

МИНИСТЕРСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА РСФСР

**Государственный научно-исследовательский институт
озерного и речного рыбного хозяйства
(ГосНИОРХ)**

В. А. АЛЕКСЕЕВ

**Экспериментальное исследование
острой фенольной интоксикации
водных насекомых и паукообразных**

**(105 — гидробиология)
На русском языке**

**АВТОРЕФЕРАТ
Диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических
наук**

Ленинград 1972 г.

МИНИСТЕРСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА РСФСР

Государственный научно-исследовательский институт
озерного и речного рыбного хозяйства
(ГосНИОРХ)

В.А. АЛЕКСЕЕВ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ
ФЕНОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ВОДНЫХ НАСЕКОМЫХ
И ПАЗКООБРАЗНЫХ

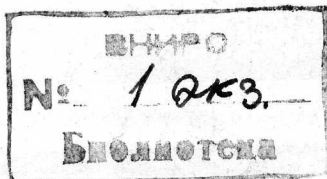
(105 - гидробиология)

На русском языке

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических
наук

Ленинград
1972г.



Работа выполнена в Институте биологии внутренних вод АН СССР.

Научные руководители - доктор биологических наук, профессор
М.М. КАМЫЛОВ и кандидат биологических
наук Б.А. ФЛЕГОВ.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор З.В. УСОВА

Кандидат биологических наук Л.А. ЛЕСНИКОВ

Ведущее учреждение - Институт гидробиологии АН СССР.

Автореферат разослан " 22 " апреля 1972 г.

Защита диссертации состоится " конца " мая 1972 г.
на заседании Учёного совета ГосНИОРХа (Ленинград, В-53,
набережная Манарова, 26).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГосНИОРХа.

Ученый секретарь совета Г.М. ЛАВРЕНТЬЕВА.

Если сельскохозяйственной и медицинской энтомологией накоплен значительный материал по устойчивости вредителей сельского хозяйства и переносчиков заразных заболеваний к токсикантам (инсектицидам), то данные по действию ядов на водных насекомых, большинство из которых является кормовыми объектами рыб — малочисленны, для паукообразных они практически отсутствуют.

Исследования, проведенные на водных насекомых, носят прикладной характер: описывается действие токсикантов, главным образом ДДТ и ГХЦГ (Ide, 1957, 1967; Hitchcock, 1960, 1965; Gorham, 1961; Hastings et al., 1961; Jamnback, Fabry, 1962; Hilsenhoff, 1966; Hopkins et al., 1966; Grant, 1967; Grant, Brown, 1967; Лубянов, 1968, 1970) и гербицидов (Walker, 1965; Ludemann, Kaiser, 1966) на гидрофауну водоемов, опрыскиваемых или опрыскиваемых попутно с целью уничтожения сельскохозяйственных или лесных вредителей; влияние икhtiоцидов на водных насекомых при очистке водоемов от сорной растительности (Заболоцкий, 1963; Гагарин, 1967; Владимирова, 1968); или побочный эффект альготоксических веществ (Брагинский с авт., 1963, 1965; Шербань, 1968). Некоторые сведения о действии компонентов промышленных сточных вод на водных насекомых содержатся в санитарно-гидробиологических работах по отмиранию и восстановлению планктона и бентоса в сточных водах (Мельников, 1948; Гусев с авт., 1952); Константинов, 1953, 1967, 1969; Федий, 1959; Лубянов, 1960; Гусев, 1960, 1962; Rybak, 1963; Мосевич с авт. 1968).

Общая картина фенольного отравления у гидробионтов в основном исследована на рыбах (Hubalt, 1936; Ellis, 1937; Пожитков, 1937; Чистяков, 1941; Строганов, Пожитков, 1941; Cort, 1949;

Веселов, 1956; Jones, 1957; Лукьяненко, Флеров, 1963, 1965, 1967). Изучению влияния токсических веществ на водных беспозвоночных вообще и фенола в частности, уделено меньше внимания (Чистяков, 1941; Луферова, Флеров, 1971 – дафнии, циклопы; Веселов, 1956 – некоторые простейшие, ракообразные, насекомые, моллюски; Albeztmeyer, Erichsen, 1959 – некоторые простейшие, ракообразные, двукрылые; Günther, 1964 – некоторые ракообразные и черви; Шештокас, Цукерзис, 1969 – речные раки).

Сравнительного изучения устойчивости водных беспозвоночных разного уровня организации, даже к одному токсиканту на сколько-нибудь значительном количестве видов, до сих пор не проводилось. В качестве экспериментального материала нами взяты две группы водных животных – насекомых и паукообразных, находящихся на разных и в то же время близких филогенетических ступенях. Сравнение токсикорезистентности двух этих классов уже представляет интерес. Главное же преимущество исследуемых животных перед другими водными организмами (простейшими, кишечнорастворимыми, червями, ракообразными, моллюсками) заключается в многообразии морфо-физиологических и поведенческих особенностей у различных представителей внутри самих этих классов. Особенно это относится к классу насекомых.

Цель, предлагаемого исследования – изучение частных и общих вопросов токсикологии водных насекомых и паукообразных на модели отравления фенолом – карболовой кислотой (C_6H_5OH). В первой части работы излагаются результаты экспериментального исследования устойчивости представителей различных отрядов

насекомых и паукообразных; зависимости резистентности от морфофизиологических особенностей и поведения, от некоторых абиотических факторов (температуры, света, природного загрязнения), времени суток, сезонности, половых и возрастных различий; влияния фенола на размножение и развитие исследованных водных членистоногих. Во второй части приводятся результаты изучения реакций подопытных организмов на фенольное отравление: симптомокомплекс отравления, обратимость фенольной интоксикации, избегание животными токсических растворов и возможность адаптации их к токсиканту в онтогенезе.

Настоящее исследование, являющееся частью комплексной темы "Влияние фенола на гидробионтов и условия его биологической детоксикации", выполнено автором в 1969-1971 годах на материале, собранном в прибрежной части Рыбинского водохранилища и прилегающих водоемах, в составе токсикологической группы Института биологии внутренних вод АН СССР, под общим руководством доктора биологических наук, профессора М.М. КАМШИЛОВА.

Автор пользуется случаем выразить искреннюю благодарность своим научным руководителям доктору биологических наук М.М. КАМШИЛОВУ и кандидату биологических наук Б.А. ФЛЕРОВУ, а также докторам биологических наук: А.С. МОНЧАДСКОМУ, И.А. РУБЦОВУ, О.Л. КРЫЖАНОВСКОМУ, Б.А. ВАЙНШТЕЙНУ, кандидатам биологических наук А.И. ШИЛОВОЙ и О.Л. КАЧАЛОВОЙ за ценные советы и помощь при определении исследованных организмов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬСРАВНИТЕЛЬНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОДНЫХ НАСЕКОМЫХ И
ПАУКООБРАЗНЫХ К ФЕНОЛУ И ФАКТОРЫ ЕЕ ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕI. Сравнительная устойчивость различных видов водных
насекомых и паукообразныхМатериал и методика.

Одним из первых этапов изучения действия токсических веществ, попадающих в водоемы, на гидробионтов является определение летальных (LC_{100} , LC_{50}), максимально переносимых (МПК) и сублетальных концентраций токсикантов, т.е. экспериментальное определение выживаемости объектов при различных концентрациях ядов. С этой целью были поставлены эксперименты на 64 массовых видах водных (и амфибионтных) насекомых и паукообразных, относящихся к II отрядам организмов, населяющих наши водоемы:

ручейниках (Trichoptera)	,	клопах (Hemiptera)	,
поденках (Ephemeroptera)	,	жуках (Coleoptera)	,
веснянках (Plecoptera)	,	бабочках (Lepidoptera)	,
стрекозах (Odonata)	,	пауках (Araneina)	,
вислокрылках (Megaloptera)	,	клещах (Acariformes)	,
двухкрылых (Diptera)	.		

Животные вылавливались с конца апреля по конец августа из постоянных и временных водоемов в окрестностях Борка. Материал подбирался по возможности однородным (средний размер животных приведен в таблице). До постановки опытов организмы содержались

не более суток в отстоянной природной воде при температуре $+20^{\circ}$ (исключалось голодание).

Исследуемые животные рассаживались по 5 или 10 экземпляров, в зависимости от массовости сборов, в 11 стеклянных стаканов емкостью 75-250 мл. 10 стаканов заполняли растворами фенола в возрастающих концентрациях, один стакан - чистой водой (контроль). Для приготовления растворов и контроля использовали отстоянную водопроводную воду с температурой $+20^{\circ}$ (содержание кислорода - 8,74 мг/л; жесткость общая - 3,64 мг-экв/л; pH - 7,6). Опыты ставились в двух, трех повторностях в зависимости от степени однородности полученных результатов. Экспозиция постоянная - 48 часов, со сменой растворов через 24 часа. Учитывалось время суток. Постановка экспериментов и снятие результатов производилось в одно и то же время - 9 часов. В каждом опыте использовалось не менее 165-330 экз. животных. Кроме того, бралось примерно такое же число организмов для получения ориентировочных данных. Токсический эффект оценивался по общему поведению животных и % смертности. Данная методика применялась во всех остальных экспериментах при определении выживаемости организмов.

Токсикологические показатели (IC_{100} , IC_{50} , МПК) для водных насекомых и паукообразных, исследованных нами, представлены в таблице. Виды в таблице расположены в порядке возрастания резистентности.

Таблица

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ВОДНЫХ НАСЕКОМЫХ И ПАУКООБРАЗНЫХ

В и д	Размер мм	IC_{100} мг/л	IC_{50} мг/л	МПК мг/л
1	2	3	4	5

I	!	2	!	3	!	4	!	5
<u>Отряд Trichoptera (larva)</u>								
<i>Limnophilus flavicornis</i> Fbr.	3,0	4	< 2	< 2				
<i>Leptocerus aterrimus</i> Steph.	12,5	< 5	-	< 0,5				
<i>Phiriganea striata</i> L.	18,0	6	< 2	< 1,5				
<i>Limnophilus stigma</i> Curt.	6,5	10	6,5	5				
<i>Holocentropus dubius</i> Ramb.	10,0	300	160	50				
<u>Отряд Ephemeroptera (larva)</u>								
<i>Baetis</i> sp.	6,8	< 4	< 1,5	< 1				
<i>Cloeon dipterum</i> L.	8,1	6	5	4				
<i>Siphonurus linnaeanus</i> Eat.	5,0	25	22	10				
<i>Ordella maxima</i> Camp.	4,7	180	60	20				
<u>Отряд Plecoptera (larva)</u>								
<i>Nemura marginata</i> Pict.	9,8	16,	6,5	< 4				
<u>Отряд Coleoptera (larva)</u>								
<i>Acilius sulcatus</i> L.	23,4	24	16	8				
<i>Ilybius angustior</i> Gyll.	8,0	50	47	30				
<i>Dytiscus marginalis</i> Pict.	20,0	60	46	30				
<u>Отряд Odonata (larva)</u>								
<i>Coenagrion pulchellum</i> V.d.L.	32,0	40	28	10				
<i>Platychemis pennipes</i> Pall.	4,5	50	24	10				
<i>Lestes dryas</i> Kir.	18,5	50	30	20				
<i>Aeschna cyanea</i> Mull.	45,0	50	32	10				
<i>Sympetrum flaveolum</i> L.	5,7	90	30	20				
<i>Libellula depressa</i> L.	28,0	250	-	-				

I	! 2	! 3	! 4	! 5
---	-----	-----	-----	-----

Отряд Diptera (larva)

<i>Ensimulium</i> ex gr. <i>aureum</i> Fries.	4,8	28	16	4
<i>Aedes cyprius</i> Ludl.	5,9	70	45	30
<i>Cryophila lapponica</i> Mart.	7,5	80	55	30
<i>Mochlonyx culiciformis</i> De Geer	5,0	80	48	10
<i>Anopheles maculipennis</i> Meig.	6,5	200	190	40
<i>Chaoborus crystallinus</i> De Geer	13,0	450	240	100
<i>Orthocladius</i> sp.	2,1	300	< 100	< 100
<i>Psectrocladius</i> ex gr. <i>psilopterus</i> Kieff.	5,7	< 1000	< 830	< 600
<i>Ablabesmyia monilis</i> L.	7,7	1200	400	200
<i>Chironomus plumosus</i> L.	20,0	1400	530	200
<i>Tabanus</i> sp.	22,5	> 1000	-	-
<i>Triogma</i> sp.	25,6	1600	880	600
<i>Stratiomyia</i> sp.	9,8	> 2000	-	> 2000
<i>Eristalis</i> sp.	12,0	> 2000	-	> 2000

Отряд Megaloptera (larva)

<i>Sialis flavilatera</i> L.	17,0	< 300	-	< 270
------------------------------	------	-------	---	-------

Отряд Hemiptera (larva)

<i>Sigara striata</i> L.	7,8	200	165	100
<i>Gerris lacustris</i> L.	10,0	300	-	100
<i>Notonecta glauca</i> L.	14,0	700	450	100
<i>Naucoris cimicoides</i> L.	15,7	700	500	100

Отряд Lepidoptera (larva)

<i>Nymphula nymphaeata</i> L.	17,0	800	-	-
-------------------------------	------	-----	---	---

	I	!	2	!	3	!	4	!	5
<u>Отряд Coleoptera (imago)</u>									
<i>Haliphus flavicollis</i> Sturm.	2,0		600		440		200		
<i>Hydrous fuscipes</i> L.	5,3		1200		860		400		
<i>Gyrinus marinus</i> Gill.	6,5		1200		1040		800		
<i>Coelambus novemlineatus</i> Steph.	2,9		1600		1000		200		
<i>Ilybius angustior</i> Gyll.	9,3		1800		1000		200		
<i>Dytiscus marginalis</i> L.	35,0		2000		1800		1600		
<i>Hydrous aterrimus</i> Eschz.	42,0		>2000		-		-		
Класс ARACHNOIDEA									
<u>Отряд Araneina (imago)</u>									
<i>Argyroneta aquatica</i> Cl.	18,0		2100		1500		900		
<u>Отряд Acariformes (imago)</u>									
<i>Hygrobatas longipalpis</i> Herm.	1,0		600		440		200		
<i>Hydrachna marita</i> Wainst.	2,2		800		660		200		
<i>Limnesia undulata</i> Müll.	1,3		900		660		300		
<i>Piona nodata</i> Müll.	0,8		1000		900		800		
<i>Eylais hamata</i> Koen.	6,7		1000		900		800		
<i>Unionicola crassipes</i> Müll.	1,2		1200		800		400		
<i>Limnesia maculata</i> Müll.	1,9		1200		930		300		
<i>Hydrodroma despiciens</i> Müll.	2,1		1400		1180		1000		
<i>Piona coccinea</i> Koch.	2,0		1800		1500		1200		
<i>Hydryphantes ruber</i> De Geer.	2,0		1800		1680		1400		
<i>Limnochares aquatica</i> L.	4,1		2000		1560		1200		
<i>Mideopsis orbicularis</i> Müll.	0,6		2400		1720		1200		
<i>Arrhenurus globator</i> Müll.	0,7		2400		1840		1200		

II.

Верхняя граница устойчивости представителей обоих классов находится на уровне 2000 мг/л (IC_{100}). В то же время нижняя граница у насекомых значительно ниже таковой у паукообразных.

По устойчивости к фенолу, насекомых, исследованных нами, можно разделить на три группы: низкоустойчивых, устойчивых и высокоустойчивых.

Низкоустойчивые насекомые: личинки ручейников (исключая р. *Holocentropus*), поденок (исключая р. *Ordella*), веснянок, жуков, стрекоз *Zygoptera* , двукрылых сем. *Simuliidae* - IC_{100} от 4 до 60 мг/л.

Устойчивые насекомые: личинки ручейников р. *Holocentropus*, поденок р. *Ordella* , стрекоз - большинство *Anisoptera* , двукрылых сем. *Culicidae* и п/сем. *Orthocladinae*, вислокрылок, имаго клопов р.р. *Sigara* , *Gerris* - IC_{100} от 70 до 450 мг/л.

Высокоустойчивые насекомые: личинки двукрылых (исключая сем. *Culicidae* и п/сем. *Orthocladinae*), бабочек, имаго клопов (исключая р.р. *Sigara* , *Gerris*) и жуков - IC_{100} от 600 до 2000 мг/л.

Ряд устойчивости водных насекомых и паукообразных, представленный в таблице, не специфичен для фенола, так как результаты некоторых экспериментальных исследований с другими ядами, согласуются с нашими. ЛЮДЕМАНН и КАЙЗЕР (Ludemann и Kayser, 1966), работавшие с гербицидами, АИД (Ide, 1957, 1967), ХАСТИНГС, КИТТЭМС и ПЭППЕР (Hastings, Kittams and Papper, 1961), КЕРСВИЛЛ (Kerswill - , 1967), ХАЙНЕС (Hynes ,

1960), ХИЧКУК (Hitchcock, 1965) — с ДДТ, КЕРБАБАЕВ и МАЛЬЦОВ (1968) — с карбофосом, приводят данные, свидетельствующие, что различные виды водных насекомых и паукообразных по степени устойчивости располагаются в ряд, сходный с таковым при фенольной интоксикации.

2. Зависимость токсикорезистентности от морфо-физиологических особенностей и поведения животных

Сравнение токсикологических показателей (см. таблицу) в первую очередь позволяет сделать вывод о значении толщины покровов при фенольной интоксикации у водных насекомых и паукообразных. Нетрудно заметить, что возрастание резистентности исследованных организмов идет параллельно возрастанию толщины последних. Самая низкая устойчивость у животных, обладающих тонкими, прозрачными покровами, т.е. личинок большинства водных насекомых-ручейников, поденок, веснянок, жуков, некоторых стрекоз и двукрылых (IC_{100} до 700 мг/л). С возрастанием толщины хитина наблюдается увеличение резистентности имаго клопов и жуков (IC_{100} до 700, 2000 мг/л). То же самое можно отметить и в классе паукообразных. У пауков *A. aquatica* и клещей *L. aquaticus*, имеющих сравнительно толстые кожные покровы, резистентность возрастает до 2000, 2100 (мг/л (IC_{100})). Максимальная устойчивость в наших экспериментах наблюдается у клещей *M. orbicularis*, *A. globator*, имеющих уже не кожные покровы, а прочный хитиновый панцирь (IC_{100} — 2400 мг/л). Известная водонепроницаемость сравнительно тонкой и прозрачной кутикулы у *C. crystallinus* (Wigglesworth, 1942) и *Eristalis* sp. (Wilcox, 1896), у высолокрылок *S. flavilatera* (Beament, 1961; ПРОССЕР, БРАУН, 1967), по-видимому, являясь

основной причиной высокой резистентности этих организмов среди других личинок водных насекомых.

Имеет ли значение липидный слой у исследованных животных при фенольной интоксикации до сих пор не выяснено, но повышенная устойчивость у имаго клопов и жуков (единственных из водных насекомых, имеющих липоидное покрытие) по сравнению с другими насекомыми, проявилась и в наших экспериментах.

В связи с тем, что среди водных насекомых и паукообразных есть организмы, кишечный тракт которых не имеет непосредственного общения с отравленной водной средой, можно предполагать некоторое увеличение устойчивости у них. Хищные насекомые (личинки стрекоз, жуков, некоторых двукрылых - *Tabanidae*, клопы) клещи и пауки, имеющие колюще-сосущий ротовой аппарат, в наших экспериментах оказались более устойчивыми по сравнению с насекомыми, пропускающими через кишечник значительное количество растительной пищи или детрита (личинки ручейников, поденок, некоторых веснянок, клопы *S. striata*). Виды, не заглатывающие пищи, также выделяются своей высокой резистентностью, например, личинки *C. crystallinus*.

Прослежена зависимость устойчивости водных насекомых и паукообразных от способов дыхания и особенностей строения дыхательного аппарата. Организмы, дышащие кислородом, растворенным в воде с помощью кожи или жабр (большинство личинок насекомых, клещи), или тем и другим вместе, находятся в прямой зависимости от кислородного режима, который ухудшается при попадении

большинства токсикантов в водоемы. В более независимом положении оказываются имаго клопов, жуков, пауков, личинки жуков, комаров, некоторых других двукрылых — *Stratiomyia*, *Eristalis*, способных с помощью различных приспособлений дышать не только кислородом воды, но и атмосферным воздухом. Механизмы атмосферного дыхания позволяют им значительно дольше выживать при отравлении. Гидробионты, устойчивые к дефициту кислорода, как правило, более резистентны и к токсикантам, способным вызывать этот дефицит. По данным ПАУЗЕ (Pause, 1918), КИЗНЕЦОВА (1953), ШОВЕНА (1953), резистентность к недостатку кислорода у личинок некоторых Chironomidae увеличивается с образованием гемоглобина. Эксперименты с красными личинками хирономид показали, что присутствие гемоглобина в крови не только увеличивает их устойчивость к дефициту кислорода, но и повышает их токсикорезистентность. Так, личинки *C. plumosus* в растворах фенола проявили наибольшую устойчивость (IC_{100} — 1400 мг/л) по сравнению с личинками р.р. *Orthocladius*, *Psectrocladius*, *Ablabesmyia* (IC_{100} от 300 до 1200 мг/л), не имеющих гемоглобина.

Отмечено влияние поведенческого фактора на токсикорезистентность водных насекомых и паукообразных. Более подвижные виды из одного и того же отряда менее устойчивы к яду по сравнению с видами, проявляющими незначительную двигательную активность. Передвигающиеся скачками личинки поденок *C. dipterum*, соответственно в 6 и 30 раз менее устойчивы, чем ползающие *S. linnaeanus* и *O. maxima*. У постоянно плавающих личинок плавунца *A. sulcatus* устойчивость в 2 раза ниже, чем у ползающих и лишь изредка всплывающих *I. angustior* и *D. marginalis*. Непрерывно передвигающиеся в толще раствора личинки комаров:

A. cypricus, *Clapponica*, *M. culiciformis* уступают в резистентности спокойно плавающим *C. cristallinus* и висящим у поверхности раствора *A. maculipennis*, лежащим на поверхности личинкам *Triogma*, *Stratiomyia*. Бесконечно снующие клопы *S. striata*, наименее устойчивы из всех клопов, а еще передвигающиеся по дну и водорослям клещи *L. aquatica* наиболее устойчивы среди плавающих клещей. То есть животные с низкой двигательной активностью, имеющие пониженный уровень обменных процессов, в меньшей степени контактируют с отравленной средой, меньше поглощают яда и дольше выживают в токсических растворах. Определенное значение при интоксикации имеют укрытия у некоторых водных насекомых (домики личинок некоторых *Trichoptera*, *Chironomide*), а также обитание в иле (некоторые личинки *Chironomidae*).

3. Зависимость токсикорезистентности от некоторых абиотических факторов (температуры, света, природного загрязнения).

Для определения изменения устойчивости к фенолу, под действием различных температур взяты личинки *Chironomus plumosus*, вылавливаемые из подо льда в феврале месяце, в прибрежье Рыбинского водохранилища. Определялся процент гибели животных в концентрациях токсиканта 200-3000 мг/л. Опыты ставились в термокамере „Grünland“ при температурах 5° , 10° , 15° , 25° в трех повторностях, средний размер личинок 20мм. Всего использовано 1320 экз. личинок.

Гибель животных при температурах 5° , 10° , 15° начинается с одной и той же концентрации - 1500 мг/л. При температуре 25° эта

концентрация ниже - 1000 мг/л. В целом устойчивость личинок хирономид в заданном интервале температур не меняется, или изменяется незначительно, что объясняется высокой общей резистентностью данного вида.

Кроме исследования устойчивости *C. plumosus* в диапазоне определенных температур, было прослежено изменение резистентности у низкостойчивых личинок поденок *Cloeon dipterum*, вылавливаемых из водоема периодически, в течение всего года. Определялись IC_{100} для данного вида в интервале концентраций от 1 до 50 мг/л. В опыте использовано 2970 экз. личинок.

С повышением температуры воды в водоеме (от 4° в феврале до 23° в июле) наблюдается четкое снижение резистентности личинок (IC_{100} в феврале - 36 мг/л, в июле - 4 мг/л). С понижением температуры (с июля по декабрь) обнаруживается обратная зависимость.

Совершенно не изучено влияние как света на токсикорезистентность водных беспозвоночных, так и токсикантов на световые реакции последних. В экспериментах использовались личинки *C. plumosus*

IV возраста (отрицательный фототаксис наиболее четко выражен в этом возрасте) и имаго клещей *Limnoscaphes aquatica* (с переменным фототаксисом). Реакции личинок хирономид и имаго клещей на свет (электрическая лампа дневного света 2500 люкс) в различных субтоксических концентрациях фенола при постоянной температуре исследовалась в чашках Петри, наполовину закрытых черной фотографической бумагой. После размещения 10 экз. животных

на освещенных половинах чашек, производился их подсчет через каждые 15 минут на протяжении 4 часов. По суммарному проценту гидробионтов в освещенной части чашки, судили об их реакциях на свет. Чем меньше число, тем сильнее проявляется отрицательный фототаксис. Опыты проводились в трех повторностях в концентрациях фенола от 10 до 100 мг/л (*S. plumosus*) и от 100 до 1000 мг/л (*L. aquatica*). Всего было использовано по 330 экз. того и другого вида.

Результаты опытов с *S. plumosus* свидетельствуют, что отрицательный фототаксис, четко проявившийся в контроле (13% на свету), нарушался по мере увеличения концентрации фенола. Статистически значимое его уменьшение начало проявляться уже при 30 мг/л. ($P < 0,003$). Характер влияния токсиканта на реакции клещей резко отличен от такового у хирономид. В чистой воде отрицательный фототаксис у *L. aquatica* выражен слабее (22% на свету), чем у хирономид и в растворе фенола 100-300 мг/л. он несколько подавляется. Однако, с 700-1000 мг/л, после интервала недействующих концентраций (400-600 мг/л), отрицательный фототаксис проявляется значительно сильнее по сравнению с контролем.

Для выяснения влияния света на устойчивость, тех же животных помещали в стаканы с растворами фенола различной концентрации и определяли процент гибели их на свету (освещенность 2500 люкс) и в полной темноте. Использовано в опытах *S. plumosus* - 660 экз., *L. aquatica* - 1100 экз.

Резистентность *C. plumosus* к фенолу по всем показателям (IC_{100} , IC_{50} , МПК) больше в темноте (соответственно 1400, 1100, 400 мг/л - в темноте; 800, 200, 200 мг/л - на свету), в то время как устойчивость *L. aquatica* одинакова и на свету и в темноте (1800, 1500, 900 мг/л).

Как известно, на отношении гидробионтов к кислородному режиму в водоемах, к различной степени органического загрязнения пресных вод, построена система сапробности Р. КОЛКВИТЦА и М. МАРСОНА (Kolkwitz и Marsson, 1909). С целью сравнения устойчивости исследованных животных к фенолу с устойчивостью этих же организмов к различной степени природного загрязнения, нами были отобраны и сведены в таблицу насекомые и паукообразные - индикаторы на сапробность как из шкалы КОЛКВИТЦА и МАРСОНА, так и из переработанных и дополненных позднее шкал Г.И. ДОЛГОВА (1926), В.И. ЖАДИНА и А.Г. РОДИНОЙ (1950) - для России и Л. ТУРОБОЙСКОГО (Turobovski, 1963) - для Польши.

Сравнение показывает, что поли и мезосапробные организмы являются наиболее резистентными и к токсическому воздействию (в наших экспериментах *Eristalis*, sp., красные личинки Chironomidae, *Stratiomyia* sp. - из насекомых; *A. globator* из гидрахнелл). Низкой устойчивостью к фенолу обладают олигосапробы (Trichoptera, Ephemeroptera, Plecoptera - из насекомых; *N. longipalpis* - из водяных клещей).

4. Зависимость токсикорезистентности от исходного функционального состояния организмов (сезонности, времени суток, полового диморфизма).

Влияние сезонного фактора исследовалось на жуках

Coelambus novemlineatus, клопах *Sigara striata* - имаго; поденках *Ordella maxima*, *Cloeon dipterum* - личинки и клещах *Limnochares aquatica* - имаго. С каждым видом зимой и летом поставлены две серии опытов: при температурах $+20^{\circ}$ и $+2^{\circ}$, в двух, трех повторностях. В обеих сериях использовано 220-880 экз. животных.

Последовательность развития фаз интоксикации при температурах $+20^{\circ}$ и $+2^{\circ}$ зимой и летом не нарушается. При высоких температурах и концентрациях, зимой процесс интоксикации наступает раньше и протекает более интенсивно. То же наблюдается и летом.

Кривые индивидуальной устойчивости насекомых и клещей исследованных летом, имеют преимущественно два максимума гибели при температуре $+20^{\circ}$, в отличие от зимних кривых S-образной формы, с одним максимумом гибели. Устойчивость исследованных животных к фенолу зимой и летом выше при температуре $+2^{\circ}$. По резистентности к фенолу виды можно расположить в следующие ряды:

зимой - *L. aquatica* > *C. plumosus* > *C. novemlineatus* > *O. maxima* > *S. striata* > *C. dipterum*;

летом - *L. aquatica* > *C. novemlineatus* > *C. plumosus* > *S. striata* > *O. maxima* > *C. dipterum*.

В осенне время (октябрь) клопы, некоторые жуки, личинки стрекоз, т.е. те организмы, которые встречаются в зимнее время подолгом в деятельном состоянии (не диапаузируют), не меняют своей устойчивости, более того резистентность некоторых из них (*C. novemlineatus*, *S. striata*) снижается к зиме.

Данных, подтверждающих зависимость устойчивости от суточного изменения режима дыхания у водных насекомых и паукообразных, в литературе нет. Для наших опытов были взяты низкоустойчивые личинки ручейников *Mystacides nigra* и поденок *Cloeon dipterum*. Средние размеры животных соответственно 5,3 и 8 мм. Насекомые предварительно адаптированные в комнатных условиях в течение суток,

испытывались на выживаемость в концентрациях фенола 100-1000 мг/л. Опыты ставились в 8 и 13 часов, гибель организмов подсчитывалась через 1 час - в 9 и 14 часов. Резистентность личинок к фенолу выше в 13-14 часов. В 900 мг/л у *M. nigra* утром гибель составляет 100%, а днем 83,3%; у *C. dipterum* - соответственно 93,3% и 76,6%, что, по-видимому связано с падением интенсивности дыхания у исследованных животных в дневное время и подъемом её в утренние часы. Полученные данные подтверждают необходимость учета времени суток при постановке острых опытов.

Для экспериментов по определению зависимости устойчивости от полового диморфизма были взяты те организмы, половые различия у которых выражены наиболее ярко и в половой принадлежности которых невозможно усомниться. Имаго жуков *Acilius sulcatus* и *Dytiscus marginalis*, клещей *Arrhenurus globator* и пауков *Argyrobeta aquatica* вылавливались в водоемах летом (*A. sulcatus* - поздней осенью) и адаптировались в комнатных условиях не более суток. Среди них отбирались самцы и самки, которые в дальнейшем испытывались на устойчивость к фенолу. Опыты повторялись трижды. Было использовано от 198 до 330 экз. животных (половина самцов и самок).

Самки жуков и клещей несколько устойчивее самцов (по МПК *A. sulcatus* самки - 2000 мг/л, самцы - 800 мг/л; *D. marginalis* самки 1800 мг/л, самцы - 1400 мг/л; *A. globator* самки - 1600 мг/л, самцы 1200 мг/л), гибель начинается позднее, у пауков *A. aquatica* этого различия не наблюдается (самцы и самки 900 мг/л). Можно предполагать (сравнивая с литературными данными), что различия в половой устойчивости у водных насекомых и паукообразных проявляются менее отчетливо по сравнению с наземными.

4. Изменение токсикорезистентности в онтогенезе

Прослежено токсическое воздействие фенола на размножение (откладку яиц) у водяного клеща *Piona nodata*.

С первых чисел мая 1970 года регулярно производилось вскрытие самок клещей с целью обнаружения яиц. Самки со зрелыми яйцами появились в массе на 10.V.70г. Отловленные в водоеме и адаптированные в комнатных условиях в течение суток самки рассаживались в три чашки Петри, по 25 экз в каждую. Первая чашка - контрольная, с чистой водой, вторая и третья - с субтоксическими растворами фенола соответственно 500 и 10 мг/л. Во второй чашке раствор сменялся один раз через 24 часа, через 48 часов самки пересаживались в чистую воду. В третьей чашке раствор сменялся в течение всего периода откладки яиц, через 24 часа. В трех повторностях использовано 225 экз.самок.

Откладка яиц в концентрациях фенола 500 мг/л задерживается на 4 дня (яйцекладка длилась всего 12 дней), по сравнению с контролем. В концентрации 10 мг/л не только не наблюдается задержки, а наоборот отмечается увеличение темпов яйцекладки - она заканчивается на 7 день, в то время как в контроле только лишь на десятый. Обнаруженное стимулирующее действие малых концентраций фенола на откладку яиц клещами не специфично, оно известно при действии других токсикантов, у других животных, и под влиянием других факторов, например, при изменении pH.

Стимулирующее действие малых концентраций токсиканта сказывается не только на темпах откладки яиц, но и на порядке яйцекладки, на поведении животных в этот помент. Нарушение механизма яйцекладки в концентрациях 500 мг/л (клещи не могут ориентироваться

по стенкам чашки, лепят кладки одну на другую, не могут регулировать количество откладываемых яиц) объясняется как общим нарушением координирующих функций нервной системы, так и частным нарушением нервно мышечной системы полового аппарата самок. В экспериментах по определению устойчивости *Hydrachnellae* к фенолу, была обнаружена также способность *P. nodata* к спариванию и складыванию яиц в токсических растворах до фазы паралича.

Поставлены опыты по выяснению влияния фенола на развитие (выход из яиц личинок) клопов *Sigara striata*, а также влияние нетоксических концентраций фенола на выход имаго комаров *Aedes cyprus* из куколок. Методика проведения экспериментов сходна с предыдущей, разница лишь в концентрациях токсиканта для *S. striata* во второй и третьей чашках они соответственно составляли - 100 и 5 мг/л, для *A. cyprus* - 20 и 2 мг/л. В трех поверхностях использовано 450 штук яиц клопов и куколок комаров.

С начала мая 1970 года вскрывались клопы *S. striata* для определения степени созревания яиц. Вскрывались все особи, так как половые различия у данного вида выражены очень слабо. Яйца, готовые к откладке обнаружены у самок к 22.V.70г.; в этот день животные отлавливались из водоема в массовом количестве и рассаживались в аквариум для получения яиц. Собранные со стенок аквариумов яйца, использовались в опытах.

В концентрации фенола 100 мг/л. выход личинок клопов задерживается по сравнению с контролем на 2 дня, а количество вылупившихся личинок в 6-8 раз ниже, чем в контроле.

В концентрации 5 мг/л задержки выхода личинок не наблюдается, количество же вылупившихся личинок в первый день даже превосходит таковое в контроле (некоторая стимуляция вылупления). Если незначительную гибель народившихся личинок в контроле и концентрациях фенола 5 мг/л на 10.VI.70г. (закончилось вылупление личинок из яиц) можно считать естественной (отсутствие крома), то полную гибель молоди на 3.VI.70г. в концентрации фенола 100 мг/л можно объяснить лишь токсическим действием яда. В концентрации 5 мг/л на 3.VI.70г. ни одной погибшей личинки не обнаружено.

Наибольшая гибель куколок *A. cyprinus* и летающих комаров (при выходе из куколок, а также на воде) наблюдается в концентрациях фенола 20 мг/л, причем вылет комаров задерживается на 2 дня по сравнению с контролем и концентрацией фенола 2 мг/л. Подобно предыдущим опытам, наблюдается положительное, стимулирующее влияние фенола в малых концентрациях на превращение комаров. Если в контроле все же погибает незначительное количество куколок, то в концентрациях токсиканта 2 мг/л нет ни одной мертвой куколки, меньше комаров гибнет также и на воде, по сравнению с контролем и концентрацией фенола 20 мг/л. И самцы и самки *A. cyprinus*, вышедшие из куколок, обработанных концентрацией фенола 20 мг/л, погибают полностью в течение суток после вылета. При превращении комаров в комаров в концентрации фенола 2 мг/л, в течение суток погибают все самцы - все самки остаются живыми. Эти данные являются еще одним доказательством того, что самки водных насекомых проявляют большую токсинорезистентность по сравнению с самцами.

При сравнительном изучении острого фенольного отравления различных стадий метаморфоза у водных насекомых и паукообразных, исследовался большой и разнообразный ряд животных. Яйца, личинки,

нимфы, куколки, имаго собрались в природе и испытывались на устойчивость к фенолу. Часть личинок выводилась из яиц в лабораторных условиях (*Phriganea striata*, *Sigara striata*, *Piona nodata*, *Limnochares aquatica*, *Argironeta aquatica*).

Яйца исследованных насекомых (*P. striata*, *S. striata*) превосходят по резистентности все остальные стадии метаморфоза, у паукообразных их устойчивость одинакова с устойчивостью нимф и имаго. Велика резистентность только что выдуплившихся личинок насекомых (*P. striata*, *S. striata*) и большинства личинок паукообразных. С развитием и увеличением размеров устойчивость личиной ручейников, поденок, стрекоз понижается. Их нимфы имеют одинаковую устойчивость с личинками последних возрастов. Личинки-двукрылых с коротким циклом развития (*Aedes*, *Cryophila*) в разных возрастах имеют одинаковую устойчивость, а у двукрылых с длительным циклом развития (*Chaoborus*, *Chironomus*, *Fristalis*) личинки старших возрастов более устойчивы, чем младшие.

Подвижные, активно передвигающиеся куколки насекомых (*Aedes*, *Cryophila*, *Chaoborus*, *Chironomus*) оказались менее резистентными, а неподвижные куколки *P. striata* и *Triogma* sp. более резистентными, чем их личинки.

По мере превращения из одной стадии в другую, наблюдается повышение устойчивости клопов. Имаго клопов и жуков, как правило, имеют большую устойчивость по сравнению с организмами на ранних этапах онтогенеза.

РЕАКЦИИ ИССЛЕДОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ ПРИ ФЕНОЛЬНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ

1. Симптомокомплекс отравления

При определении токсикологических показателей острой фенольной интоксикации у водных насекомых и паукообразных нами фиксировались все симптомы отравления у всех исследованных животных. Сравнительное изучение симптомов показало, что для них являются общими пять основных фаз развития патологического процесса.

1. Повышение общей двигательной активности. У ряда насекомых и паукообразных наблюдается четко выраженная реакция избегания отравленной среды.

2. Судорожные движения, сопровождающиеся частичным нарушением координации движений.

3. Уменьшение подвижности в связи с параличом органов или участков тела, выполняющих локомоторную функцию.

4. Полная потеря двигательной активности, глубокий паралич, сопровождающийся тремором мышц органов чувств (усиков, щупиков), плавательных конечностей или мышц туловища. Реагируют на раздражение судорожным подергиванием мускулов или отдельных органов.

4. Абсолютная неподвижность, организм не реагирует на внешние раздражения, смерть.

Перечисленные выше фазы отравления совпадают с токовыми у рыб и характерны не только для всех видов исследованных нами,

но и для всех стадий метаморфоза, активно передвигающихся в водной среде (личинок, нимф, куколок, имаго).

2. Обратимость интоксикации

Как показали опыты с 10 видами водных насекомых и паукообразных, помещение их в чистую воду по окончании острого эксперимента – обязательно. Некоторые из них, будучи абсолютно неподвижными, находящимися в состоянии паралича, при помещении в чистую воду через несколько часов подают "признаки жизни" – обнаруживается судорожное подергивание конечностей. Именно таким путем было обнаружено состояние "ложной смерти" или иммобилизации у *L. aquatica* и других водных клещей в фенольных растворах.

Сравнение концентраций, с которых происходит восстановление жизненных функций животных (движения, питания, размножения) с ранее полученными токсикологическими показателями, показывает, что они, как правило, ниже LC_{50} . Возвращение насекомых и паукообразных в нормальное физиологическое состояние возможно лишь с III фазы отравления – фазы судорог и частичного паралича. Если фазы повышенной двигательной активности и нарушения координации движений (I и II) высокообратимы (почти 100%), то обратимость третьей фазы значительно ниже (ниже 70%). Помещение животных, находящихся в IV фазе отравления – фазе полного паралича, в чистую воду вызывает лишь восстановление судорог, но не предохраняет от гибели. Четвертая фаза отравления у водных насекомых и паукообразных в растворах фенола практически не обратима.

3. Избегание животными токсических растворов и возможность адаптации к токсиканту в онтогенезе

В процессе сравнительного изучения устойчивости водных насекомых и паукообразных к фенолу были накоплены данные, свидетельствующие о способности некоторых из них избегать токсические растворы. Для некоторых организмов были получены количественные характеристики. Опыты проводились на жуках *Coelambus novemlineatus* и *Dytiscus marginalis*, пауках *Argyroneta aquatica*

и клопах *Sigara striata*, вылавливаемых в летний период. Эксперименты ставились в стеклянных стаканах емкостью 100 мл. с раствором фенола 200 - 2000 мг/л при температуре 20°, в 3 повторностях для *C. novemlineatus* и *S. striata*, в 12 повторностях для *D. marginalis* и *A. aquatica*. Первые рассаживались по 10 экз. в каждый стакан (всего 330 экз.), вторые - по 1 экз. (всего 120 экз.). На протяжении часа (*S. striata* - пяти часов) регистрировалось время избегания и количество животных, покидающих токсические растворы.

Реакция избегания четко выражена у всех видов (исключая *S. striata*), процент её проявления различен и практически не зависит от концентрации растворов. Наибольшая способность к избеганию наблюдалась у *A. aquatica* - в среднем 73% случаев, промежуточная - у *D. marginalis* (53%) и наименьшая - у *C. novemlineatus* (16%). Клопы *S. striata* в одинаковой степени покидают как

контрольные растворы, так и сосуды с фенольным раствором. Латентный период избегания (время, с которого животные начинают покидать фенольные растворы) также различен. У *C. novemlineatus*

(максимальное 40 мин.) он зависит от концентрации фенола, чем выше концентрация, тем меньше время избегания. У *D. marginalis* время избегания равно 5-7 мин. и не зависит от концентрации фенола. У *A. aquatica* избегание происходит в течение II мин. и время, затраченное на него, несколько уменьшается с увеличением концентрации фенола.

С целью выяснения возможности адаптации к фенолу в онтогенезе у водных насекомых, были получены токсикологические показатели для разных стадий метаморфоза у клопов *Sigara striata* и хирономид *Chironomus plumosus* во второй генерации, взятых одновременно из природы и отравленных фенольных садков. Всего использовано 3300 экз. клопов и 1980 экз. хирономид (на разных стадиях).

Токсикологические показатели для разных стадий клопов и хирономид из отравленной и неотравленной среды существенно не различаются. Даже во второй генерации не наблюдается превышения устойчивости у животных взятых из садков, хотя по мере развития и в первом и во втором поколениях они подвергались постоянному воздействию малых концентраций фенола. Результаты экспериментов подтверждают утверждения других авторов (Браун, 1959; Brooks, 1968; Флеров, 1970) о невозможности приобретения индивидуальной устойчивости организмами в онтогенезе. По-видимому, адаптация к токсикантам происходит только в результате отбора наиболее устойчивых особей.

В Ы В О Д Ы

1. Устойчивость водных насекомых и фенолу варьирует в широком диапазоне — при 48 часовой экспозиции LC_{100} от 4 до 2000 мг/л. Резистентность водных паукообразных в среднем значительно выше, чем у насекомых и её колебания не столь велики — LC_{100} от 600 до > 2000 мг/л.

2. Резистентность исследованных животных зависит от совокупности факторов, к важнейшим из которых следует отнести морфо-физиологические (толщина кутикулы, механизмы газообмена, проницаемость стенок кишечника, наличие кутикулярного липоидного слоя) и поведенческие (подвижность в отравленной среде, способность к избеганию, использование укрытий).

3. Устойчивость водных насекомых и паукообразных к токсиканту находится в прямой зависимости от абиотических факторов водной среды. С повышением температуры как в эксперименте, так и в природных условиях наблюдается снижение резистентности организмов к фенолу. Под действием яда возможно изменение фототаксиса у насекомых и снижение их устойчивости при изменении привычных световых условий. У исследованных водяных клещей, изменения фототаксиса и устойчивости при воздействии фенола не наблюдается. Организмы устойчивые к природному загрязнению, как правило, более устойчивы и к токсическому воздействию.

4. Резистентность исследованных животных зависит от исходного функционального состояния — их физиологической актив-

ности, уровня и характера обмена веществ в различные сезоны, в течение суток у особей разного пола. Большинство водных насекомых летом менее устойчивы, чем зимой. У недиапазирующих насекомых резистентность осенью не изменяется и даже несколько снижается к зиме. Токсикорезистентность исследованных водяных клещей в течение года практически не меняется. Падение интенсивности дыхания в дневное время и повышение её в утренние часы приводит к повышению токсикорезистентности насекомых днём и снижению — утром. Самки водных насекомых и клещей несколько устойчивее к фенолу по сравнению с самцами; у пауков подобного явления не наблюдается.

5. Малые концентрации фенола действуют стимулирующе на размножение и развитие водных насекомых и паукообразных. Наблюдается более чёткий порядок откладки яиц и полный (без отходов) выход личинок и имаго, даже по сравнению с контролем; сокращаются сроки превращения. В токсических растворах яйца откладываются неравномерно, беспорядочно, удлиняются сроки яйцеклетки и выхода личинок и имаго; с ростом концентраций возрастает гибель отложенных яиц и последующих стадий.

6. Устойчивость животных на разных стадиях онтогенеза различна. Яйца насекомых превосходят по резистентности все остальные стадии метаморфоза, у паукообразных их устойчивость одинакова с нимфами и имаго. Велика резистентность только что вылупившихся личинок насекомых и паукообразных. Устойчивость личинок насекомых разного возраста и куколок изменчива и зависит от морфо-физиологических особенностей и поведения последних. Имаго

клопов и жуков имеют большую устойчивость по сравнению с ранними стадиями онтогенеза.

7. В симптомокомплексе острой фенольной интоксикации у водных насекомых и паукообразных обнаружено пять основных фаз развития патологического процесса, свойственных ядам нервно-паралитического действия. Эти фазы характерны для всех стадий метаморфоза, активно перемещающихся в водной среде.

8. Возвращение животных в нормальное физиологическое состояние возможно лишь с III фазы отравления - фазы судорог и частичного паралича. IV фаза - фаза полного паралича, практически не обратима.

9. Способность исследованных организмов избегать отравленную среду, является одним из существенных приспособлений к меняющимся условиям внешней среды. Процент и время избегания индивидуальны для каждого животного. Если процент избегания не зависит от концентрации фенола, то время избегания в большинстве случаев тем меньше, чем выше концентрация раствора. Водные насекомые не способны приобретать индивидуальной устойчивости к фенолу. По-видимому, адаптация к токсиканту происходит только в результате отбора особей, обладающей высокой устойчивостью.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. АЛЕКСЕЕВ В.А. 1970. Исследование острой фенольной интоксикации некоторых видов водных насекомых и паукообразных. Сообщение 1. Гидробиол. журн. № 5.

2. АЛЕКСЕЕВ В.А. 1970. Влияние сезонного фактора на острую фенольную интоксикацию некоторых видов водных насекомых и паукообразных. В сб. "Биологич. процессы в морск. и континент. водоемах. КИШИНЕВ.

3. АЛЕКСЕЕВ В.А. 1971. Исследование острой фенольной интоксикации некоторых видов водных насекомых и паукообразных. Сообщение 2. Гидробиол. журн. № 3.

4. АЛЕКСЕЕВ В.А. 1971. Сравнительная устойчивость водных насекомых и паукообразных к фенолу. Информ. бюллет. ИБВВ АНСССР, № 11.

5. АЛЕКСЕЕВ В.А., Б.А. ФЛЕРОВ. 1972. Действие фенола на фотореакции и устойчивость *Chironomus plumosus*, и *Limnochares aquatica*. Информ. бюллет. ИБВВ. АНСССР, № 13.

6. АЛЕКСЕЕВ В.А., Б.А. ФЛЕРОВ. 1972. Избегание токсических растворов фенола некоторыми водными насекомыми и паукообразными. Информ. бюллет. ИБВВ. АНСССР. № 14.

МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ ДОЛОЖЕНЫ

на Всесоюзном симпозиуме по водной токсикологии, РИГА, 1971 г.

