

УДК 591.597.6

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМФИБИЙ В БИОИНДИКАЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА¹

© 1996 г. О. А. Пястолова, В. Л. Вершинин, Е. А. Трубецкая, Э. З. Гатиятуллина

Институт экологии растений и животных УрО РАН

620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

Поступила в редакцию 06.09.95 г.

В результате проведенного в 1993 г. обследования популяции остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilss., обитающей в районе оз. Берданци на загрязненной радионуклидами территории, обнаружены изменения популяционной структуры и появление специфических черт, физиологических и генетических отличий от естественных популяций, которые могут быть использованы для биоиндикационных целей, а также при изучении микрэволюционных процессов, протекающих в новых условиях среды.

В последние годы в мировой природоохранительной практике заметно возросло число работ, широко использующих биологические методы оценки состояния водных и наземных экосистем. Простота реализации многих биотестов, их высокая чувствительность позволяют получать информацию, которую не могут дать традиционные химические анализы и инструментальные средства. Биологические методы позволяют выявить не только степень и интенсивность воздействия того или иного загрязнителя, но и проследить динамику деградации экосистем во времени и в пространстве. Анализ литературных (Жукова, Кубанцев, 1980) и наших данных (Пястолова и др., 1990; Пястолова, Данилова, 1986; Вершинин, 1982, 1990) показывает, что реакция животных на различные дозы загрязняющих веществ неодинакова. Поэтому при изучении влияния на биологические объекты антропогенных факторов следует учитывать биологические особенности используемых для этих целей групп животных, норму реакции, особенности онтогенеза, место и роль в структуре биогеоценозов.

Проявление такого фактора, каким является ионизирующая радиация, приводит не только к изменениям в структуре сообществ, но и к возникновению форм с новыми свойствами, что по сути означает ускорение темпов эволюционных процессов. Для некоторых видов радиация губительна, что ведет к их элиминации, другие оказываются устойчивыми, и их доля в сообществе и даже численность могут увеличиваться. Ионизирующее излучение снижает жизнестойкость животных, вследствие чего увеличивается поражен-

ность эндо- и эктопаразитами (Лебединский, Рыжкова, 1994), появляются благоприятные условия для распространения трансмиссивных и других природноочаговых заболеваний (Криволукский, 1983; Криволукский и др., 1993; Ильенко, Крапивко, 1993).

Исследование позвоночных животных – объектов, обладающих общим планом строения с человеком и близких к нему по физиологическим, биохимическим, генетическим и другим параметрам, имеет исключительно важное значение для познания адаптаций к ионизирующему излучению (Ильенко, 1974; Ильенко и др., 1974). Однако большинство исследований в естественных условиях и эксперименте проведено на млекопитающих (грызунах и лабораторных животных) и редко на земноводных (Усачев и др., 1993; Черданцев и др., 1993), – объекте, в силу своих биологических особенностей весьма удобном для оценки состояния экосистем (как наземных, так и водных). Их широкое распространение, очерченность границ популяций, морфологический полиморфизм, способность аккумулировать поллютанты, тяжелые металлы, радионуклиды, возможность использования отдельных видов в условиях лабораторного эксперимента, хорошая изученность их экологии и биологии позволяют использовать данную группу позвоночных в качестве биоиндикаторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию экологической ситуации на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа, изучению длительного действия радионуклидов на живые организмы в природных усло-

¹ Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 93-04-7888).

виях. Данная работа проведена на территории Опытной научно-исследовательской станции при Производственном объединении "Маяк" (Челябинская область). В качестве опытного полигона использована загрязненная радионуклидами территория, примыкающая к оз. Берданиш, где непосредственное влияние других видов загрязнений практически отсутствует. Контрольный участок находился в районе Долгобродского водохранилища, где исключено влияние каких-либо загрязнений. В качестве объекта исследования использовали остромордую лягушку (*Rana arvalis* Nilss.), которая широко распространена в этом регионе. Работа проведена в весенне-летний период 1993 г.

Для оценки состояния популяций использовали морфологические и морфофункциональные показатели сеголеток и взрослых животных, учитывали встречаемость различных типов аномалий, оценивали репродуктивные способности (количество икринок в кладе, их диаметр, ювенильные особенности, выживаемость эмбрионов и личинок).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования репродуктивных показателей взято 19 опытных и 12 контрольных кладок икры, измерен их объем, определено количество икринок в кладке. Оказалось, что по количеству икринок различия незначительны и составили в среднем 896.3 ± 42.7 в опыте и 916.7 ± 70.4 в контроле, однако объем кладок различался достоверно и составил соответственно 89.5 ± 6.7 и 187.2 ± 14.9 мл. Отмечена устойчивая тенденция уменьшения средних размеров яиц в популяции из загрязненной зоны. Так, средние диаметры яиц на стадии 11–12 (Дабагян, Слепцова, 1975) составили 1.68 ± 0.02 мм ($n = 80$) в опыте и 1.71 ± 0.01 мм ($n = 60$) в контроле; на стадии 16–17 – соответственно 1.79 ± 0.017 мм ($n = 100$) и 1.85 ± 0.016 мм ($n = 60$). Следует подчеркнуть увеличение частоты встречаемости кладок с мелкими зародышами в водоемах загрязненной зоны. Подобное явление отмечено нами ранее в популяциях остромордой лягушки на урбанизированных территориях (Вершинин, Гатильтулина, 1994) и в районе аварии Чернобыльской АЭС (Черданцев и др. 1993).

Эксперименты также показали, что эмбриональная смертность почти в 7 раз выше в кладках загрязненной территории. Так, 30-й стадии развития достигли лишь $11.82 \pm 2.36\%$ опытных животных, в то время как в контроле она составила $79.77 \pm 5.78\%$. В период развития икры отмечен преждевременный распад комков на отдельные икринки, выпадение личинок из оболочек и значительная их гибель. Многочисленные лабораторные наблюдения показали, что выживает в

среднем от 400 до 800 личинок на самку. Количество же вышедших личинок из кладок загрязненного района оказалось очень низким и составило 89 особей на кладку. Таким образом, исследования эмбрионального развития остромордой лягушки на загрязненной радионуклидами территории подтвердили полученные нами ранее результаты на популяциях, обитающих на урбанизированных и техногенных территориях. Отмечается общая закономерность – под влиянием антропогенных факторов уменьшаются масса и размеры икринок, происходит снижение физиологического качества и выживаемости особей.

С целью изучения выживаемости и развития вышедших личинок после завершения эмбриогенеза наблюдения были продолжены. Животные, достигшие 39-й стадии развития (Дабагян, Слепцова, 1975), из шести опытных и шести контрольных кладок были рассажены в трехлитровые сосуды (плотность 2 личинки на литр) в пяти повторностях для каждой кладки. Развитие происходило при температуре 20–22°C, в качестве корма использовали вареные листья одуванчика. В ходе эксперимента определяли скорость развития, выживаемость в личиночный период и период метаморфического климакса. Также было отловлено в природе на опытном и контрольном участках 114 сеголеток и 23 взрослые особи.

Известно, что поддержание динамического полиморфизма в популяциях земноводных в значительной степени определяется дифференцированной выживаемостью различных генетических вариантов на разных этапах онтогенеза в различных условиях среды (Пикулик, 1978а, б). Соотношение различных морф в популяции отражает специфику генетической структуры и может быть использовано в практике экологического мониторинга. Один из существующих морфотипов остромордой лягушки *striata* (наличие дорсомедиальной светлой полосы на спине) является результатом действия одного аутосомного гена при полном доминировании одного из аллелей. Аллель, определяющий наличие полосы, – доминантный (Шупак, 1977). Особям данной морфы свойственен ряд физиологических особенностей, дающих им преимущество при обитании в антропогенной среде (Гоголева, 1989).

Известен ряд особенностей метаболизма, которые определяют адаптивную ценность полосатых особей в условиях загрязнения и урбанизации (Добринский, Малафеев, 1974). Установлено (Усачев и др., 1993) также, что на первом году жизни особи указанной морфы депонируют ^{90}Sr в значительно большей степени, чем бесполосатые особи, что авторы связывают с особенностями обменных процессов. Способность к повышенной аккумуляции металлов формой *striata* отмечается и другими исследователями (Шарыгин,

Таблица 1. Встречаемость морфы *striata* в популяциях остромордой лягушки (ионь), %

Местообитание	Сеголетки	Взрослые
оз. Берданиш	53.0 (<i>n</i> = 30)	58.3 (<i>n</i> = 12)
Долгобродское водохранилище	22.0 (<i>n</i> = 54)	18.0 (<i>n</i> = 11)

Таблица 2. Встречаемость морфы *striata* у сеголеток, прошедших развитие в лаборатории

Место отбора икры	№ кладки	Количество животных в опыте	% <i>striata</i>
оз. Берданиш	1	18	50
	2	22	100
	3	21	52
	4	12	50
	5	24	37
	6	18	0
Долгобродское водохранилище	1–4	71	0
	5	11	54
	6	23	35

1980а, б). Как правило, в естественных популяциях с низкой степенью антропогенного воздействия доля особей *striata* заметно ниже. Высокая встречаемость морфы *striata* у сеголетков и взрослых особей остромордой лягушки, обитающей в прибрежной зоне оз. Берданиш (табл. 1), свидетельствует о направленных изменениях в генетической структуре исследуемой популяции в сторону преобладания особей с высоким уровнем обменных процессов. Однако встречаемость морфотипа *striata* у сеголеток, прошедших развитие в условиях лабораторного эксперимента, оказалась несколько иной (табл. 2). Из шести контрольных проб в четырех вышли только бесполосые животные, в одной пробе они составили 65% и лишь в одной пробе (№ 5) было 54% полосатых особей. В целом по всем контрольным кладкам морфа *striata* составила 14.8%, в опыте – 48.2%. Среди кладок оз. Берданиш в одной отсутствовали особи с полосой, в другой – без полосы.

Отсутствие четко выраженных отличий в соотношении морф у лабораторных групп животных, возможно, связано с селективной элиминацией различных морфотипов как в природных условиях, так и в условиях лабораторного эксперимента.

Изучение реакции животных на изменение условий среды (хронологический аспект проблемы) мы попытались проследить с помощью метода морфофункциональных индикаторов (Шварц и др., 1968). Результаты обследования некоторых показателей сеголеток остромордой лягушки, отловленных в естественных условиях (табл. 3), позволяют говорить об укрупнении размеров животных популяций оз. Берданиш. Эти различия, видимо, связаны как с преимущественным выживанием крупных особей, так и со спецификой водоемов, в которых протекала их развитие. Относительно более низкий индекс печени ($p \leq 0.01$), вероятно, свидетельствует о более высоких энергетических затратах. Наличие таких изменений указывает на присутствие определенных физиологических процессов, проявляющихся в разной скорости обмена у крупных и мелких животных. Кроме того, известно, что размер печени отчетливо зависит от интенсивности обмена веществ.

Обычно масса сердца определяется некоторыми специфическими особенностями животных, в частности скоростью их роста. На млекопитающих показано, что быстро растущие животные четко отличаются от медленно растущих больших размерами сердца (Шварц и др., 1968). В то же время резкое отклонение массы сердца от нормальных величин может быть связано с нарушениями или изменениями в среде обитания. Сравнение частот распределения значений индексов сердца и печени у сеголеток показало наличие отклонений в распределении от нормального – преобладают особи с низкими значениями обоих индексов, что говорит о наличии направленного давления отбора. Отсутствие подобных отличий среди сеголеток, развивавшихся в условиях лабораторного эксперимента, подтверждает данное предположение (табл. 4).

Анализ морфофункциональных показателей взрослых особей (табл. 5) показал, что животные из загрязненной радионуклидами зоны значительно мельче, чем контрольные, однако индексы печени и сердца практически не отличаются.

Таблица 3. Морфофункциональные показатели ($M \pm m$) сеголеток из естественных популяций

Место и время отлова	Масса тела, мг	Длина тела, мм	Индекс, %		
			печени	кишечника	сердца
оз. Берданиш (29.06.93)	531.16 ± 27.53	17.86 ± 0.3	53.05 ± 2.0	134.02 ± 4.92	2.97 ± 0.33
Долгобродское водохранилище (29.06.93)	306.59 ± 5.59	14.46 ± 0.12	63.49 ± 1.58	133.8 ± 2.18	4.01 ± 0.23

Таблица 4. Морфофизиологические показатели ($M \pm m$) сеголеток из лабораторного эксперимента

Место и время взятия икры	Количество животных	Масса тела, мг	Длина тела, мм	Индекс, %	
				печени	кишечника
оз. Берданиш (06.05.93)	115	178.9 ± 5.46	12.75 ± 0.13	49.83 ± 0.96	111.5 ± 1.26
Долгобродское водохранилище (06.05.93)	105	185.99 ± 4.64	12.96 ± 0.11	50.63 ± 0.99	114.1 ± 1.47

Таблица 5. Данные регрессионного анализа зависимости массы органов от длины тела у взрослых остромордых лягушек

Органы	Оз. Берданиш			Долгобродское водохранилище		
	R	a	b	R	a	b
Почки	0.692	0.96	-19.15	0.876	1.95	-57.40
Селезенка	0.41	0.23	-2.63	0.52	2.79	-95.80
Печень	0.877	13.87	-348.83	0.842	31.05	-1091.58
Сердце	0.95	1.023	-21.699	0.926	1.88	-52.048

Снижение относительного веса селезенки может свидетельствовать об угнетенности кроветворной функции животных из загрязненной зоны. Мелкие размеры производителей могут быть связаны с сокращением продолжительности жизни репродуктивного ядра популяции, что, как правило, отмечается на загрязненных территориях (Ушаков и др., 1982; Вершинин, Волегова, 1993). Расчет отношения массы тела к длине показал, что упитанность животных на опытном полигоне существенно ниже, чем контрольных животных, и составила соответственно 123.13 ± 11.8 и 256.6 ± 20.4 усл. ед. Это может быть обусловлено преобладанием в популяции особей с высоким уровнем обмена, способных на эффективное выведение из организма радионуклидов или снижением количества пищевых объектов (насекомых и других беспозвоночных) на территории, загрязненной радионуклидами.

Регрессионный анализ зависимости веса сердца, печени, почек, селезенки от длины тела у взрослых животных во всех случаях установил прямую линейную связь между этими показателями, но коэффициент регрессии у животных, отловленных загрязненной зоне и у контрольных особей, четко отличается (табл. 5). Причем значения *a* и *b* в контроле близки к цифрам, полученным нами в другом чистом районе данной ландшафтной территории, что свидетельствует как о различиях в уровне обменных процессов, так и об изменениях в органах кроветворения. Различия в коэффициентах регрессии также выявлены на зависимости веса печени от длины тела у сеголеток.

Частота встречаемости морфологических аномалий также может быть использована для оценки качества среды обитания животных (Cooke,

1981; Вершинин, 1982). Сравнение доли особей с аномалиями среди сеголеток показало, что суммарная встречааемость различных типов морфологических аномалий на загрязненной территории составила 16.7% (*n* = 60), в контроле – 1.83% (*n* = 54), что свидетельствует о неблагоприятной экологической обстановке в районе оз. Берданиш. Аналогичные результаты получены на *Rana arvalis* и *R. temporaria* для Брянской области (Корнилова, 1993).

Таким образом, в результате изучения длительного воздействия ионизирующих излучений на популяцию *R. arvalis* установлено доминирование этого вида на исследуемой территории. Обнаружены изменения популяционной структуры и появление специфических фенотипических черт, выражющиеся в преобладании доли самок в популяции, в изменении соотношения морф (увеличение доли *stria*); преимущественное выживание сеголеток крупных размеров при сравнительно меньших, по сравнению с контрольными животными, половозрелых особей, что, вероятно, связано с ранним половым созреванием и меньшей продолжительностью жизни на загрязненной территории. Увеличение частот аномалий отражает потенциальную генетическую опасность условий обитания. Анализ морфофункциональных особенностей свидетельствует о преобладании в популяции животных с высоким уровнем обменных процессов, угнетенной функцией кроветворных органов. Неблагоприятное радиоактивное воздействие отражается и на fertilitate половых продуктов, росте эмбриональной смертности, уменьшении диаметра икринок, снижении общей устойчивости организма. Сложившийся комплекс особенностей популяционной

структурой исследуемого вида свидетельствует о преобладании в обследуемой популяции животных, фенотипически и физиологически отличных от естественных популяций, что, с одной стороны, является отражением экологической ситуации в условиях загрязнения радионуклидами, с другой — говорит о наличии адаптивных изменений, способствующих существованию и воспроизведству вида в новых условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вершинин В.Л.** Городские группировки земноводных как критерий оценки состояния мелких водоемов // Проблемы экологии Прибайкалья. Иркутск, 1982. Ч. 1. С. 19–22.
- Вершинин В.Л.** О встречаемости морфы стриата у озерной лягушки на городской территории // Фенетика популяций. М., 1990. С. 44–45.
- Вершинин В.Л., Волегова Э.В.** Анализ размерно-возрастного состава производителей *Rana temporaria* (L.) на территории промышленного города // Зоонидикация и экотоксикология животных в техногенных ландшафтах. Днепропетровск, 1993. С. 113.
- Вершинин В.Л., Гатиятуллина Э.З.** Популяционная изменчивость размеров яиц остромордой лягушки в зависимости от уровня урбанизации // Экология. 1994. № 5. С. 95–100.
- Гоголева Н.П.** Полиморфизм в популяциях бесхвостых амфибий // Вопросы герпетологии. Киев: Наукова думка, 1989. С. 63–64.
- Дабаян Н.В., Слепцова Л.А.** Травяная лягушка (*Rana temporaria* L.) // Объекты биологии развития. М., 1975. С. 442–462.
- Добринский Л.Н., Малафеев Ю.М.** Методика изучения интенсивности выделения углекислого газа мелкими пойкилотормными животными с помощью оптикоакустического газоанализатора // Экология. 1974. № 1. С. 73–78.
- Жукова Т.И., Кубанцев Б.С.** Различия в состоянии горна озерной лягушки в зависимости от степени антропогенных воздействий на среду их обитания // Антропогенные воздействия на природные комплексы и экосистемы. Волгоград, 1980. С. 51–56.
- Ильенко А.И.** Концентрирование животными радиоизотопов и их влияние на популяцию. М.: Наука, 1974. С. 73–80.
- Ильенко А.И., Исаев С.И., Рябцев И.А.** Радиочувствительность некоторых видов мелких млекопитающих и возможность адаптации популяций грызунов к искусственноому загрязнению биоценоза стронцием-90 // Радиобиология. 1974. Т. 14. № 4. С. 27–32.
- Ильенко А.И., Крапивко Т.Т.** Экологические последствия радиоактивного загрязнения для популяций мелких млекопитающих-стронциеворов // Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.: Наука, 1993. С. 171–181.
- Корнилова М.Б.** Характеристика популяций бурьих лягушек в районах с повышенным радиационным фоном // Тез. докл. Радиобиол. съезда. Ч. 2. Пущино, 1993. С. 502.
- Криволуцкий Д.А.** Радиоэкология сообществ наземных животных. М.: Энергоатомиздат, 1983. 87 с.
- Криволуцкий Д.А., Усачев В.Л., Архиереева А.И., Шеин Г.П.** Изменение структуры животного населения (наземных и почвенных беспозвоночных) под влиянием загрязнения местности стронцием-90 // Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.: Наука, 1993. С. 241–249.
- Лебединский А.А., Рыжкова Н.А.** Гельминтоинвазия как биологический фактор, влияющий на состояние лягушек в условиях антропогенного воздействия // Экология и охрана окружающей среды. Рязань, 1994. С. 95–96.
- Пикудук М.М.** Экспериментальное изучение изменчивости генетического состава сеголеток земноводных // Физиологическая и популяционная экология животных. Саратов, 1978а. Вып. 6. С. 85–89.
- Пикудук М.М.** О некоторых морфологических особенностях сеголеток бесхвостых амфибий в зависимости от плотности развития личинок // Вопросы естествознания. Минск, 1978б. С. 55–58.
- Пястолова О.А., Некрасова Л.С., Вершинин В.Л., Лукьянова Л.Е., Лукьянов О.А., Гатиятуллина Э.З.** Принципы зоологического контроля природной среды // Проблемы экологического мониторинга. Т. 12. Л.: Гидромет, 1990. С. 220–234.
- Пястолова О.А., Данилова М.Н.** Рост и развитие *R. arvalis* в условиях имитации нефтяного загрязнения // Экология. 1986. № 4. С. 27–34.
- Усачев В.Л., Тарасов О.В., Семенов Д.В.** Популяции рептилий и амфибий на территории ВУРС // Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.: Наука, 1993. С. 192–194.
- Ушаков В.А., Лебединский А.А., Греффнер Н.М.** Анализ размерно-возрастной структуры популяции травяной лягушки на урбанизированной территории // Вестник зоологии. 1982. № 2. С. 67–68.
- Черданцев В.Г., Ляиков С.М., Черданцева Е.М., Северцов А.С.** Методы и результаты анализа экологической устойчивости популяций бурьих лягушек при радиационном загрязнении // Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.: Наука, 1993. С. 303–307.
- Шарыгин С.А.** Микроэлементы в организме некоторых амфибий и рептилий и их динамика под влиянием антропогенных факторов / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1980а. 24 с.
- Шарыгин С.А.** Содержание микроэлементов в организме остромордой лягушки // Вид и его продуктивность в ареале. Вильнюс, 1980б. С. 78–80.
- Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н.** Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // Труды Института экологии растений и животных. Свердловск, 1968. Вып. 58. 387 с.
- Шупак Е.Л.** Наследование спинной полосы особями остромордой лягушки // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1977. С. 36.
- Cooke A.S.** Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field // Environ. Pollut. 1981. Ser. A. V. 25. P. 123–133.