На правах рукописи

УДК 574+595.143(470.51/.54)

Черная Людмила Владимировна

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ГИРУДОФАУНЫ СРЕДНЕГО УРАЛА

03. 00. 16. – экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Екатеринбург - 2003

Работа выполнена в лаборатории экологических основ изменчивости организмов и биоразнообразия Института экологии растений и животных Уральского отделения РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук
Ковальчук Людмила Ахметовна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Бароненко Валентина Александровна

кандидат биологических наук
Ярушина Маргарита Ивановна

Ведущая организация Институт биологии развития
им. Н. К. Кольцова РАН

Защита диссертации состоится «28» октября 2003 г.
в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 004. 005. 01. при Институте экологии растений и животных УрО РАН по адресу: 620144 г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии растений и животных УрО РАН

Нифонтова М.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Для территории России, характеризующейся исключительным разнообразием геохимической ситуации и неравномерным распределением антропогенной нагрузки, важное практическое значение имеют исследования регионов с экстремальными условиями обитания, определяющимися как природными, так и антропогенными факторами. Циркуляция в абиотических и биотических средах чужеродных живым организмам соединений, возросла до уровня, угрожающего как нарушению внутри- и межвидовых взаимодействий водных организмов, так и их нормальному развитию и обеднению видового разнообразия (Одум,1979, Авцын и др.,1985, Агаджанян и др.,1996). Средний Урал, в силу своих географических особенностей относится к регионам с низким уровнем обеспеченности водными ресурсами. В то же время, в этом районе исторически шло развитие промышленности, в частности черной и цветной металлургии, химии и т. д., для которых характерно масштабное и интенсивное воздействие на водный бассейн. Максимальному воздействию подвергаются гидробионты, обитающие в придонных слоях воды и в донных отложениях. В силу этих причин проблемы, связанные с водной средой и гидробионтами, имеют для этого региона приоритетное значение. Типичные представители бентосных организмов: пиявки, активно участвуя в экологических процессах среды обитания, составляют существенный компонент биологического разнообразия и являются своеобразными индикаторами биогеохимической ситуации экосистемы.

Анализ научных публикаций показывает, что в последние десятилетия комплексные эколого-фаунистические исследования представителей класса *Hirudinea*, обитающих в водоемах Среднего Урала практически не проводились. В отдельных работах зоологов по структуре и функциям водных биоценозов и

гидробиологическим характеристикам водоемов Урала отмечается сравнительно низкая (по отношению к другим классам) численность пиявок, достаточно редкая встречаемость (Дексбах и др., 1958; Степанова,1979; Загузова, 1989; Степанов, 2001). В представленных работах авторы не рассматривают механизмы, обеспечивающие устойчивость популяций представителей фауны донных беспозвоночных класса *Hirudinea*, обитающих в водоемах Уральского региона. Закономерности распространения пиявок по водоемам различных типов, несмотря на большое практическое значение их в природе остается совершенно неизученной проблемой. Актуальность и состояние вопроса об экологии, физиологии и адаптивных возможностях представителей гирудофауны в естественной среде обитания и при антропогенных воздействиях, предопределило цели и задачи нашего исследования.

Цель работы: Провести комплексные эколого-фаунистические исследования представителей фауны донных беспозвоночных класса *Hirudinea* в водоемах Среднего Урала. Изучить эколого-физиологические особенности основных видов пиявок, обитающих в водоемах различного типа при действии естественных и антропогенных факторов среды.

Задачи исследования:1. Определить видовой состав и выявить наиболее устойчивые формы пиявок в различных водоемах Свердловской области. 2. Исследовать фоновые уровни накопления токсических элементов в тканях различных видов пиявок, обитающих в водоемах Среднего Урала. 3. Экспериментально, в контролируемых условиях, определить токсикологическую значимость тест-реакции (смена статичного состояния пиявок на динамичное) на присутствие ионов тяжелых металлов в водной среде. 4. Провести сравнительный анализ качественного и количественного состава аминокислотного фонда тканей пиявок. 5. Разработать рекомендации в оценке экологического состояния

водоемов по количественному и качественному составу представителей класса *Hirudinea*.

Научная новизна работы. В результате комплексных эколого-фаунистических обследований водоемов Свердловской области показано, что фауна пиявок включает восемь видов, принадлежащих к четырем семействам: *Glossiphonia complanata* L., *G.concolor* Apathy, *Helobdella stagnalis* L., *Hemiclepsis marginata* Mull (сем. *Glossiphoniidae*); *Piscicola geometra* L. (сем. *Ichthyobdellidae*); *Erpobdella octoculata* L., *E.nigricollis* Brand (сем. *Erpobdellidae*); *Haemopis sanguisuga* L. (сем. *Hirudinea*).

Получены новые данные по биологии, экологии основных видов гирудофауны Среднего Урала. Впервые показана межпопуляционная изменчивость средней массы тела пиявок из разного типа водоемов.

Изучение фауны пиявок показало значительное обеднение видового разнообразия в водоемах Свердловской области, подверженных персистентному загрязнению поллютантами. В зонах высокого токсического загрязнения водоемов отмечена резистентность к химическим агентам у хищной челюстной пиявки *Haemopis sanguisuga* и глоточной пиявки *Erpobdella octoculata*.

Впервые показаны популяционные различия по уровню накопления тяжелых металлов тканями пиявок из природных популяций Среднего Урала. Биоаккумуляция химических элементов тканями пиявок видоспецифична, имеет направленный характер и зависит от фактора и продолжительности воздействия. Установлена прямая корреляционная зависимость аккумуляции тяжелых цветных металлов (ТМ) тканями пиявок от содержания экотоксикантов в водной среде.

Впервые экспериментально показана высокая резистентность пиявок уральских популяций к значительным концентрациям ТМ в водной среде, в отличие от особей из водоемов Тамбовской области.

Впервые с помощью современного метода ионообменной хроматографии дана количественная и качественная оценка состояния аминокислотного фонда тканей исследованных видов пиявок. Отмечен повышенный исходный уровень азотистого обмена у большой (*Haemopis sanguisuga*) и малой (*Erpobdella octoculata*) ложноконских пиявок, коррелирующий с их высокой резистентностью к действию токсикантов в водной среде.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные экспериментальные результаты, дополняя данные других исследователей, позволяют расширить современные представления теории адаптации и механизмов аварийного регулирования в организме при сочетанном воздействии экстремальных природных и антропогенных факторов среды обитания.

Материалы диссертации могут быть использованы для решения вопросов прикладной зоологии и экологии, связанных с прогнозированием численности и управлением популяционной динамикой представителей фауны донных беспозвоночных класса *Hirudinea* в водоемах Среднего Урала.

Показана принципиальная возможность использования пиявок *Haemopis sanguisuga, Erpobdella octoculata* и *Glossiphonia complanata* из природных популяций как объектов биоиндикации качества водных систем Уральского региона при экологическом мониторинге окружающей среды.

Результаты научных исследований и теоретических выводов используются при подготовке курсовых и дипломных работ, специализирующихся при кафедрах «зоологии» и «физиологии человека и животных» биологического факультета Уральского государственного университета им. А. М. Горького.

Основные результаты исследований могут быть использованы в курсах лекций по зоологии, гидробиологии, экологии, сравнительной физиологии животных.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фауна пиявок водоемов Среднего Урала представлена восемью видами, принадлежащими к четырем семействам: *Glossiphonia complanata, G.concolor, Helobdella stagnalis, Hemiclepsis marginata* (семейство *Glossiphoniidae*), *Piscicola geometra* (семейство *Ichthyobdellidae*), *Erpobdella octoculata, E.nigricollis* (семейство *Erpobdellidae*) и *Haemopis sanguisuga* (семейство *Hirudinidae*).

2. Биоаккумуляция тяжелых металлов (Zn, Cu, Cd, Pb) тканями пиявок из природных популяций Среднего Урала видоспецифична, имеет направленный характер и зависит от фактора и продолжительности воздействия. Аккумуляция тяжелых металлов (ТМ) тканями пиявок напрямую зависит от концентрации экотоксикантов в водной среде. Специфическая способность пиявок аккумулировать ТМ позволяет использовать их как прямой показатель, указывающий на антропогенное воздействие на ранних его стадиях, когда еще не выражены морфо-физиологические изменения организма и последующие за ними функциональные и структурные перестройки водной экосистемы (биомасса, видовое разнообразие, продуктивность и т.д.).

3. Исходный уровень азотистого метаболизма пиявок Среднего Урала обусловлен как видовой спецификой питания, так и воздействием постоянных факторов среды обитания. Приспособление пиявок к повышенному фону тяжелых металлов в водной среде идет по пути увеличения общего содержания свободных аминокислот.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на конференциях молодых ученых Института экологии растений и животных РАН (г. Екатеринбург, 2000, 2001, 2002, 2003); на VII и VIII молодежных научных конференциях Института биологии Коми НЦ УрО РАН «Актуальные проблемы биологии» (г. Сыктывкар, 2000, 2001); на первой молодежной школе и

конференции МГУ (Москва, 2000); на 6-й Пущинской школе - конференции молодых ученых «Биология – наука 21 века» (г. Пущино, 2002); на международной конференции «Экологические проблемы горных территорий» (г. Екатеринбург, 2002); на XII конференции молодых ученых «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия» (г. Борок, 2002); на международной конференции «Разнообразие беспозвоночных животных на Севере» (Сыктывкар, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ.

Структура и объем работы. Общий объем диссертации составляет 194 страницы и содержит введение, 5 глав, заключение, выводы, список используемой литературы, включающий 153 работы отечественных и 94 работы иностранных авторов, 11 таблиц и 24 рисунка.

Глава 1. Экологические и физиологические особенности пиявок (литературный обзор)

Анализируются литературные данные об отношении пиявок к абиотическим и биотическим факторам среды, практическое значение представителей класса *Hirudinea*.

Глава 2. Объекты и методы исследований

Объектами наших исследований стали взрослые особи 8 видов пиявок, принадлежащих к 4 семействам, обитающие в водоемах Свердловской области и г. Екатеринбурга: *Glossiphonia complanata* L., *G.concolor* Apathy, *Helobdella stagnalis* L., *Hemiclepsis marginata* Mull (сем. *Glossiphoniidae*), *Piscicola geometra* L. (сем. *Ichthyobdellidae*), *Erpobdella octoculata* L., *E.nigricollis* Brand (сем. *Erpobdellidae*), *Haemopis sanguisuga* L. (сем. *Hirudinea*). В экспериментах также были использованы половозрелые пиявки 6 видов, принадлежащих к 3 семействам, отловленные в водоемах Тамбовской области (фоновая зона): *Glossiphonia*

complanata L., *G.concolor* Apathy (сем. *Glossiphoniidae*), *Erpobdella octoculata* L., *E.nigricollis* Brand (сем. *Erpobdellidae*), *Haemopis sanguisuga* L. и *Hirudo medicinalis* L. (сем. *Hirudinea*). Сбор материала проводился в период полевых сезонов 1999-2002 гг. Была обследована литоральная часть 22 водоемов Свердловской области и г. Екатеринбурга. Количественный учет массовых видов пиявок в сходных биотопах различных водоемов проводили, согласно общепринятым методикам (Mann, 1955a; Лукин, 1976). Проведено 190 сборов и отловлено 7954 взрослых особей пиявок 8 видов. Из двух водоемов Тамбовской области были доставлены в июне 2001 и в августе 2002 гг. 659 половозрелых пиявок 6 видов. Всего в экспериментах использовано 1405 экземпляров пиявок.

Уровень накопления меди, цинка, кадмия и свинца в тканях пиявок исследовали методом атомно-абсорбционной спектрометрии на спектрофотометре AAS-3 в пламени пропан-бутан (Хавезов и др., 1983) после обработки проб методом «мокрого» озоления (Никаноров и др., 1985). Рассчитывали коэффициент накопления ($К_н$) Cu и Zn ($К_н = К_{тк} / К_в$, где $К_{тк}$ – концентрация металла в биопробе, $К_в$ – концентрация этого токсиканта в водной среде) у пиявок из Белоярского, Верхне-Тагильского водохранилищ и реки Исеть (г. Екатеринбург), где среднегодовые концентрации меди составили 0.015 мг/л, 0.028 мг/л, 0.019 мг/л, а цинка – 0.024 мг/л, 0.034 мг/л и 0.027 мг/л соответственно (Государственный доклад..., 2001). Для исследования содержания тяжелых металлов (Cu, Zn, Pb, Cd) было подготовлено и проанализировано 95 биопроб из 725 особей 5 видов пиявок (*Haemopis sanguisuga, Erpobdella octoculata, E.nigricollis, Glossiphonia complanata, Hirudo medicinalis*).

В лабораторном эксперименте на тест-реакцию присутствия ионов тяжелых металлов в растворе использовали 420 пиявок 5 видов (*Haemopis sanguisuga, Erpobdella octoculata, E.nigricollis, Glossiphonia complanata, G.concolor*)

из импактной (Свердловская область) и фоновой (Тамбовская область) территорий. В чистую отстоенную воду, где пиявки, рассаженные по 5 особей каждого вида, находились в спокойном состоянии продолжительное время (30 суток) добавляли растворы ТМ. Конечные концентрации водной среды пиявок составили: Cu и Cd – 1 мг/л, 0.1 мг/л, 0.01 мг/л; Zn – 3 мг/л, 0.3 мг/л, 0.03 мг/л. В опыте регистрировали количество особей (%), сменивших статичное состояние на динамичное (СССД), симптомы отравления и время гибели пиявок.

Пул свободных аминокислот (АК) в тканях пиявок определяли методом ионообменной хроматографии (Казаренко, 1975) с помощью автоматического анализатора аминокислот ААА-339 (Микротехна, Прага). Подготовку образцов к исследованию проводили по стандартной методике, включающей добавление к исследуемой ткани фосфатного буфера, 30% сульфасалициловой кислоты и норлейцина. Концентрацию свободных АК в тканях пиявок выражали в мкмоль/л. При анализе аминокислотного состава тканей было обработано 24 пробы из 260 пиявок 5 видов (*Haemopis sanguisuga, Erpobdella octoculata, Glossiphonia complanata* из Верхне-Тагильского водохранилища, *E.nigricollis* из озера Шарташ, *Hirudo medicinalis* из Тамбовской области).

Математическая обработка полученных результатов проведена с использованием прикладных программ STATISTIKA на компьютере типа IBM. При обработке результатов исследования применялись одномерные и многомерные методы статистического анализа. Различия между сравниваемыми выборками считали статистически достоверными при $p<0.05$.

Глава 3. Видовой состав фауны пиявок Свердловской области

Комплексные эколого-фаунистические полевые исследования, проведенные в 1999-2002 годах показали, что гирудофауна Свердловской области представлена восемью видами пиявок, принадлежащих к четырем семействам:

Семейство *Glossiphoniidae*:

Glossiphonia complanata L. (улитковая пиявка, клепсина, глоссифонида) – обычный, повсеместно встречающийся, многочисленный вид. Обнаружена в 18 водоемах. Кровосос;

G.concolor Apathy – редкий, немногочисленный вид. Найдена в 5 водоемах. Достигает своего массового развития в Двуреченском водохранилище, где преобладает в количественном отношении над основными видами. Кровосос;

Helobdella stagnalis L. (двуглазая клепсина) – немногочисленный, довольно обычный вид. Встречена в 17 водоемах. Хищник;

Hemiclepsis marginata Mull – обнаружена в одном сборе, в Белоярском водохранилище. Кровосос.

Семейство *Ichtyobdellidae*:

Piscicola geometra L. (обыкновенная рыбья пиявка) – редкий малочисленный вид. Обнаружена в 5 сборах из двух водоемов: Белоярского водохранилища и р. Исеть (п. Палкино). Типичный оксифил. Паразитирует на рыбах;

Семейство *Erpobdellidae*:

Erpobdella octoculata (малая ложноконская пиявка, нефелида) – обычный, наиболее массовый вид. Обитает в 21 водоеме, доминирует – в 17 водоемах. Хищник;

E.nigricollis Brand. – довольно обычный, немногочисленный вид. Отмечена в 10 водоемах. В озерах Балтым, Шарташ и Таватуй является самым массовым видом. Хищник;

Семейство *Hirudinidae*:

Haemopis sanguisuga (большая ложноконская пиявка) – достаточно редкий, малочисленный вид. Обнаружена в 8 водоемах. Хищник.

Наиболее массовым скоплением основных видов пиявок отличаются Двуреченское (134 экз./кв.м) и Белоярское (119 экз./кв.м) водохранилища. Белоярское водохранилище отличается также наибольшим видовым разнообразием (все 8 видов пиявок). Изучение фауны пиявок показало значительное обеднение видового разнообразия в водоемах всех типов, особенно в местах, подверженных персистентному техногенному загрязнению. В большинстве исследованных водоемах (в 15 из 22) встречаются 2-4 вида пиявок с довольно низкой численностью. Крайне бедна, и количественно, и качественно, фауна пиявок Арамильского городского пруда (2 вида: *Erpobdella octoculata* и *Helobdella stagnalis*), а также реки Пышма (п. Садовый) (2 вида: *Erpobdella octoculata* и *Haemopis sanguisuga*). Данные водоемы хронически загрязнены соединениями азота, органическими веществами, нефтепродуктами, тяжелыми металлами. Так, среднегодовые концентрации меди превышают предельно допустимые концентрации (ПДК) в Арамильском пруду в 48.3 раз, в реке Пышма - в 56.6 раз. Содержание цинка в данных водоемах составляют 8.2 ПДК и 9.9 ПДК соответственно (Государственный доклад..., 2001). В городском пруду г. Ревда из исследуемой группы гидробионтов обнаружены единичные особи *Erpobdella octoculata*, что проявляется при высоком уровне техногенной нагрузки на реку Чусовая (и ее притока реку Ревда), в которой среднегодовые концентрации меди и цинка составляют 97.2 ПДК и 6.6 ПДК соответственно (Государственный доклад..., 2001).

Результаты морфометрических исследований у 5 видов пиявок, отловленных в водоемах Свердловской области, показали, что величина особей отдельных видов варьирует в зависимости от места обитания. Обнаружены популяционные различия средней массы тела взрослых особей пиявок *Erpobdella octoculata, Haemopis sanguisuga, Glossiphonia complanata, G.concolor*. Отмечено,

что средняя масса тела особей изученных видов пиявок из стоячих водоемов различного типа (Белоярское, Двуреченское, Верхне-Тагильское водохранилища, пруд Калиновский, озера Шарташ и Балтым) достоверно больше средней массы тела особей «речных» форм (рек Исеть и Сысерть). В то же время величина глоточных пиявок *Erpobdella nigricollis*, по нашим данным, не подвержена популяционным изменениям.

Глава 4. Особенности аккумуляции эссенциальных и токсичных микроэлементов тканями пиявок. Значение микроэлементов в физиологических функциях организма

Максимальные концентрации меди обнаружены в тканях большой ложноконской пиявки *Haemopis sanguisuga* (17.51±0.529 мкг/г сырой массы) из Верхне-Тагильского водохранилища (рис.1). Минимальные количества этого микроэлемента аккумулируют ткани *Erpobdella octoculata* в реке Сысерть и *E.nigricollis* в озере Шарташ (0.94±0.060 мкг/г и 1.26±0.147 мкг/г соответственно), а также ткани пиявок из фоновой зоны (1.19±0.013 мкг/г большой ложноконской и 0.16±0.017 мкг/г медицинской пиявок). Установлена высокая степень пространственной корреляционной зависимости между накоплением меди тканями пиявок *H.sanguisuga* и концентрацией этого металла в водной среде ($r=0.89$ при $p<0.05$ соответственно); у *Erpobdella octoculata* связь между этими показателями оказалась средней ($r=0.6$ при $p<0.05$). Кроме того, обнаружено, что с увеличением размеров тела особей *G.complanata* и *E.octoculata* растет величина коэффициента накопления. Максимальные концентрации цинка в озере Шарташ аккумулирует *Erpobdella nigricollis* (62.16±0.35 мкг/г), а в остальных исследованных нами водоемах, как и в случае с медью, лидирует по этому показателю *Haemopis sanguisuga* (рис.2). Самые высокие уровни содержания этого эндогенного металла отмечены в тканях большой ложноконской пиявки из Верхне-Тагильского

водохранилища (269.37±0.918 мкг/г), а наиболее низкие – в тканях *E.octoculata* из реки Исеть (34.84±1.064 мкг/г) и *Hirudo medicinalis* (28.34±0.642 мкг/г) из Тамбовской области (фоновая зона). Корреляционный анализ показал среднюю плотность связи между содержанием цинка в тканях *H.sanguisuga* и концентрацией этого токсиканта в воде (r=0.6 при p<0.05) и средней массой тела пиявок (r=0.5 при p<0.05). Очень высокий корреляционный коэффициент «масса тела / цинк в тканях» (r=1.0 при p<0.05) отмечен у *G.complanata*. У пиявки *E.octoculata* обнаружены очень слабая корреляционная связь тканевых концентраций цинка с содержанием его в воде (r=0.2 при p<0.05) и довольно высокий корреляционный коэффициент «масса тела / цинк в тканях» (r=0.7 при p<0.05). Самые высокие концентрации свинца обнаружены в тканях пиявок из водоемов г. Екатеринбурга: 3.26±0.03 мкг/г у *G.complanata* из озера Шарташ и 2.63±0.026 мкг/г у *H.sanguisuga* из реки Исеть. Минимальные же концентрации этого экзогенного металла обнаружены в тканях *E.nigricollis* из озера Шарташ (0.26±0.011 мкг/г) и *Hirudo medicinalis* из Тамбовской области (0.13±0.012 мкг/г). Определение кадмия в тканях пиявок показало, что наибольшие концентрации этого токсиканта содержат ткани большой ложноконской пиявки из Белоярского и Верхне-Тагильского водохранилищ и реки Исеть (0.8±0.14 мкг/г, 0.9±0.07 мкг/г и 0.8±0.017 мкг/г соответственно). Глоточная пиявка *E.octoculata* аккумулирует кадмий в Верхне-Тагильском водохранилище (0.7±0.017 мкг/г) в количестве, достоверно большем, чем *G.complanata* (0.29±0.026 мкг/г) из этого же водоема (T_{3-2}=13.2>T_{st}=2.31 при p<0.05). В то же время *G.complanata* накапливает кадмий и в тех водоемах, в которых *E.octoculata* его не аккумулирует: в Белоярском водохранилище и озере Шарташ. Данный токсикант не обнаружен в тканях *Erpobdella nigricollis* из оз. Шарташ, а также у «тамбовских» пиявок.

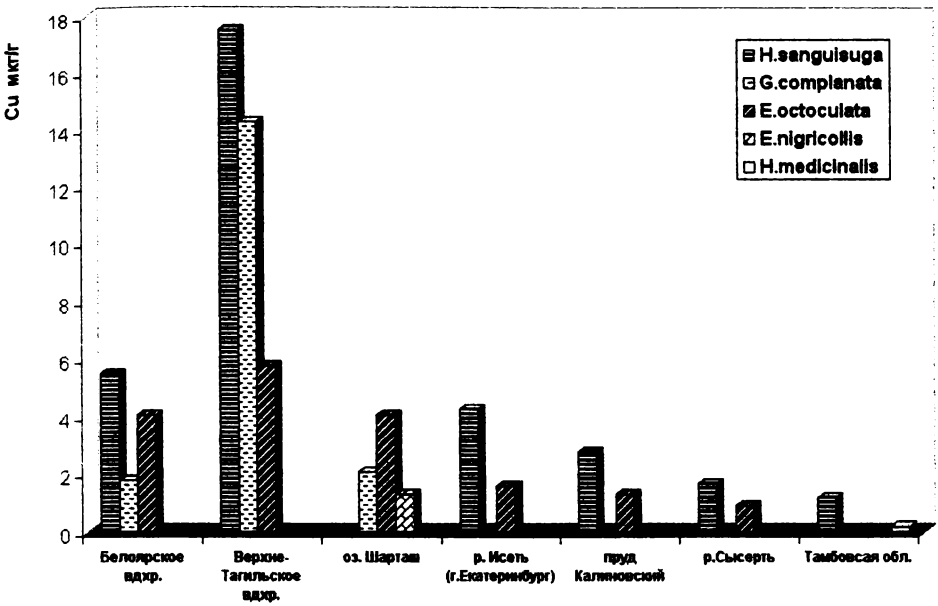

Рис.1. Содержание меди (мкг/г) в тканях пиявок из различных водоемов.

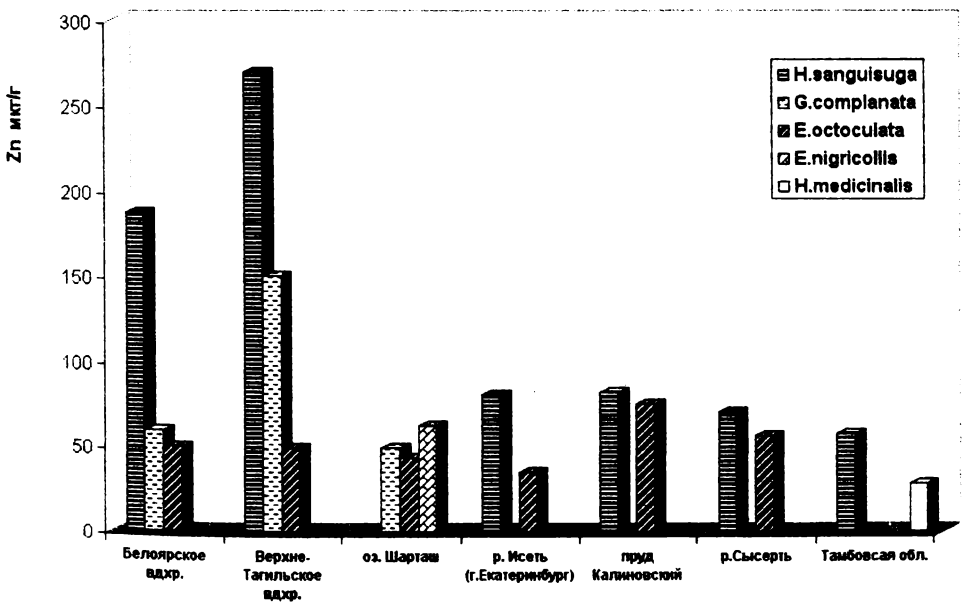

Рис. 2. Содержание цинка (мкг/г) в тканях пиявок из различных водоемов.

Лабораторный эксперимент, проведенный на пиявках из природных популяций импактных и фоновых территорий, показал высокую резистентность уральских особей к значительным концентрациям ТМ в воде по сравнению с пиявками из Тамбовской области. Наиболее показательным оказался опыт с наименьшими концентрациями металлов. В опыте при концентрациях Cu, Cd – 0.01мг/л и Zn – 0.03мг/л уральские пиявки оставались жизнеспособными, в то время как отмечалась гибель тамбовских особей и у всех их видов отмечалась смена ССД (табл.1).

Таблица 1

Токсикологическая значимость тест-реакции СССД у пиявок из природных популяций импактной (Свердловская обл.) и фоновой (Тамбовская обл.) территорий

ВИД	ТМ	Конц-ия ТМ (мг/л)	СССД % (Свердловская обл.)	СССД % (Тамбовская обл.)	Время гибели (сутки) (Свердловская обл.)	Время гибели (сутки) (Тамбовская обл.)
E.octoculata	Cu	0.01	0	60	-	9
	Zn	0.03	20	40	-	-
	Cd	0.01	40	60	-	6
E.nigricollis	Cu	0.01	20	40	-	9
	Zn	0.03	0	20	-	-
	Cd	0.01	40	60	-	16
G.complanata	Cu	0.01	0	20	-	10
	Zn	0.03	0	40	-	13
	Cd	0.01	0	40	-	8
G.concolor	Cu	0.01	0	20	-	12
	Zn	0.03	20	60	-	18
	Cd	0.01	20	40	-	9

При действии металлов больших концентраций гибель пиявок наблюдалось в обеих группах, но всегда раньше у пиявок тамбовских популяций при высоком

проценте особей сменивших ССД. Последнее обстоятельство свидетельствует о том, что использование тест-реакции имеет смысл при высоких уровнях загрязнения воды ТМ.

Глава 5. Исследование состояния аминокислотного обмена в тканях пиявок

Анализ аминокислотного состава тканей пиявок показал, что аминокислотный пул всех исследованных пиявок, независимо от их видов включает 22 аминокислоты (табл. 2). Суммарная концентрация свободных аминокислот возрастает у ложноконских пиявок, обитающих в загрязненных водах Верхне-Тагильского водохранилища. Общий фонд аминокислот у ложноконских пиявок увеличивается за счет аланина, глицина, глутаминовой и аспарагиновой кислот. Высокий пул глутаминовой и аспарагиновой кислот у всех видов пиявок связан, по-видимому, с участием в процессах детоксикации ионов ТМ в организме, в связывании токсических продуктов межуточного обмена. У большой и малой ложноконских пиявок и глоссифониды отмечены достаточно высокие концентрации цистеина и цистеиновой кислоты, являющихся предшественниками всех серусодержащих соединений в организме, которые участвуют в процессах детоксикации тяжелых металлов. Высокие концентрации гистидина образуют цинк - гистидиновый и медь – гистидиновый комплексы, обеспечивающие поступление меди и цинка внутрь клеток в нетоксичной форме. Свинец вступает в реакцию не только с SH-группами белка, но способен к образованию менее стабильных комплексов и с другими боковыми группами аминокислот. Это карбоксильные группы глутаминовой кислоты, лизина, гистидина, повышенный синтез которых мы наблюдаем у ложноконских пиявок. Приспособление пиявок к повышенному фону ТМ в водной среде идет по пути увеличения общего содержания свободных АК.

Таблица 2

Аминокислотный состав тканей пиявок из природных популяций

Аминокислоты мкмоль/л	Виды пиявок				
	H.sanguisuga n = 5	*E.octoculata* n = 57	*E.nigricollis* n = 162	*G.complanata* n = 26	*H.medicinalis* n = 10
Цистеиновая к-та	**31.4±3.3**	**73.2±12.0**	**47.0±4.1**	**41.5±0.6**	15.5±1.4
Таурин	5.8±0,9	следы	2.2±0.4	следы	0.9±0.01
Аспарагиновая к-та	58.6±11.0	77.3±8.1	49.5±2.1	62.0±8.1	68.1±2.0
Треонин	55.1±8.6	17.9±3.0	7.5±0.0	7.6±1.0	8.2±0.5
Серин	78.5±13.0	37.5±6.2	10.4±0.4	6.9±0.9	11.5±1.1
Аспарагин	34,6+8,1	следы	следы	следы	14,8+0,3
Глутаминовая к-та	**233.7±25.0**	**504.2±41.0**	176.4±6.3	197.2±6.8	127.2±11.2
Глутамин	133.6±7.2	90.0±4.4	50.2±5.5	60.4±3.5	38.0±2.1
Пролин	314.6±18.0	106.5±18.0	20.8±0.9	следы	40.3±4.2
Глицин	**99.9±12.1**	**196.1±22.0**	75.1±2.4	41.2±2.5	17.3±4.2
Аланин	**170.7±10.0**	**131.1±8.0**	12.2±3.0	28.0±4.2	25.0±8.1
Валин	68.2±6.2	29.9±4.6	60.3±4.2	19.6±2.2	30.4±6.2
Цистеин	**10.0±0.9**	**16.0±0.8**	следы	**12.0±0.6**	следы
Метионин	5.0±1.0	4.4±0.8	18.8±0.1	1.4±0.0	24.0±3.5
Изолейцин	9.2±1.1	50.2±6.8	5.2±0.0	7.8±3.2	8.0±0.0
Лейцин	9.5±3.1	14.1±1.1	7.5±2.0	следы	16.8±2.6
Тирозин	14.2±0.8	35.0±12.0	13.5±1.1	4.9±0.6	8.0±2.2
Фенилаланин	2.9±1.5	66.9±18.0	4.1±0.2	2.8±0.4	5.4±2.1
Орнитин	17.5±2.0	43.5±5.9	9.9±0.3	4.8±0.2	следы
Лизин	**89.0±4.0**	**82.3±18.0**	10.0±0.3	12.2±1.2	4.0±0.9
Гистидин	**29.3±1.5**	**7.2±1.0**	6.0±0.0	**12.2±1.3**	4.8±0.7
Аргинин	30.6±1.8	20.1±1.2	следы	следы	следы
Общее к-во св. АК	**1501.9±141.1**	**1603.6±192.9**	586.6±33.3	522.3±37.3	468.2±55.9

Общий фонд аминокислот у исследованных двух видов хищных ложноконских пиявок выше в 2.5-3.5 раза, чем у *E.nigricollis* из оз. Шарташ и кровососов - медицинских пиявок и глоссифониды ($T_{1-3;2-3}$ =6.0- 6.8> T_{St} =2.06-2.16, при $p<0.05$). Избирательность условий жизни и кормовой базы медицинской пиявки, *Glossiphonia complanata* и *E. nigricollis,* вероятнее всего определяют пониженный уровень азотистого метаболизма. Анализ данных показал, что исходный уровень азотистого метаболизма пиявок, обитателей водоемов Свердловской области обусловлен как видовой спецификой питания, так и воздействием постоянных факторов среды обитания.

Заключение

Комплексные эколого-фаунистические исследования 22 водоемов Свердловской области показали, что фауна пиявок Среднего Урала насчитывает 8 видов, принадлежащих к 4 семействам: *Glossiphonia complanata, G.concolor, Helobdella stagnalis, Hemiclepsis marginata* (семейство *Glossiphoniidae*), *Piscicola geometra* (семейство *Ichthyobdellidae*), *Erpobdella octoculata, E.nigricollis* (семейство *Erpobdellidae*) и *Haemopis sanguisuga* (семейство *Hirudinidae*). Самыми распространенными и массовыми оказались два вида пиявок: *Erpobdella octoculata* и *Glossiphonia complanata*. Довольно редкие и малочисленные для исследуемого региона виды - *Piscicola geometra* и *Hemiclepsis marginata*. Отмечено значительное обеднение видового разнообразия в водоемах всех типов, особенно в местах, подверженных техногенному прессу. Присутствие отдельных особей *Erpobdella octoculata* и *Haemopis sanguisuga* в водоемах с повышенной токсической нагрузкой свидетельствует о высокой резистентности этих пиявок к химическим агентам.

Результаты замеров средней массы тела пиявок показали достоверные различия по этому показателю между популяциями пиявок рек и стоячих

водоемов у взрослых особей *Erpobdella octoculata, Haemopis sanguisuga, Glossiphonia complanata* и *G.concolor*.

Исследования микроэлементов в тканях пиявок показали, что наибольшей способностью к накоплению меди, цинка, свинца и кадмия в водоемах Свердловской области обладает большая ложноконская пиявка *Haemopis sanguisuga*, свинец в значительных количествах аккумулируют также особи *Erpobdella octoculata* и *Glossiphonia complanata*. В тканях глоточной пиявки *Erpobdella nigricollis*, обитающей в озере Шарташ, отмечены низкие концентрации меди, свинца, отсутствие кадмия и высокие концентрации эссенциального цинка. Самые высокие коэффициенты накопления (Кн) обнаружены у пиявки *H.sanguisuga* в Верхне-Тагильском водохранилище: Кн меди составил $6.2x10^2$, а Кн цинка – $7.9x10^3$. Специфическая способность пиявок избирательно аккумулировать невысокие дозы токсичных тяжелых металлов при кратковременных антропогенных воздействиях, когда еще не выражены морфо-физиологические изменения организма и последующие за ними функциональные перестройки водной экосистемы (видовое разнообразие, биомасса, продуктивность), свидетельствует о целесообразности использования данных показателей в спектре прогностических мероприятий в случае залповых неконтролируемых сбросов токсических элементов в водоем. Обнаруженная прямая корреляционная связь между содержанием меди и цинка в тканях особей *Haemopis sanguisuga, Erpobdella octoculata* и содержанием этих экотоксикантов в водной среде указывает на возможность использования данных видов пиявок в качестве биоиндикаторов при мониторинге водной среды.

Лабораторный эксперимент, проведенный на пиявках из природных популяций импактных и фоновых территорий, показал высокую резистентность

уральских особей к значительным концентрациям ТМ в воде по сравнению с пиявками из Тамбовской области.

Сравнительный анализ аминокислотного состава тканей пиявок показал, что аминокислотный пул всех исследованных видов состоит из 22 аминокислот (АК). Приспособление пиявок к повышенному фону ТМ в водной среде идет по пути увеличения общего содержания свободных АК. Повышенные концентрации АК, способных связывать ТМ в нетоксичные комплексы «металл-белок» (глутаминовая кислота, цистеин, цистеиновая кислота, гистидин, лизин), обнаруженные в тканях ложноконских пиявок из Верхне-Тагильского водохранилища, обеспечивают высокую резистентность *Haemopis sanguisuga* и *Erpobdella octoculata* к действию токсикантов водной среде. Наши исследования показали, что исходный уровень азотистого метаболизма пиявок обусловлен как видовой спецификой питания, так и воздействием постоянных факторов среды обитания.

Выводы

1. Комплексные эколого-фаунистические исследования показали, что гирудофауна Среднего Урала представлена 8 видами, принадлежащими к 4 семействам: *Glossiphonia complanata, G.concolor, Helobdella stagnalis, Hemiclepsis marginata* (семейство *Glossiphoniidae*), *Piscicola geometra* (семейство *Ichthyobdellidae*), *Erpobdella octoculata, E.nigricollis* (семейство *Erpobdellidae*) и *Haemopis sanguisuga* (семейство *Hirudinidae*);

2. Изучение гирудофауны Свердловской области показало значительное обеднение видового разнообразия пиявок на фоне низкой численности особей в водоемах, подверженных персистентному загрязнению поллютантами;

3. Определена морфометрическая изменчивость видов пиявок: *Glossiphonia complanata, G.concolor, Erpobdella octoculata* и *Haemopis sanguisuga*, обусловленная их биотопической приуроченностью. Выявлены достоверные

различия по массе тела между популяциями пиявок рек и стоячих водоемов. У широкораспространенной кровососущей пиявки *G.complanata* из Верхне-Тагильского водохранилища масса тела на порядок выше, чем у особей этого вида из всех других исследованных водоемов;

4. Показаны видовая, популяционная и географическая специфичность пиявок по способности к аккумуляции тяжелых металлов. Определены фоновые концентрации Cu, Zn, Pb и Cd в тканях 4 видов пиявок, обитающих в водоемах Среднего Урала. Установлена прямая зависимость накопления меди и цинка тканями *Haemopis sanguisuga, Glossiphonia complanata, Erpobdella octoculata* от степени загрязнения водной среды этими токсикантами.

5. Впервые определены коэффициенты накопления (Кн) меди и цинка у пиявок в водоемах Среднего Урала. Высокие Кн меди и цинка у *Haemopis sanguisuga* и *Glossiphonia complanata* позволяют рекомендовать эти виды пиявок в качестве биоиндикаторов на загрязнение пресноводных водоемов вышеуказанными тяжелыми металлами.

6. Сравнительный анализ адаптивных возможностей пиявок из фоновой и импактной зон к действию тяжелых металлов в контролируемых условиях показал высокую резистентность пиявок уральских популяций к повышенным концентрациям меди, цинка и кадмия в водной среде в отличие от неадаптированных особей из Тамбовской области.

7. Впервые с помощью современного метода ионообменной хроматографии дана количественная и качественная оценка состояния аминокислотного фонда тканей 4 видов пиявок среднеуральских популяций. Аминокислотный пул всех исследованных пиявок, независимо от их видовой принадлежности включает 22 аминокислоты. Приспособление пиявок к повышенному фону тяжелых металлов в водной среде идет по пути увеличения

общего содержания свободных аминокислот. Показано, что представители класса *Hirudinea* представляют собой различные физиологические группы, характеризующиеся качественным своеобразием азотистого метаболизма.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Черная Л. В. К вопросу о видовом составе представителей класса *Hirudinea*, обитающих в водоемах Среднего Урала // Актуальные проблемы биологии и экологии: Тезизы докладов VII Молодежной научной конференции. - Сыктывкар, 2000. С. 257-258;

2. Черная Л. В. Пиявки (класс *Hirudinea*), обитающие в водоемах Свердловской области // Биосфера и человечество: Материалы конф. молодых ученых памяти Н. В. Тимофеева-Ресовского. - Екатеринбург, 2000. С. 323-324.

3. Черная Л. В., Ковальчук Л. А. Экология представителей класса *Hirudinea* и их роль в водных экосистемах Среднего Урала // Сохранение биоразнообразия и рациональное использование биологических ресурсов: Тезисы Первой научной школы и конф. - Москва, 2000. С.116.

4. Черная Л. В., Новикова Н. В. Экологическая изменчивость некоторых видов пиявок водоемов Уральского региона // Современные проблемы популяционной, исторической и прикладной экологии: Материалы конф. молодых ученых. - Екатеринбург, 2001. С. 285-287.

5. Черная Л. В., Ковальчук Л. А. Адаптивные особенности природных популяций некоторых видов класса *Hirudinea* в условиях антропогенной трансформации // Биота горных территорий: История и современное состояние: Материалы конф. молодых ученых. - Екатеринбург, 2002. С.270-280.

6. Ковальчук Л. А., Черная Л. В. Особенности аккумуляции тяжелых цветных металлов тканями пиявок, обитающих в водоемах Среднего Урала //

Экологические проблемы горных территорий: Материалы международной научной конф. - Екатеринбург, 2002. С. 262-266.

7. Черная Л. В., Ковальчук Л. А. Адаптивные особенности некоторых видов класса *Hirudinea* в условиях техногенной биогеохимической провинции // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докладов молодежной научной конф. - Сыктывкар, 2002, С. 117.

8. Черная Л. В., Ковальчук Л. А. Сравнительный анализ азотистого обмена у представителей класса *Hirudinea: Haemopis sanguisuga* и *Hirudo medicinalis* // Биология – наука XXI века: Тезисы школы-конференции молодых ученых. - Пущино, 2002. С. 159.

9. Черная Л. В., Ковальчук Л. А. Новые данные о фауне пиявок Свердловской области // Разнообразие беспозвоночных животных на Севере: Тезисы международной конф. - Сыктывкар, 2003. С. 80.

10. Ковальчук Л. А., Черная Л. В. Эколого-физиологические особенности представителей гирудофауны Свердловской области в условиях техногенной нагрузки // Разнообразие беспозвоночных животных на Севере: Тезисы международной конф. - Сыктывкар, 2003. С. 34.

11. Ковальчук Л. А., Черная Л. В. Видовое разнообразие пиявок, обитающих в водоемах Среднего Урала // Экология, 2003, № 2, С. 154-156.

Подписано в печать 17.09.2003. Формат 60x84/16. Усл. печ.л. 1,0

Печать офсетная. Тираж 100 экз. Заказ №

Копировальный центр ООО «**ЦМИК**»

г. Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, 137, тел. 56-08-26

Свидетельство о регистрации № 05162 серия I-ЛИ