и активацией ключевого фермента цикла Кребса - СДГ, что приводило к детоксикации и снижению содержания в теле олигохет ХОП (Спивак и др., 1995 а).

Таблица 26

**Динамика содержания влаги и жира в теле олигохет
в 1-ом опыте по детоксикации**

Варианты	Влага, %		Жирность, %			
			% к сырому веществу		% к сухому веществу	
	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	82,08	73,19	3,80	3,35	21,18	12,35
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	82,12	85,58	2,09	2,00	11,68	13,90
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	80,73	75,16	3,95	4,24	20,48	17,05
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	79,36	75,79	3,01	2,61	14,58	10,79
Контроль	83,05	68,16	2,22	1,65	13,10	5,17

**Динамика содержания влаги и жира в теле олигохет
во 2-м опыте по детоксикации**

Варианты	Влага, %		Жирность, %			
			% к сырому веществу		% к сухому веществу	
	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	80,76	80,47	3,19	3,04	16,56	15,58
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	81,24	80,94	2,18	3,12	11,62	16,35
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	93,38	81,46	0,86	4,64	12,99	25,02
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	81,80	81,24	7,33	4,34	39,05	23,15
Контроль	81,99	81,66	3,29	2,76	18,30	15,07

Примечание: исходное содержание влаги - 81,92 %; жира - 3,09 к сырому веществу и 17,09 - к сухому веществу.

Повторный эксперимент по детоксикации олигохет вышеназванными биологическими веществами подтвердил снижение содержания жира в их теле в варианте с более высокой концентрацией янтарной кислоты уже на первые сутки, и одновременно максимальное содержание жира в варианте с более высокой концентрацией глюкозы, свидетельствующее об использовании её в качестве дополнительного источника питания (см. табл. 27). На пятые сутки отмечено значительное нивелирование жирности олигохет в различных вариантах, что вероятно связано с наложением на эффект детоксикации прочих условий эксперимента.

Таким образом, из четырёх вариантов приемов детоксикации во второй серии экспериментов наиболее эффективным оказалось внесение янтарной кислоты в концентрации 40 мг/л.

Содержание буферорастворимых белков в экспериментах по детоксикации олигохет биохимическими методами находилось в

пределах 98,4-118,0 мг/г веса. Через 24 часа экспозиции во всех вариантах эксперимента уровень белка был почти одинаков. На пятые сутки детоксикации более высокие концентрации белка отмечались в варианте с большей концентрацией янтарной кислоты и с меньшей концентрацией глюкозы (табл. 28). Возможной причиной изменения концентрации буферорастворимых белков является влияние внесенных в среду янтарной кислоты с витамином В₂ и глюкозы с витамином В₅, меняющих направленность белкового обмена. Известно, что увеличение количества белка в клетках происходит при замедлении протеолиза и ускорении синтетических процессов.

Активность АХЭ в экспериментах по детоксикации олигохет с использованием системы биологически активных веществ изменялась в пределах 441,0-831,6 мкМ АЦТХ/г веса·час⁻¹. Через 24 часа активность АХЭ в контроле почти не отличалась от фоновой, а в вариантах с янтарной кислотой и глюкозой происходило даже ингибирование активности фермента на 20-27 % по сравнению с контрольными показателями. На пятые сутки детоксикации активность фермента повышается, достигая в контроле 781,2 мкМ АЦТХ/г веса·час⁻¹. Несколько выше оказалась активность АХЭ в варианте с янтарной кислотой большей концентрации. При экспозиции олигохет с янтарной кислотой меньшей концентрации активность АХЭ возрастает по сравнению с таковой на первые сутки, но остается на 23 % ниже, чем в контроле (см. табл. 28). В случае расчета активность АХЭ на 1 мг буферорастворимого белка можно более точно определить активность фермента, так как устраняются последствия неравномерного измельчения ткани и наполнения кишечника олигохет грунтом. В целом в динамике активности АХЭ наблюдались аналогичные закономерности. Так, через 24 часа экспозиции с янтарной кислотой в двух концентрациях активность АХЭ снижалась на 18,6 и 25,2 %, соответственно, по сравнению с контролем. В варианте с глюкозой активность фермента также оказалась пониженной на 20,6 %.

**Динамика биохимических показателей тканевых гомогенатов олигохет в процессе детоксикации
с использованием биохимических приемов**

Варианты	Сумма ХОП, мкг/г	Содержание буферораствори- мого белка, мг/г веса	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/ г веса·час ⁻¹	Активность АХЭ, мкМ АЦТХ/ мг белка·час ⁻¹	Суммарные SH-группы, мкМ SH-групп/г белка
Фон	0,0151	118,0	617,4	5,28	25,2
Через 24 часа					
Контроль	0,0163	102,6	606,4	5,91	22,6
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	0,0178	100,8	485,1	4,82	15,8
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	0,0239	99,8	441,0	4,42	10,3
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	0,0151	99,4	466,2	4,69	18,0
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	0,0173	98,7	567,0	5,74	30,6
Через 5 суток					
Контроль	0,0113	98,4	781,2	7,94	14,3
Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	0,0145	106,8	589,5	5,60	14,8
Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂	0,0034	114,5	831,6	7,26	13,5
Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	0,0110	114,5	724,5	6,33	22,0
Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅	0,0156	99,8	637,1	6,38	35,3

Через 5 суток активность фермента возрастала, достигая максимальной величины у олигохет в присутствии янтарной кислоты большей концентрации. Как видим, в варианте с янтарной кислотой большей концентрации через 24 часа экспозиции происходит заметное ингибирование АХЭ (при максимальной концентрации ХОП в олигохетах) и восстановление активности почти до контрольного уровня на 5-е сутки (при содержании ХОП 0,0034 мкг/г).

Известно, что линдан в концентрации 1,0-300,0 мг/л оказывает заметное влияние на содержание SH-групп и дегидрогеназную активность тканевого аппарата гомогената тубифицид (Воронкин, Лейба, 1984).

В серии экспериментов по детоксикации олигохет с использованием биохимических антидотов естественного происхождения уровень свободных SH-групп находился в пределах 10,3-35,3 мкМ SH-групп/г белка (см. табл. 28). При добавлении янтарной кислоты с витамином В₂ происходит заметное (1,4-2,2-кратное) снижение содержания SH-групп через 24 часа инкубации, которое выравнивается с контрольными показателями к пятым суткам эксперимента. Уровень SH-групп в белках олигохет с добавлением глюкозы меньшей концентрации + В₅ в начале эксперимента мало отличался от контроля, а к пятым суткам превысил его уровень. В системе глюкоза большей концентрации + В₅ происходит заметное увеличение содержания SH-групп, причем к пятым суткам - в 2,5 раза. Следовательно, система детоксикации глюкоза + В₅ влияет на состояние свободных SH-групп, что может быть связано с замедлением окислительных реакций и преобладанием в клетках восстановленных метаболитов.

4.5.3. Морфологические показатели

При анализе гистологического материала обнаружено, что наиболее выраженный эффект реабилитации структурно-морфологического состояния олигохет отмечается при совместном внесении более высоких концентраций глюкозы с витамином В₅. В указанном варианте наблюдаемые в фоновых образцах олигохет нарушения

структуры ткани практически отсутствовали, что свидетельствует об их обратимости и регенеративной способности.

В процессе исследований удалось установить, что в нормализации функционального и структурно-морфологического состояния олигохет могут быть полезны почти все использованные в опытах сочетания биологически активных веществ.

4.6. Динамика содержания хлорорганических пестицидов в олигохетах при детоксикации в эксперименте

Материалы по содержанию ХОП в олигохетах и грунтах в ходе проведения экспериментов по детоксикации приведены на рисунке 8, таблицах 29, 30 и в приложениях 2-4.

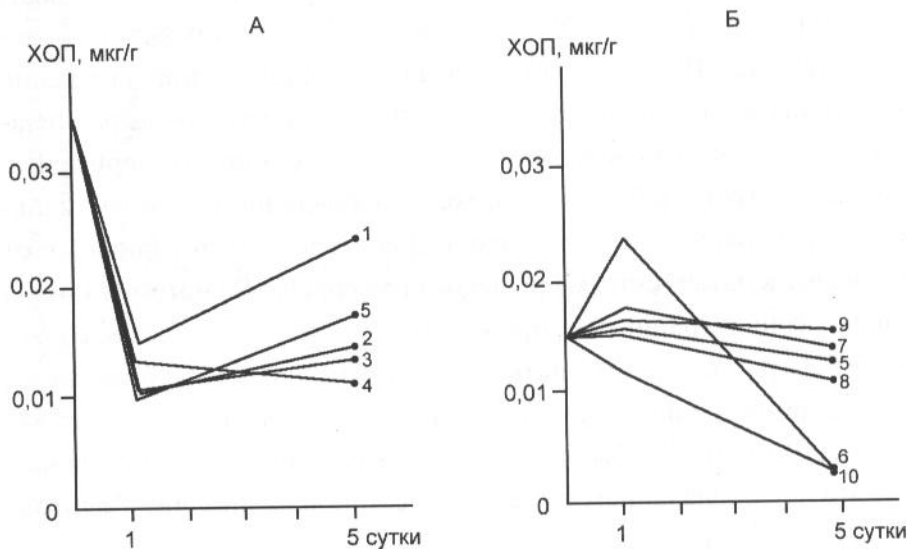


Рис. 8. Содержание суммы ХОП в олигохетах, мкг/г

1 - активированный уголь 100 мг/100 г; 2 - акт. уголь 200 мг/100 г; 3 - талая вода; 4 - талая вода + уголь; 5 - контроль; 6 - янтарная кислота 10 мг/л; 7 - янт. к-та 40 мг/л; 8 - глюкоза 1,55 мг/л; 9 - глюкоза 3,1 мг/л; 10 - проточная вода.

Влияние физических приемов детоксикации на динамику содержания ХОП в олигохетах

Содержание ΣХОП, мкг/г	Варианты добавок в грунт							Прочность	Контроль для прочности
	Активированный уголь, 100 мг/100 г	Активированный уголь, 200 мг/100 г	Активированный уголь + талая вода	Талая вода	Контроль, без добавок в грунт	Прочность	Контроль для прочности		
ΣХОП в грунте	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103	-	-	-
ΣХОП в фоновых олигохетах	0,0330	0,0330	0,0330	0,0330	0,0330	0,0330	0,0151	0,0151	0,0151
ΣХОП в олигохетах через 1 сутки	0,0147	0,0101	0,0133	0,0104	0,0094	0,0116	0,0163	0,0163	0,0163
Коэффициент межуровневой кумуляции - $K_{\text{мк}}$	1,4	1,0	1,3	1,0	0,9	-	-	-	-
ΣХОП в олигохетах через 5 суток	0,0246	0,0144	0,0115	0,0133	0,0171	0,0029	0,0113	0,0113	0,0113
Коэффициент межуровневой кумуляции- $K_{\text{мк}}$	2,4	1,4	1,1	1,3	1,7	-	-	-	-

Влияние биохимических приемов детоксикации на динамику содержания ХОП в олигохетах

Содержание Σ ХОП, мкг/г	Варианты добавок в грунт					Контроль (грунт без добавок)
	Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂	Янтарная к-та 40мг/л + В ₂	Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅	Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅		
Σ ХОП в грунте	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103	0,0103
Σ ХОП в фоновых олигохетах: 1-й опыт	0,0280	0,0280	0,0280	0,0280	0,0280	0,0280
2-й опыт	0,0151	0,0151	0,0151	0,0151	0,0151	0,0151
Σ ХОП в олигохетах через 1 сутки: 1-й опыт	0,0241	0,0227	0,0138	0,0301	0,0064	0,0064
2-й опыт	0,0178	0,0239	0,0151	0,0173	0,0163	0,0163
K _{МК} : 1-й опыт	2,3	2,2	1,3	2,9	0,6	0,6
2-й опыт	1,7	2,3	1,5	1,7	1,6	1,6
Σ ХОП в олигохетах через 5 суток: 1-й опыт	0,0128	0,0069	0,0100	0,0114	0,0063	0,0063
2-й опыт	0,0145	0,0034	0,0110	0,0156	0,0113	0,0113
K _{МК} : 1-й опыт	1,2	0,7	1,0	1,1	0,6	0,6
2-й опыт	1,4	0,3	1,1	1,5	1,1	1,1

Сопоставление вышеприведенных данных с материалами по динамике ХОП в процессе экспериментов позволило установить, что эффект детоксикации проявляется, прежде всего, в изменении функционального состояния червей, отмечаемого зачастую уже через 24 часа после начала экспозиции. Структурно-морфологические изменения и изменения содержания ХОП в организме опытных вариантов по сравнению с контролем наиболее четко регистрируются лишь на пятые сутки. Изменения функционально-биологических показателей и содержания ХОП протекают не всегда синхронно.

Из физических методов детоксикации наиболее эффективными в отношении снижения содержания ХОП, также как в отношении нормализации функционального состояния олигохет, оказались приемы с использованием проточной воды и смеси талой воды с активированным углем. В указанных вариантах произошло снижение содержания ХОП по сравнению с контролем на 74 и 33 %, соответственно. Несколько меньший эффект снижения концентраций ХОП отмечен в вариантах с талой водой и активированным углем в концентрации 200 мг/100 г грунта: на 22 и 15,8 %, соответственно. И лишь в варианте с концентрацией угля 100 мг/100 г грунта детоксикации не наблюдалось. При этом коэффициенты межуровневой кумуляции снижались на пятые сутки с 1,7 в контроле до 1,1 при совместном внесении угля и талой воды, и до 1,3-1,4 - в вариантах с талой водой и при внесении угля 200 мг/100 г (см. табл. 29, см. рис. 8А).

В серии экспериментов с использованием биохимических приемов детоксикации биологически активные вещества в первые сутки действуют как раздражители, ингибируя метаболические процессы, в результате чего увеличивается накопление ХОП. Указанная картина хорошо просматривается в опытах (см. рис. 8 Б; см. табл. 30). Лишь в дальнейшем происходит стимулирование всех обменных процессов, что приводит к снижению в теле червей токсикантов. Характерно, что чем сильнее воздействует на энергетику тот или иной антидот, тем значительнее выражено накопление токсикантов в биомассе на первые сутки и снижение их количества - на пятые.

Из четырех использованных вариантов биохимической детоксикации наибольший эффект отмечен при использовании янтарной кислоты. Причем, для детоксикации оптимальной оказалась её концентрация 40 мг/л. Как видно из таблицы 30, под влиянием янтарной кислоты большей концентрации коэффициент межуровневой кумуляции ХОП снижался на пятые сутки с 1,1 в контроле до 0,3 в этом варианте опыта.

Использование в качестве антидота глюкозы, судя по ранее приведенным данным, позволяло нормализовать целый ряд структурно-функциональных показателей олигохет, тогда как для регистрации снижения в их теле содержания ХОП пяти суток наблюдений оказалось недостаточно, что, возможно, объясняется высоким содержанием жира в теле червей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с необходимостью получения в достаточных объемах различных видов сельскохозяйственной продукции, потребность в применении пестицидов сохраняется. А значит, и в дальнейшем они будут попадать в водоемы, угрожая функционированию гидроэкосистем. Так, в природных условиях Таганрогского залива содержание ХОП в донных отложениях составляет величины, близкие к 0,012 мг/г (Семенов и др., 2002). Они интенсивно переходят из донных отложений в бентосные организмы, затем в рыбу, где и накапливаются, причем в концентрациях в 1-10 тысяч раз больших, чем в окружающей среде (Воловик и др., 1996).

Проведенные исследования позволили отработать приемы насыщения олигохет линданом и установить основные оптимальные параметры содержания их на затравленном грунте: концентрация токсиканта 0,0044-0,0066 мг/г, продолжительность процесса насыщения не более 3-5 суток, плотность посадки червей не более 1 кг/м². Концентрация токсиканта в предназначенном для затравки грунте должна превышать его фоновое содержание в олигохетах. Кроме того, получены данные по влиянию пестицида, вносимого в грунт, на основные показатели функционального и структурно-морфологического состояния олигохет: ингибирование дыхания на 59 % при увеличении содержания в теле каротиноидов, снижение активности АХЭ в 1,5 раза, изменение соотношения фракций белков при уменьшении доли в них SH-групп, появление на пятые сутки патологических изменений в кровеносной и выделительной системах. Одновременно в теле олигохет происходит кумуляция линдана, концентрация которого уже через 24 часа достигает 0,006-0,009 мг/г, а через пять суток – 0,039 мг/г.

Динамика содержания ХОП в биомассе кормового бентоса имеет значение, в основном, в связи с вопросами передачи этих токсикантов по трофической цепи, то есть в участии ХОП во вторичном загрязнении воды и донных отложений.

Полученные материалы позволили составить представление о том, как обеспечивается выживаемость бентосных организмов в естественных водоемах в пограничной зоне вода-грунт при воздействии сублетальных доз ХОП.

Одним из механизмов, создающих безопасность биоты, является механическое удаление токсикантов из среды обитания. Это достигается налипанием липофильных частиц взвеси с ХОП на твердые фракции грунта, на створки ракуши и их осколки, а также захоронением с фекалиями гидробионтов в более глубокие слои путем перемешивания при движении бентосных организмов. Подобное этому механическое удаление токсических агентов из модельных систем осуществлялось нами применением АУ. Результатом было не только снижение содержания ХОП в биомассе олигохет на 15,8 %, но и улучшение их общего состояния, регистрируемого в частности по интенсивности питания, увеличении содержания каротиноидов и значительным улучшением морфологических показателей в варианте опытов с бóльшей концентрацией угля.

Природные воды находятся в непрерывном движении под влиянием силы тяжести, ветра, жизнедеятельности гидробионтов, выравнивания солевых, плотностных, температурных градиентов и других воздействий. Косвенное влияние движения воды на гидробионтов сказывается через принос пищи и кислорода, выравнивание гидрологических градиентов, унос метаболитов и токсических веществ (Константинов, 1979). Проточность воды в наших экспериментах способствовала достаточно активному снижению ХОП в червях. Вследствие этого их состояние значительно улучшилось, о чем свидетельствовали биохимические, гистологические и другие контролируемые показатели. Так, интенсивность дыхания, содержание общих каротиноидов были, на протяжении пяти суток, выше чем в варианте без применения физических приемов детоксикации на 98,4 и на 78,7 %, соответственно. Активность СДГ в гомогенатах тела олигохет в опыте с проточностью возросла на 89,7 %; существенно возросло содержание SH-групп, а также улучшились морфо-

логические показатели. Следует отметить, что в варианте с проточностью содержание ХОП в теле олигохет к пятым суткам снизилось на 74 %.

Использование талой воды в модельных экспериментах имитировало состояние контактной зоны вода-грунт ранней весной, во время таяния льда. Эффективность влияния талой воды на повышение устойчивости биоты при токсическом воздействии усиливается в сочетании с механическим удалением токсикантов из грунта, создаваемого в модельной системе использованием АУ. При этом интенсивность дыхания олигохет возросла на 33 %; время прохождения пищи увеличилось с 1,9 до 2,8 минут, что свидетельствует об улучшении процесса питания. Другие показатели достигли самых высоких значений в опытах. Содержание ХОП в теле червей к пятым суткам снизилось на 33 %.

В летнее время, когда биота находится в стадии процветания, значительная роль по обеспечению её токсикорезистентности переходит к биологически активным веществам. Учитывая неравномерный характер распределения органических веществ по площади дна, активация токсикорезистентности биоты различных участков донных отложений будет иметь свои особенности. Высокие концентрации глюкозы в грунте, при отсутствии проточности, создают условия гипоксии, неблагоприятно сказывающиеся на токсикорезистентности бентосного сообщества. Доминирующая роль при этом, несомненно, переходит к бактериальному комплексу.

Детоксикация в значительной мере зависит от состояния кислородного режима и интенсивности бактериальных процессов. Снижение содержания кислорода и усиление процесса бактериального развития в наших экспериментах сопровождалось снижением пищевой активности олигохет, регистрируемой по времени прохождения пищевого комка и времени между очередными поглощениями пищи. Напротив, преобладание в составе органических веществ контактной зоны вода-грунт органических кислот, сдвигая рН в сторону более низких величин, сдерживает развитие бактери-

ального сообщества. При этом кислородный режим сохраняется в допустимых для бентоса пределах. В целом ситуация складывается благоприятно для адаптационных процессов биоты. В частности, в присутствии янтарной кислоты характерна интенсификация внешнего дыхания олигохет в среднем на 60 %, а также переход на дополнительный путь энергообеспечения организма, регистрируемого по увеличению содержания каротиноидов на пятые сутки на 105 % даже в присутствии меньшей её концентрации. В опытах с янтарной кислотой большей концентрации на пятые сутки повышается активность АХЭ и отмечена высокая концентрация буферорастворимого белка в тканевых гомогенатах олигохет – 114,5 мг/г. В результате положительных сдвигов в состоянии червей содержание ХОП в их теле снизилось в 4 раза.

В присутствии глюкозы интенсивность дыхания олигохет на пятые сутки повысилась на 91,1 % в опыте с большей её концентрацией и на 46,2 % с меньшей. Содержание каротиноидов в том же опыте с большей концентрацией глюкозы увеличилось на 47,3 %. Так же как и в опыте с янтарной кислотой отмечена высокая концентрация буферорастворимого белка в гомогенатах олигохет – 114,5 мг/г в опыте с глюкозой меньшей концентрации. Кроме того, при внесении более высокой концентрации глюкозы отмечен наиболее выраженный эффект реабилитации структурно-морфологического состояния червей.

Учитывая роль каротиноидов в формировании дополнительно источника энергообеспечения биоты, увеличение их содержания в олигохетах можно рассматривать как адаптацию к токсическому воздействию. В обоих вариантах опытов с применением янтарной кислоты и глюкозы отмечена активация СДГ – ключевого фермента энергетических процессов цикла Кребса. Так, при использовании янтарной кислоты и глюкозы большей концентрации стимулирующий эффект составлял более 50 и более 29 %, соответственно.

Известное угнетающее влияние линдана на содержание SH-групп и дегидрогеназную активность СДГ тканевого аппарата го-

могенатов тубифицид (Воронкин, Лейба, 1984) подтвердилось наблюдениями в наших экспериментах. Наличие в среде обитания янтарной кислоты и глюкозы с витаминами B_2 и B_5 нормализует эти показатели у олигохет, перенесших токсический стресс, что связано с замедлением окислительных реакций и преобладанием в клетках восстановленных метаболитов и положительно влияет на состояние токсикорезистентности организма. Наиболее эффективно эти процессы протекают в присутствии глюкозы большей концентрации с витамином B_5 . Так, к пятым суткам опытов происходит увеличение содержания SH-групп в 2,5 раза.

Рассмотренные механизмы устойчивости комплекса биоты с донными отложениями к воздействию ХОП в диапазоне концентраций от 0,0103 до 0,0353 мкг/г очевидно не выходили за пределы адаптационных возможностей комплекса и могут быть оценены как стресс средней силы (Гаркави и др., 1979). Реакция комплекса, находящегося в других температурных условиях и в условиях другой обеспеченности кислородом, а также сил воздействия токсикантов, возможно, будет развиваться иначе. По-видимому, адаптация к более высоким концентрациям ХОП потребует от биоты и более высоких резервов токсикорезистентности, а также более высоких, в связи с этим, концентраций биологически активных веществ.

Таким образом, дальнейшее изучение влияния ХОП на гидробионтов и особенно механизмов их резистентности к такому воздействию будет актуальным в обозримом будущем.

ЛИТЕРАТУРА

Алёкин С.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. – Л.: Гидрометеоиздат, 1973. – 269 с.

Бабкина Э.И., Фанаскова Т.П., Итоптова Т.В. Временные методические указания по определению хлорорганических пестицидов и полихлор-бифенилов в донных грунтах и воде пресных водоемов. – Обнинск, 1979. – 21 с.

Беспамятнов Г.П., Кротов Ю.А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. – Л.: Химия, 1985. – 528 с.

Благовещенский А.В. Теоретические основы действия янтарной кислоты на растения. – М.: Наука, 1968. – 57с.

Благовещенский А.В., Рахманов Р.Р. Янтарная кислота и повышение урожаяев. – Ташкент, 1966. – 74 с.

Благовещенский А.В., Рахманов Р.Р. Биохимическая природа повышения урожайности с помощью янтарной кислоты. – М.: Наука, 1970. – С.52-60.

Бульон В.В. Первичная продукция планктона внутренних водоемов. – Л.: Наука, 1983. – 148 с.

Бэрстон М. Гистохимия ферментов. – М., 1965. – 464 с.

Веровкина И.В., Точилин А.И., Попова Н.А. Колориметрический метод определения SH – групп и S–S – связей в белках при помощи 5,5' – ди-тиобис (2- нитробензойной) кислоты: Сб. науч. тр. по современ. методам в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223-231.

Владимиров В.И. Личиночные критические периоды развития и смертность у рыб. – Вопросы ихтиологии, т.4, вып. 1 (30). 1964. – с.104-117.

Воловик С.П., Макаров Э.В., Семенов А.Д. Азовское море: возможен ли выход из экологического кризиса. Сб. науч. тр. АзНИИРХ / Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна. Ростов-на-Дону: Полиграф, 1966. – С. 115-125.

Воронкин А.С., Лейба В.В. Токсическое воздействие линдана на сульфгидрильные группы и дегидрогеназную активность тубифицид // Тез. докл. конф. посвящ. проблеме охраны природы. – Байкальск, 1984. – С. 41-42.

Вредные химические вещества. Углеводороды. Галогенопроизводные углеводородов; Справочное издание / В.А. Филлов и др. – Л.: Химия, 1990. – 732 с.

Врочинский К.К. Некоторые вопросы гигиенического нормирования пестицидов в связи с их миграцией // Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. – Киев: Наукова думка, 1966. – Вып. 4. – С.228-291.

Гарджиева С.Б. Биохимическая характеристика кормовой ценности планктона и бентоса Мингечаурского и Варваринского водохранилищ: Автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. – Баку, 1974. – 24 с.

Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростов. гос. ун-та, 1979. – 126с.

Горшкова Т.И. Органическое вещество осадков Азовского моря и Таганрогского залива: Сб. науч. тр. / ВНИРО, т.31, вып.1. – М., 1955. – С. 95-123.

Джаманкулов М.М. О предпосевной обработке семян сои янтарной кислотой // Бюлл. Главн. бот. сада АН СССР, вып.64, 1967. – С. 101-104.

Ежегодник качества поверхностных вод и эффективности проведенных водоохраных мероприятий, часть 1, 1988, РСФСР / Гос. комитет СССР по гидрометеорологии Мин. мелиорации и водн. хоз-ва РСФСР по охране природы. – Ростов-на-Дону, 1989. – 340 с.

Елисеев В.Г. Основы гистологии и гистологической техники. – М.: Медицина, 1967. – 267 с.

Жукова П.С. Гербициды и стимуляторы роста в овощеводстве. – Минск, 1976. – 120 с.

Имшенецкий А.А. Биологические эффекты экстремальных условий окружающей среды. – В сб.: Основы космической биологии и медицины, т.1 – «Космическое пространство как среда обитания». М.: Наука, 1975. – С. 271-316.

Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов / Киев: Здоров'я. – 1981. – 174 с.

Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации. Сиб. отд. АН СССР, Новосибирск: Наука, 1980. – 191с.

Карнаухов В.Н. Биологические функции каратиноидов. – М.: Наука, 1988. – 240 с.

Карпевич А.Ф. Эффективность использования первичной продукции в трофических цепях морских бассейнов // Трофология водных животных, итоги и задачи. – М.: Наука, 1973. – С. 226-275.

Кефели В.И. Природные ингибиторы и фитогормоны. – М., 1974. – 205 с.

Кирюхин В.П. Влияние химических стимуляторов на прорастание и продуктивность картофеля // Физиология растений. – 1961. – вып.3,8. – С.299-303.

Ковалева В.В., Сергеева Л.И. Методика изучения действия токсикантов на рыбу в пищевой цепи: грунт-бентос-рыба // Методы ихтиотоксикологических исследований. – Л.: Наука, 1983. – 320 с.

Ковалева В.В., Сергеева Л.И. Методика изучения действия токсикантов на рыбу в пищевой цепи: грунт-бентос-рыба // Методы ихтиотоксикологических исследований: Тез. докл.1 Всесоюз. симп. Л.: МРХ. Гос. НИОРХ, НПО Промрыбвод, 1987. – С. 56-57.

Козловская В.И., Чуйко Г.М., Подгорная В.А. Определение активности ацетилхолинэстеразы мозга рыб при изучении токсичности фосфорорганических пестицидов // Тез. докл. 1-го Всес. симп. по методам ихтиотоксикологических исследований, октябрь 1987. – Л., 1987. – С. 60-61.

Кокшин В.Д. Формы азота в озерных иловых отложениях: Тр. Лимнологич. станции, вып.22. – Косин, 1939. – С.105-114.

Комаровский Ф.Я. Динамика отравления рыб стойкими пестицидами // Методы ихтиотоксикологических исследований: Тез. докл. 1-го Всес. симп. Л.: МРХ. Гос. НИОРХ, НПО Промрыбвод, 1987. – С. 64-65.

Комаровский Ф.Я., Кулик В.А., Карасина Ф.М. и др. Биомониторы токсического загрязнения водных экосистем // Тез. докл. V Всесоюз. конф. по водной токсикологии. М., 1988. – С. 40.

Комаровский Ф.Я., Карасина Ф.М., Чиркина З.В., Шаповал Т.Н.; Кукля И.Г. Бионакопление стойких токсикантов в р.Дунай / Эксп. «Голубой Дунай -90», Ин-т гидробиологии АН Украины. – Киев, 1992. – С.143-148.

Комаровский Ф.Я., Карасина Ф.М., Чиркина З.В. Бионакопление стойких пестицидов в рыбах, обитающих в Дунае // Водн. ресурсы. – 1993,

20, №4. – С. 520-522.

Константинов А.С. Общая гидробиология. – М.: Высшая школа, 1972. – 472 с.

Константинов А.С. Общая гидробиология. – М.: Высшая школа, 1979. – 480 с.

Константинова Н.С. Инструкция по разведению энхитреид – корма для молоди рыб. – М.: Пищепромиздат, 1955. – 27 с.

Контуги А.С. Взаимодействие пестицидов с мембранными белками клеточных органелл: Сб. науч. тр. / Успехи современной биологии, т.112, №2. – 1992. – С. 200-215.

Корде Б.А., Зенкевич Г.А., Бунка И.Э. Изучение влияния линдана на выживаемость и интенсивность потребления кислорода копеподами Рижского залива: Сб. науч. тр. / Экспериментальная водная токсикология, №8. – Рига, 1982. – С.158-163.

Корпакова И.Г., Воловик С.П. Антидотная терапия водных экосистем. Ростов-на-Дону, 2001. - 329 с.

Лакшина И. Сосулька в стакане // Путь к себе. – 1992. - №5. – С.28-29.

Лиманский В.В., Яржомбек А.А., Бекина Е.Н., Андронников С.Б. Инструкция по физиолого-биохимическим анализам рыбы. – М.: ВНИИПРХ, 1986. – 52 с.

Лукьяненко В.И. Общая токсикология. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 141 с.

Лукьяненко В.И. Как спасти каспийских осетров // Вест. РАН, №2, 1992. – С. 55-74.

Макаров Э.В., Семенов А.Д. Экологические аспекты проблемы развития рыбного хозяйства в Азовском бассейне. Сб. науч. тр. АзНИИРХ / Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна. Ростов-на-Дону: Полиграф, 1996. – С. 6-20.

Маурер Х. Диск – электрофорез. – М.: Мир, 1971. – 247 с.

Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р., Попова Т.Н. Справочник по пестицидам. – М.: Химия, 1985. – 310 с.

Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р. Пестициды и регулято-

ры роста растений / Справочное издание. М.: Химия, 1995. – 576с.

Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. – М.: Колос, 1971. – 245 с.

Методические указания по физиологической оценке питательности кормов рыб. – М.: ВАСХНИЛ, ВНИИПРХ, 1983. – С. 43-44.

Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде (Под ред. М.А. Клисенко). – М.: Колос, 1977. – 367 с.

Моложанова Е.Г., Осокина Н.П. Содержание пестицидов в воде, гидробионтах и донных отложениях Азовского и Черного морей // Тез. докл. 2-й Всес. конф. по рыбохоз. токсикологии, т.2, ноябрь 1991. – Санкт-Петербург, 1991. – С.155-157.

Мороз И.Е. Диагностика интоксикации рыб хлорорганическими соединениями: Сб. науч.тр. // Методы ихтиотоксикологических исследований. – Л., 1987. – С. 103-105.

Мороз И.Е., Жилин В.И. Причины снижения резистентности растительноядных рыб к различного рода загрязнениям // Тез. докл. 2-й Всес. конф. по рыбохоз. токсикологии, т.2, ноябрь 1991. – Санкт-Петербург, 1991. – С.59-60.

Омелянский В.Л. О выделении метана в природе при биологических процессах: Избран. труды, т.1. – М., 1953. – С. 427-440.

Рекомендации по применению активных углей для детоксикации почв, загрязненных остатками пестицидов. – Краснодар, 1990. – 12 с.

Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1967. – 328 с.

Романенко В.И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах. – Л.: Наука, 1985. – 295 с.

Семенов А.Д., Спивак Э.Г., Аксенова Е.И., Идрисова Н.Х., Цыбульский И.Е., Пальчикова Е.И., Скрыпник Г.В., Цема Н.И., Живонкина В.И., Головкин Г.В. К методологии изучения влияния на гидробионтов пестицидов при передаче их по трофической цепи. 1. Накопление линдана в олигохетах. Материалы международной конференции молодых ученых (31 января – 1 февраля 2000г., г. Киев): «Водные биоресурсы и пути их рационального

использования» - Киев, 2000. – С. 100-102.

Семенов А.Д., Короткова Л.И. Коропенко Е.О. Пестицидное загрязнение Азовского моря: Сб. науч. тр. АзНИИРХ / Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. М., 2002. – С. 45-56.

Сергеев Г. Вода помнит все // Свет. – 1990. - №9. – С. 12-19.

Сперанская Т.А. Данные по изучению органического вещества озерных иловых отложений: Тр. Лимнологич. станции, вып.20. – Косин, 1935. – С. 67-80.

Спивак Э.Г., Аксенова Е.И., Идрисова Н.Х., Кренева С.В., Цыбульский И.Е., Пальчикова Е.И., Цема Н.И., Головки Г.В., Живонкина В.И. Материалы по влиянию физических приемов детоксикации на состояние олигохет и накопление в них хлорорганических пестицидов. Материалы международной науч. конф. (6-8 сентября 1995г., г. Киев): «Проблемы рационального использования биоресурсов водохранилищ». – Киев, 1995. – С. 193-194.

Спивак Э.Г., Аксенова Е.И., Идрисова Н.Х., Цыбульский И.Е., Цема Н.И., Головки Г.В., Живонкина В.И. Экспериментальные материалы по влиянию биохимических субстратов на функциональное состояние гидробионтов в процессе накопления и детоксикации хлорорганических пестицидов. Материалы международной науч. конф. (6-8 сентября 1995г., г. Киев): «Проблемы рационального использования биоресурсов водохранилищ». – Киев, 1995^а. – С. 191-192.

Спивак Э.Г., Аксенова Е.И., Идрисова Н.Х., Скрыпник Г.В. Влияние детоксикации гидробионтов на состояние модельной среды. Материалы международной науч. конф. (6-8 сентября 1995г., г. Киев): «Проблемы рационального использования биоресурсов водохранилищ». – Киев, 1995^б. – С. 211-212.

Спивак Э.Г., Аксенова Е.И., Идрисова Н.Х., Пальчикова Е.И., Скрыпник Г.В., Головки Г.В., Живонкина В.И. Экспериментальные материалы по накоплению и влиянию на морских гидробионтов хлорорганических пестицидов при передаче их по трофической цепи. 1. Накопление пестицидов в олигохетах и хирономидах. Материалы международной науч. конф. (8-9 октября 1996г., г. Киев): «Повышение качества рыбной продукции внутренних водоемов». – Киев, 1996. – С.132-133.

Справочник по пестицидам. – М.: Химия, 1985. – 263 с.

Строганов Н.С. Методики определения дыхания у рыб: Сб. науч. тр. / Методики исследований физиологии рыб. – М., 1962. – 268 с.

Толоконникова Л.И. Микробиологические процессы продукции и деградации органического вещества в Азовском море: Дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. – Алма-Ата, 1983. – 140 с.

Фроленко Л.Н. Ивлиева О.В., Беспалова А.А. Современное состояние экосистемы Таганрогского залива // Тез. докл. 2-й Всес. конф. по рыбохозяйственной токсикологии, т.2, ноябрь 1991г. – Санкт – Петербург, 1991. – С. 234-235.

Щербань Э.П. Исследование токсичности некоторых веществ для Cladocera: Сб. науч. тр. / Экспериментальная водная токсикология. – Вып. 11, 1986. – С.137-143.

Яблонская Е.А. Водная взвесь как пищевой материал для организмов бентоса Каспийского моря: Сб. науч. тр. ВНИРО, т.65. – М., 1969. – С. 85-147.

Янатьева Е.В. Картофель и овощи, 4. – 1964. – С. 20-21.

Environ. Monit and Assessment, 9, №1, 1987. – P. 5770.

Geyer H.J., Scheunert I., Bruggemann R., Matthies M., Steinberg C., Zitko V., Garrison W. The relevance of aquatic organisms lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: toxicity of lindane to different fish species // Ecotoxicol and Environ. Safety. – 1994. 28, №1. – P. 53-70.

Krebs H.A. Endeavour, 16, 1957. – P. 125-132.

Lowry O.H., Rosebrough V.I., Farr A.L. Randall R.T. Protein measurement with the Folin-phenol reagent // T. Biol. Chem. – 1951. – v.193 – P. 265-275.

Robbins D.A. (Роббинс Д.А.). Некоторые аспекты взаимодействия между бентосом и осадками в северо – американских Великих озерах и воздействие на них токсикантов: Сб. науч. тр. / Теоретические вопросы водной токсикологии. Л., 1981. – С. 197-213.

Straub F.B. Biochem. J., 33, 1939. – P. 787.

Vallentyne J.R., Bidwell R.Q.S. The relation between free sugars and sedimentary chlorophyll in lake muds. // Ecology. – 1956. – vol.37, №3. – P. 495-500.

Whittaker J.R., Vallentyne J.R. On the occurrence of free sugars in the lake sediment extracts. // Limnol. Oceanogr. – 1957. – vol.2, №2. – P. 98-110.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Систематический список микроводорослей донных отложений

№№ п/п	Виды микроводорослей	Река Кизитеринка	Таганрогский залив	
			опытный грунт	фоновый грунт
Диатомовые				
1	<i>Cyclotella Kuetzingiana</i> Thwait	-	+	-
2	<i>C. comta</i> (Ehr.) Kutz	-	+	-
3	<i>C. baicalensis</i> Skv.	-	+	-
4	<i>Stephanodiscus Hantzschii</i> Grun.	-	+	+
5	<i>Fragilaria virescens</i> Ralfs	-	+	-
6	<i>Asterionella formosa</i> Hass	-	+	-
7	<i>Eunotia exiqua</i> (Breb.) Rabenh.	-	+	-
8	<i>Peronia</i> Breb. et Arn.	-	+	-
9	<i>Achnanthes Bory</i> sp.	-	+	-
10	<i>Navicula Bory</i> sp.	-	+	+
11	<i>N. radiosa</i> Kutz	+	-	-
12	<i>N. gracilis</i> Ehr.	+	-	-
13	<i>Amphora lineolata</i> Ehr.	-	+	-
14	<i>Cylindrotheca gracilis</i> (Breb.) Grun.	+	-	-
15	<i>Nitzschia</i> Hass sp.	+	-	-
16	<i>N. sigmoidea</i> (Ehr.) W. Sm.	-	+	-
Эвгленовые				
1	<i>Trachelomonas</i> Ehrenb.	+	-	-
Протококковые				
1	<i>Chlorella vulgaris</i> Beyer.	+	-	-
2	<i>Hyaloraphidium arcuatum</i> Kors.	-	+	-
3	<i>Kirchneriella obesa</i> (West.) Schmidle	-	-	+
4	<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Breb.	-	-	+
Сине-зеленые				
1	<i>Anabaena Bory</i> sp.	-	+	-
Всего		6	14	4

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Содержание ХОП в пробах олигохет в опытах по детоксикации физическими методами, мкг/г

Наименование пестицида	Фон, грунт	Фон, олигохеты	Активированный уголь 100 мг/100 г		Активированный уголь 200 мг/100 г		Талая вода		Талая вода + Активированный уголь 200 мг/100 г		Контроль	
			1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки
α-ГХЦГ	0,0008	0,003	0,0010	0,0005	0,0003	0,0004	0,0003	0,0003	0,0009	0,0003	0,0002	0,0018
γ-ГХЦГ	0,0005	0,003	0,0010	0,0010	0,0010	0,0007	0,0005	0,0007	0,0006	0,0006	0,0009	0,0010
β-ГХЦГ	0,0020	0,003	0,0015	0,0012	0,0014	0,0005	0,0006	0,0009	0,0008	0,0005	0,0011	0,0011
αп - ДДЕ	0,0020	0,008	0,0038	0,0073	0,0024	0,0042	0,0029	0,0035	0,0036	0,0034	0,0024	0,0043
πп' - ДДЕ	0,0010	0,005	0,0020	0,0041	0,0014	0,0077	0,0016	0,0024	0,0020	0,0022	0,0012	0,0030
πп' - ДДТ	0,0020	0,011	0,0054	0,0095	0,0036	0,0059	0,0045	0,0045	0,0054	0,0045	0,0036	0,0059
Σ ХОП	0,0083	0,033	0,0147	0,0236	0,0101	0,0194	0,0104	0,0133	0,0133	0,0115	0,0094	0,0171

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Содержание ХОП в олигохетах (2-й партии) в опытах по детоксикации биохимическими методами, мкг/г

Наименование пестицида	Фон перед экспериментом	Янтарная кислота 10 мг/л + В ₂		Янтарная кислота 40 мг/л + В ₂		Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅		Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅		Контроль	
		1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки
α-ГХЦГ	0,0052	0,0027	0,0015	0,0024	0,0008	0,0017	0,0012	0,0040	0,0014	0,0009	0,0006
γ-ГХЦГ	0,0026	0,0027	0,0007	0,0026	0,0005	0,0015	0,0007	0,0031	0,0007	0,0007	0,0003
β-ГХЦГ	0,0033	0,0029	0,0010	0,0033	0,0006	0,0017	0,0008	0,0037	0,0010	0,0008	0,0004
αп - ДДЕ	0,0017	0,0033	0,0011	0,0012	0,0006	0,0017	0,0008	0,0030	0,0008	0,0004	0,0006
πп' - ДДЕ	0,0065	0,0047	0,0035	0,0050	0,0013	0,0028	0,0025	0,0065	0,0027	0,0015	0,0017
πп' - ДДД	0,0061	0,0046	0,0036	0,0051	0,0022	0,0026	0,0027	0,0055	0,0032	0,0013	0,0017
πп' - ДДТ	0,0047	0,0032	0,0014	0,0031	0,0009	0,0018	0,0013	0,0043	0,0016	0,0008	0,0010
Σ ХОП	0,0301	0,0241	0,0128	0,0227	0,0069	0,0138	0,0100	0,0301	0,0114	0,0064	0,0063

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Содержание ХОП в пробах олигохет в опытах по детоксикации биохимическими методами, мкг/г

Наименование пестицидов	НОФ	Янтарная к-та 10 мг/л + В ₂		Янтарная к-та 40 мг/л + В ₂		Глюкоза 1,55 мг/л + В ₅		Глюкоза 3,1 мг/л + В ₅		Проточность		Контроль	
		1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	1-е сутки	5-е сутки
α-ГХЦГ	-	0,0041	0,0045	0,0035	0,0010	0,0042	0,0021	0,0041	0,0020	0,0013	0,0001	0,0033	0,0021
γ-ГХЦГ	-	0,0014	0,0004	0,0019	0,0001	0,0009	0,0002	0,0010	0,0002	0,0003	0,00005	0,0012	0,0004
β-ГХЦГ	-	0,0016	0,0012	0,0025	0,0003	0,0015	0,0011	0,0017	0,0018	0,0007	0,00005	0,0017	0,0014
о п - ДДЕ	-	0,0011	0,0006	0,0034	0,0001	0,0008	0,0006	0,0019	0,0008	0,0006	0,0002	0,0020	0,0004
п п' - ДДЕ	-	0,0039	0,0034	0,0051	0,0008	0,0032	0,0029	0,0035	0,0046	0,0037	0,0012	0,0033	0,0029
п п' - ДДД	-	0,0038	0,0032	0,0052	0,0006	0,0032	0,0027	0,0036	0,0048	0,0031	0,0008	0,0034	0,0031
п п' - ДДТ	-	0,0019	0,0012	0,0023	0,0005	0,0013	0,0014	0,0015	0,0014	0,0019	0,0005	0,0014	0,0010
Σ ХОП	0,0151	0,0178	0,0145	0,0238	0,0034	0,0151	0,0110	0,0173	0,0156	0,0116	0,0029	0,0163	0,0113

Научное издание

Спивак Э.Г.

**ВЛИЯНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ
НА СОСТОЯНИЕ ОЛИГОХЕТ И СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ
ИХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Редактор: Потапенко Е.С.

Художественный редактор, верстка: Потапенко Е.С.

Подписано в печать 12.07.2008. Печать офсетная.
Бумага офсетная. Формат 60x84/16. Объем 5,8 п.л. Заказ № 774
Тираж 300 экз.

Издательство ООО "Диапазон"
г. Ростов-на-Дону