На правах рукописи

Резниченко Иван Сергеевич

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ СРЕДНЕУРАЛЬСКОГО МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ЗАВОДА НА ПОПУЛЯЦИИ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ

03.02.08 – Экология (биология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный педагогический университет».

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Голованова Елена Васильевна

Официальные оппоненты:

Синдирева Анна Владимировна, доктор биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина», кафедра экологии, природопользования и биологии, профессор

Куровский Александр Васильевич, кандидат биологических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», кафедра экологии, природопользования и экологической инженерии, доцент

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный технический университет»

Защита состоится 29 июня 2018 года в 10 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.267.10, созданного на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36 (корпус НИИ ББ, конференц-зал).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на официальном сайте федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru.

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ: http://www.ams.tsu.ru/TSU/QualificationDep/co-searchers.nsf/newpublicationn/ReznichenkoIS29062018.html

Автореферат разослан «____» мая 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук Носков Юрий Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Масштабы подверженных загрязнению земель, находящихся в зоне воздействия точечных источников эмиссии, более обширны, чем данные о статистике выбросов этих производств (Некрасова, 1993; Perlatti et al., 2014). Исследование загрязнения окружающей среды проводят с помощью химического анализа почвы, подстилки, подземных и поверхностных вод. Но при этом еще должны изучаться живые компоненты (Самойлова, 1990; Евгеньев, 1999; Ковальчук и др., 2002; Francesco et al., 2011 и др.). Это позволяет проследить не только действие одного ингредиента загрязнения, а их влияние в сочетании, т.к. зачастую они могут усиливать или ослаблять действие друг друга (Водяницкий, 2005). Оценка влияния интегральной токсичности нередко проводится с использованием дождевых червей (семейство Lumbricidae) (Takeshi et al., 2011; Frouz et al., 2013). Такого рода оценка прописана в международных стандартах ISO 11268-1, ISO 11268-2, ISO 11268-3 (ISO, 1995; ISO, 1998; ISO, 1999). Дождевые черви модифицируют органическое вещество почв как химически, так и физически, смешивая подстилку с почвой, формируя и стабилизируя агрегаты, тем самым дренируя почвы (Lavelle, 2001; Zorn et al, 2008; Ngo et al, 2011; Agbaire et al, 2012). Они оказывают влияние на другие организмы, такие как растения, улучшая их корневое питание (Brown et al., 2000), микроорганизмы, увеличивая количество доступного азота в почве (Lavelle et al. 1995; Xu et al., 2013; Терещенко и др., 2013), некоторых паразитических гельминтов, уничтожая их (Hill et al., 2013) и беспозвоночных, для которых дождевые черви являются кормовой базой (Lavelle, 1996). По этим причинам червей называют инженерами экосистем (Jones et al., 1994). Эколого-биологические свойства дождевых червей и их стресс-реакция на загрязнение субстрата, по мнению многих авторов, соответствуют требованиям международных стандартов к выбору биоиндикаторов (Новакова, 1983; Криволуцкий, 1985; Morgan, 1998; Smith et al., 2012 и др.).

Территории, которые находятся в зоне влияния крупных промышленных предприятий, могут являться модельными объектами для анализа закономерностей реакции биоты на токсическую нагрузку (Воробейчик и др., 1994). В 1989–1991 гг. в одном из таких районов – возле Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ), крупнейшего предприятия Урала, – была исследована трансформация населения почвенной мезофауны (Воробейчик, 1990, 1991, 1998; Воробейчик и др., 1994). Через 15 лет (в 2004 г.), практически на тех же пробных площадях, авторы провели повторные почвенно-зоологические работы (Воробейчик и др., 2007). Но и в данной работе дождевые черви рассматривались только как компонент мезофауны, где изменение показателей фауны объяснялось содержанием металлов в почве. Поэтому всестороннее изучение реакции дождевых червей на данное загрязнение, как в полевых, так и лабораторных условиях, представляет большой научный интерес.

Цель работы: изучение влияния выбросов Среднеуральского медеплавильного завода на популяции дождевых червей.

Исходя из настоящей цели, решались следующие **задачи**:

1. проанализировать в полевых условиях изменение показателей популяций дождевых червей на различном расстоянии от Среднеуральского медеплавильного завода;

2. изучить влияние комплекса ингредиентов загрязнения почв (Cu, Pb, Cd, Zn на фоне подкисления SO_2) на дождевых червей в условиях вермикультивирования;

3. выявить наиболее оптимальную методику очищения пищеварительного тракта дождевых червей для анализа содержания тяжелых металлов;

4. установить содержание тяжелых металлов (Cu, Pb, Cd, Zn) в тканях дождевых червей, собранных на различном расстоянии от Среднеуральского медеплавильного завода.

Степень разработанности темы исследования. Большой вклад в изучение роли дождевых червей в лесных и агроэкоситемах был внесен советскими исследователями О.В. Чекановской (1960), О.В. Семеновой (1969), Т.С. Перель (1977) и др. Вопросы, связанные с приспособлением люмбрицид к неблагоприятным факторам окружающей среды, в том числе и антропичекого характера, подробно рассмотрены в работах зарубежных авторов, таких, как D.F. Cotton, J.P. Curry (1980), B.T. Lee (1985), P.J. Bohlen (1996), C.A. Edwards et al. (1998), R. Sherman (2001) B.G. Jamieson (2002), M.H. Garvin et al. (2003), A. Tato et al. (2006), A. Ceballos, C. Fragoso (2006), L. Gago-Duport et al. (2008).

В настоящее время изучается влияние токсического воздействия медеплавильных производств (Средний и Южный Урал) на экосистемы (Безель и др., 2010; Воробейчик и др., 2012).

Прикладные аспекты экологического и физиологического характера с использованием технологии вермикультивирования отражены в современных работах P.F. Hendrix, P.J. Bohlen (2002), R.C. Le Bayon (2004), N.M. Van Straalen et al. (2005), B.T. Lee, K.W. Kim (2008), M. Potthoff et al. (2008), L. Gago-Duport et al. (2008), A.P. Vig et al. (2011), A. Yadav et al. (2011), J. Kang et al. (2011), F. Nannoni et al. (2011), J. Singh et al. (2012), M.Y. Xing et al. (2012), A. Neaman et al. (2012), S. Hait et al. (2012), P.O. Agbaire et. al. (2012), C.F. Zhou et al. (2013), J. Singh et al. (2013), P.S. Chaudhuri et. al. (2014), M. Aja et al. (2014) и др.

Несмотря на широкую изученность реакции дождевых червей на токсическую нагрузку, существует ряд недостаточно изученных вопросов, связанных с воздействием токсических веществ, которые, как правило, в естественных уловиях присутствуют в виде комплексов и могут усиливать действие друг друга. Комплексное изучение влияния поллютантов в естественных и лабораторных условиях на разные виды дождевых червей может существенно расширить информативность в понимании действия определенных загрязняющих веществ на экосистемы.

Научная новизна. Впервые проведён комплексный анализ влияния выбросов медеплавильного завода (Cu, Pb, Cd, Zn на фоне подкисления SO_2) на дождевых червей, сочетающий полевые исследования с лабораторными, включающий анализ сред обитания и накопления тяжёлых металлов в тканях люмбрицид. Впервые выявлена зависимость между расстоянием от точечного источника эмиссии, содержанием элементов в почве и количеством металлов в тканях *Perelia*

diplotetratheca (Perel, 1967). Впервые установлено достоверное различие морфометрических показателей *Perelia diplotetratheca,* собранных на различном расстоянии от источника загрязнения. Выявлены разовое увеличение плодовитости люмбрицид под влиянием токсической нагрузки и изменение активности *P. diplotetratheca* и *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister, 1843) в присутствии тяжелых металлов в почве и подстилке в условиях эксперимента.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований могут быть использованы в работах по экотоксикологии. Данные по динамике плодовитости дождевых червей в условиях токсической нагрузки и накоплению тяжелых металлов в тканях дождевых червей позволяют скорректировать модель токсического воздействия комплекса поллютантов на экосистемы (Безель и др., 1994; Воробейчик и др., 1994; Воробейчик, 2004). Данные об изменении морфометрических и популяционных показателей дождевых червей в условиях техногенного воздействия могут быть использованы для экологического нормирования токсических нагрузок.

В результате сравнительного анализа методик эвакуации содержимого пищеварительного тракта дождевых червей для экотоксикологических исследований выявлена наибольшая эффективность методики с использованием субстрата агар-агар. Материал диссертации может использоваться для создания экологических нормативов по установлению техногенной нагрузки на наземные экосистемы при использовании живых тест-объектов. Материалы по анализу методик очистки кишечника дождевых червей могут быть использованы в экотоксикологических исследованиях для пробоподготовки и в практическом курсе «Методы биоиндикации» для студентов обучающихся по специальности эколого-биологического профиля.

Методология и методы исследования. Методология настоящей диссертации основывается на стандартных и общепринятых схемах полевых и лабораторных исследований по изучению реакции дождевых червей на загрязнение окружающей среды выбросами медеплавильного производства.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Комплекс поллютантов (тяжелых металлов и подкисления почв) влияет на число видов, численность, количество откладываемых коконов, размер и вес дождевых червей, определяет исчезновение отдельных морфо-экологических типов и групп.

2. Содержание тяжелых металлов (Cu, Zn, Cd, Pb) в тканях дождевых червей зависит от их количества в почве и подстилке, а также от токсичности тяжелых металлов и от половозрастного состояния люмбрицид.

Степень достоверности результатов исследования. Достоверность результатов настоящего исследования подтверждается репрезентативностью экспериментальных выборок, обеспечивается за счет применения современных аналитических методов измерения исследуемых параметров, корректного использования методик статистического анализа.

Апробация работы. Основные положения диссертации были доложены на конференции молодых ученых «Биосфера Земли: прошлое, настоящее и будущее» в

г. Екатеринбурге в 2008 году; Международных научно-практических конференциях студентов и аспирантов в г. Новосибирске в 2009, 2010, 2011 годах; Международной научно-технической конференции «Студент и научно-технический прогресс», г. Омск, 2010; III Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием «Молодежь XXI века: образование, наука, инновации», г. Новосибирск, 2014; Международной пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века», г. Пущино, 2016; Региональной научно-практическая конференции молодых ученых «Биотехнологии в сельском хозяйстве, промышленности и медицине», г. Омск, 2017. На всех перечисленных мероприятиях автор работы принимал очное участие и выступал с докладами.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе: 4 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, переводная версия одной из статей входит в международные базы цитирования (WoS, Scopus); 2 публикации в сборниках международных конференций и 1 публикация в сборнике всероссийской конференции.

Личный вклад автора. В процессе работы над диссертацией автор провел самостоятельное исследование в условиях стационара ИЭРиЖ УРО РАН. Работа включала сбор материала (дождевые черви, сборные пробы почв и подстилки) на различной удаленности от Среднеуральского медеплавильного завода, а так же изучение морфологических и биоценотических характеристик населения дождевых червей, обитающих в зоне токсической нагрузки. По оригинальной методике, разработанной автором, была осуществлена пробоподготовка дождевых червей к анализу на тяжелые металлы. В лабораторных условиях были проведены эксперименты с использованием трех видов дождевых червей.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах, состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников и литературы (254 наименования, из них 194 – на иностранных языках) и двух приложений. Диссертация содержит 32 рисунка и восемь таблиц (из них две таблицы – в приложениях).

Благодарности. За неоценимую помощь в работе и обучение автор искренне признателен своему научному руководителю, канд. биол. наук Е.В. Головановой. За большую помощь в проведении исследований, обсуждение результатов, ценные советы автор выражает благодарность д-ру биол. наук Е.Л. Воробейчику. Также автор признателен сотрудникам Института экологии растений и животных УРО РАН за помощь в подготовке к проведению полевых исследований и обсуждение результатов работы: научному сотруднику М. Е. Гребенникову, канд. с.-х. наук И. Е. Бергману, канд. биол. наук А.И. Ермакову, канд. биол. наук Д.В. Нестерковой, канд. биол. наук А.В. Нестеркову. За обсуждение рукописи и ценные критические замечания автор признателен д-ру биол. наук М.В. Винарскому, д-ру биол. наук И.И. Богданову.

Работа выполнялась в рамках НИР по теме «Факториальная экология дождевых червей в условиях естественных и антропически измененных ландшафтов Урала и Западной Сибири » по проекту №1364 государственного задания на выполнение работ в сфере научной деятельности Министерства образования и науки РФ в 2014 году (Исполнитель). С 2014 по 2016 годы – переход на конкурсный проект №6.1957.2014/К государственного задания Министерства образования и науки РФ «Ключевые группы беспозвоночных животных фоновых и импактных территорий Западной Сибири и Урала» (Исполнитель). С 2016 по 2017 годы исследование выполнялось при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00339 мол_а (Руководитель).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Деление на зоны основывается на результатах атомно-абсорбционного спектрометрического анализа снега, почвы и подстилки на содержание загрязняющих веществ, который был проведен Лабораторией экологической токсикологии ИЭРиЖ УРО РАН под руководством Е.Л. Воробейчика. В западном направлении, против основного переноса воздушных масс от СУМЗа выделены импактная (до 3 км), буферная (3-7 км) и фоновая (20-30 км) зоны загрязнения (Воробейчик и др., 1994).

Материалом для данной работы послужили исследования, проведенные с 2008 г. по 2017 г. Работа проводилась каждый полевой сезон и включала в себя полевой сбор материала на территории стационара ИЭРиЖ УрО РАН – в окрестностях села Хомутовка Первоуральского района Свердловской области в районе воздействия на окружающую среду Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ). Параллельно проводились лабораторные эксперименты с использованием почвенного субстрата и червей, отобранных на фоновой и буферной территории. Сбор дождевых червей для определения содержания тяжёлых металлов и измерения морфометрических показателей проходил в ельниках-пихтарниках на разной удаленности от СУМЗа (5, 7, 20, 30 км). Места сбора были приближены к опытным площадкам, на которых в ходе картирования территории вблизи СУМЗа был установлен химический состав почв и подстилки. Количество равноудаленных друг от друга площадок для буферной территории равнялось 10, так же как и для фоновой.

Полевые исследования проводились во всех зонах влияния источника эмиссии (на удалении 5, 7, 20 и 30 км от завода), на каждой из которых располагалось 5 площадок, где было отобрано 5 проб, располагавшихся на территории в случайном порядке. Производился ручной разбор почвы и подстилки. Площадь одной пробы равнялась 25х25 см, глубина отбора составляла 25-30 см в зависимости от пород, расположенных ниже почвенно-подстилочного слоя, а также особенностей нахождения люмбрицид в субстрате. Для стандартизации количественных характеристик населения люмбрицид все показатели были пересчитаны на 1м^2. При оценке распределения червей по слоям почвенно-подстилочный монолит делился на почву и подстилку, далее осуществлялся непосредственно разбор образцов.

Лабораторные исследования. Популяционные характеристики червей изучались по оригинальной методике, подходящей под условия лаборатории, с использованием полипропиленовых сосудов ёмкостью 2 л. На дно сосудов помещался крупный дренаж слоем 2 см. Сверху укладывался почвенный субстрат слоем 12 см. Для этого нами отбирались смешанные образцы почвы и подстилки с пяти площадок в зоне 5 км от Среднеуральского медеплавильного завода и пяти площадок в зоне 30 км от источника эмиссии. В качестве подстилки использовался моховой пласт. В каждый сосуд помещались по 10 половозрелых и 5 ювенильных особей. Опыт проводился в пятикратной повторности для загрязнённых почв и пятикратной – для контрольных почв. В эксперименте использовались виды *P. diplotetratheca* и *L. rubellus*, собранные на фоновой территории (30 км на запад от завода) и лабораторный вид – *Eisenia fetida*. Для каждого вида исследования производились отдельно.

Сравнительный анализ эффективности методов очищения желудочно-кишечного тракта дождевых червей на различных субстратах. В основе метода очищения содержимого желудочно-кишечного тракта дождевых червей (модификация методики Покаржевского, 2000) лежит метод замещения содержимого желудочно-кишечного тракта на субстрат. Дождевые черви выдерживались на различных типах субстрата: агар-агар (с концентрацией 2, 3, 4, 5 г/л), сатурированная фильтровальная бумага и измельченная целлюлоза. За контроль принималась сборная проба почв и подстилки. Далее проводилось фиксирование дождевых червей в 4 % формалине, вскрытие кишечного тракта и учет наличия пищевых частиц и их количества.

Концентрации металлов (Cu, Pb, Cd, Zn) в тканях измеряли на атомно-абсорбционном спектрометре AAS Vario 6 (Analytic Jena, Германия) с пламенным вариантом атомизации. Химические анализы выполнены в лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН, которая аккредитована на техническую компетентность и зарегистрирована в государственном реестре РФ (аттестат РОСС.RU0001.515630), сотрудниками лаборатории.

Для статистической обработки данных использовались стандартные методы описательной статистики (Зайцев, 1991). Значимость различий между выборками оценивали при помощи критерия Шеффе, предварительно логарифмировав значения. Значимость различий в выборках в ходе полевых исследований оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Значимость различий в выборках в ходе эксперимента оценивали с помощью непараметрического дисперсионного анализа – рангового критерия Фридмана (Зайцев, 1991). Обработка данных производилась с использованием программного пакета Statistica 12.0. Итоговые данные и ошибки в них округлялись до значимых цифр (Зенкевич, 2009).

РЕАКЦИЯ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Изменение характеристик населения люмбрицид в зависимости от расстояния до источника эмиссии в полевых условиях

В период исследований на площадках в ельниках-пихтарниках выявлено 9 видов люмбрицид из 12, характерных для Среднего Урала (Перель, 1979; Всеволодова-Перель, 1997). 2 вида являются эндемиками Среднего Урала: *Perelia diplotetratheca*, *P. tuberosa* (Svetlov,1924). Один вид распространен на территории Сибири и Дальнего Востока – *Eisenia atlavinyteae* (Perel et Graphodatsky, 1984). Остальные виды относятся к широко распространенным видам – космополитам: *Dendrobaena octaedra* (Savigny,1826), *Octolasion tyrtaeum* (Savigny, 1826), *Aporrectodea rosea* (Savigny,1826), *A. caliginosa* (Savigny, 1826), *Dendrodrilus rubidus tenuis* (Eisen,1874), *L. rubellus* (Hoffmaster, 1843).

На всей исследуемой территории доминантным является вид *P. diplotetratheca*. На фоновой территории его количество равнялось 20±4 особей/м^2, буферной 1 (7 км от завода) 17±5 особей/м^2, буферной 2 (5 км) 4±2 особей/м^2, что составило74–85 % от общей численности люмбрицид. Также значительной была доля *D. octaedra.* На фоновой территории количество *D. octaedra* составило 2±1 особей/м^2 (8% от всех особей на фоновой территории). На площадках, расположенных в 7 км от завода количество вида снизилось в 1,2 раза, что составило 8% от всех особей на данном километре. На территории, удаленной от завода на 5 км, численность *D. octaedra* снизилась в 4 раза, что составило 15 %. Доля остальных видов составляла менее 7%. На площадках, расположенных в 2-4 км от источника эмиссии черви в количественных учётах отсутствовали.

При уменьшении расстояния до Среднеуральского медеплавильного завода пропорционально усиливается процесс элиминации видов дождевых червей, которые питаются собственно перегноем. Данный факт свидетельствует о меньшей устойчивости червей второго морфо-экологического типа к загрязнению окружающей среды. С приближением к заводу достоверно увеличивается ($p<0,05$) количество подстилочных и почвенно-подстилочных видов и уменьшается доля почвенных видов, относящихся к первому морфо-экологическому типу. При качественных сборах на импактной территории был обнаружен вид *Dendrodrilus rubidus tenuis*, который обитал в древесине упавшего дерева, подвергшегося деструкции. Из-за того, что местообитание не соответствовало схеме исследования, данный вид не учитывался.

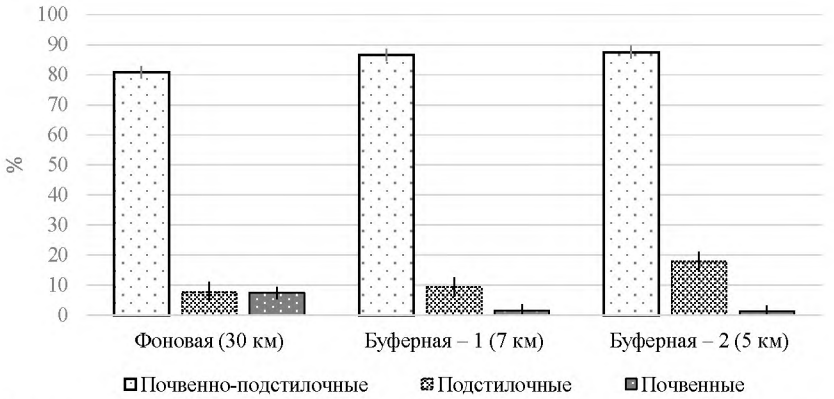

Рисунок 1 – Соотношение экологических групп люмбрицид в различных зонах воздействия

Поскольку нижнеярусные виды могут обитать в достаточно рыхлых и хорошо дренированных почвах, в условиях таежной зоны в ельниках-пихтарниках, в бурых горно-лесных почвах данные виды не обнаружены.

С приближением к источнику эмиссии отмечено увеличение доли люмбрицид, находящихся в верхних слоях субстрата ($p<0,05$). На фоновой территории, люмбрициды были распространены согласно морфо-экологическим типам, во всех слоях почвы. На буфере-1 снизилась ($p<0,05$) доля люмбрицид в нижнем и среднем слоях почвы с увеличением люмбрицид в подстилке. При приближении к источнику эмиссии наблюдались те же тенденции: с исчезновением дождевых червей в нижних слоях почвы пропорционально увеличивается доля дождевых червей в подстилке, которая выше в 1,7 и 1,4 раза, чем на фоне и буфере-1 соответственно.

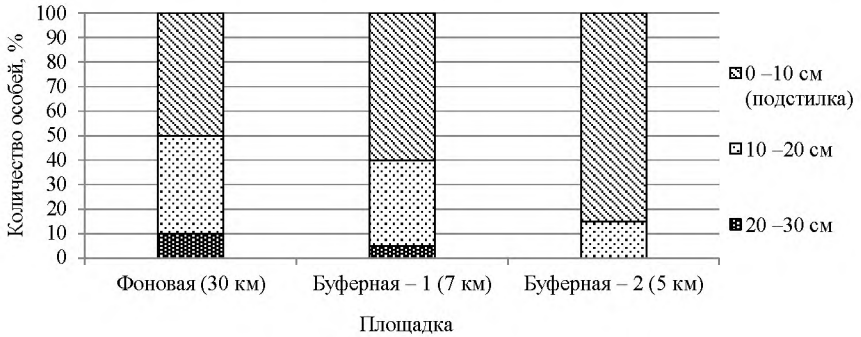

Рисунок 2 – Вертикальное распределение люмбрицид в разных горизонтах субстрата.

Статистически достоверна ($p<0,05$) разница в общем количестве коконов люмбрицид на буфере-2 по сравнению с буфером-1 и фоном (рис. 3). Между буфером-1 и фоном достоверной разницы не выявлено.

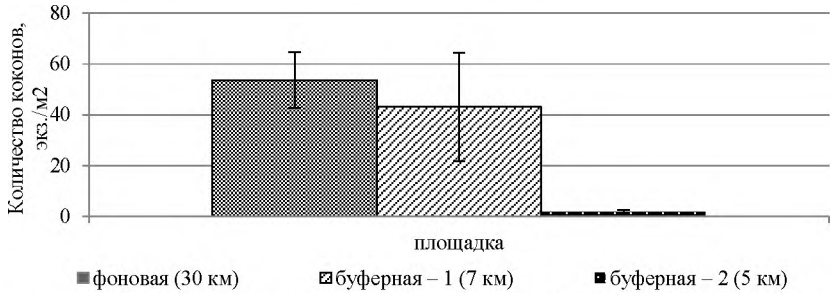

Рисунок 3 – Количество коконов дождевых червей в зависимости от расстояния до источника эмиссии

Изменение морфологических характеристик P. diplotetratheca в полевых условиях

Измерение люмбрицид в толщину проводилось на уровне пояска зрелости. ранговый критерий Фридмана показал статистически достоверное ($p<0,05$) различие между толщиной червей, собранных на фоновой территории и буфере–2. Средняя толщина поясковой части на фоне составляла 4,06±0,01 мм, в буферной зоне – 3,6±0,1мм. Средняя длина – 75±1 мм на фоне и 62±2 мм в буферной зоне. Статистически достоверной разницы между буфером-1 и буфером-2 отмечено не было.

Сухая масса люмбрицид изменялась, исходя из двух вышеописанных параметров – длины и толщины. Значения сухой массы дождевых червей, собранных на фоновых площадках, превышали буферные значения в 2,9 раза ($p<0,001$) и составляли 0,086±0,002 г на фоне и 0,063±0,002 г в буферной зоне. Между буфером-1 и буфером-2 разница была незначительной и недостоверной.

РЕАКЦИЯ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Показатели населения дождевых червей

Динамика численности. Одним из наиболее значимых показателей, используемых в экспресс-тестах на острую токсичность, является выживаемость половозрелых особей. Комплекс ингредиентов загрязнения способствовал снижению численности половозрелых особей *L. rubellus* ($\chi^2=28,9$, $p = 0,02$) и доминирующего эндемика – *P. diplotetratheca* ($\chi^2 = 26,7$, $p = 0,03$). Схожие тенденции отмечены и у ювенильных особей обоих видов. В присутствии поллютантов численность особей снижалась до полной элиминации. На контроле численность люмбрицид снизилась в 1,4 раза. Ювенильные особи, как показали опыты, оказались более чувствительны к загрязнению почв.

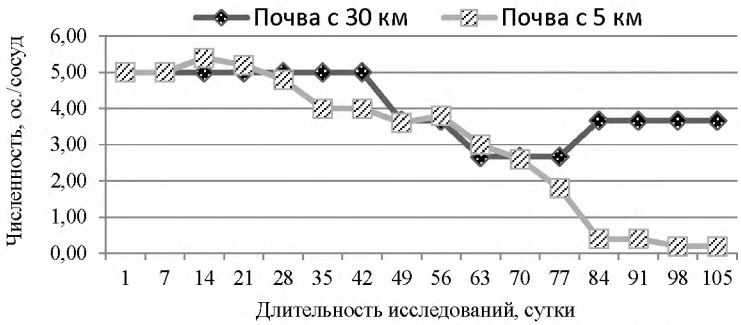

Рисунок 4 – Выживаемость неполовозрелых особей *L. rubellus* при наличии и отсутствии поллютантов в почве

Плодовитость. В опыте с *L. rubellus* на загрязненных почвах наблюдается схожая тенденция, что и с *P. diplotetratheca:* гибели люмбрицид предшествовала максимальная откладка коконов. Данное явление, вероятно, говорит об активных «попытках» *P. diplotetratheca* восстановить численность. Тем не менее, наличие «пиков» плодовитости у обоих видов дождевых червей свидетельствует о проявлении механизма «омоложения» популяции (Исаев, Покаржевский, 1978; Безель, Оленев, 1989).

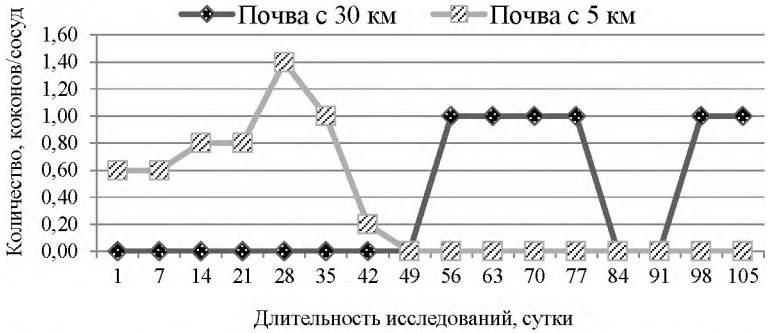

Рисунок 5 – Плодовитость *L. rubellus* при наличии и отсутствии поллютантов в почве

Возрастной спектр. На контроле наблюдается постепенное увеличение доли коконов (χ^2=9,7, p = 0,04), но в целом отмечается стабильный тип возрастного спектра (Рис. 6) Как мы отмечали выше, количество половозрелых и неполовозрелых особей остаётся постоянным, постепенно увеличивается доля коконов.

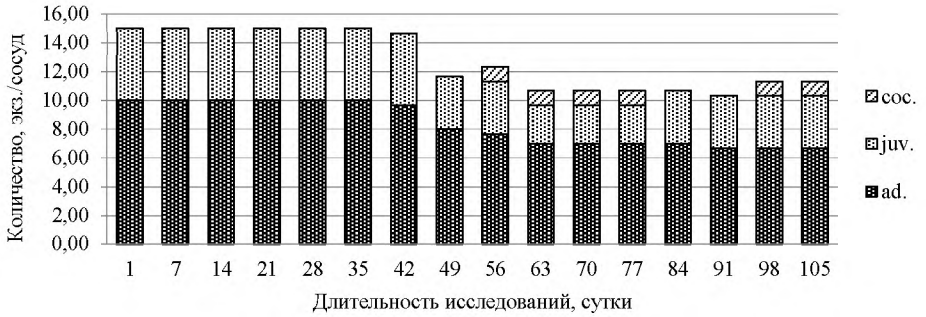

Рисунок 6 – Возрастной спектр *L. rubellus* при отсутствии поллютантов в почве

При наличии поллютантов (Рис. 7) к концу эксперимента популяция состоит практически из одних половозрелых особей. Это можно объяснить низкой выживаемостью неполовозрелых особей и небольшим выходом ювенильных червей из коконов. Статистически достоверное различие наблюдается во второй половине эксперимента для половозрелых особей (χ^2=11,1, p = 0,04), для неполовозрелых (χ^2=10,2, p = 0,03).

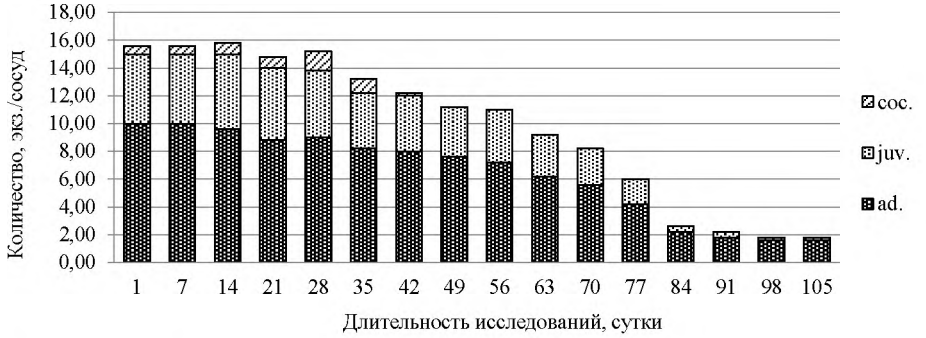

Рисунок 7 – Возрастной спектр *L. rubellus* при наличии поллютантов в почве

Активность половозрелых особей в субстрате. Как видно из рисунка 9, на загрязнённой почве черви смещались в нижние ($p<0,05$) слои и отличались низкой активностью. На контроле (Рис. 8) *L. rubellus* очень подвижны, поэтому обнаруживались во всех слоях субстрата.

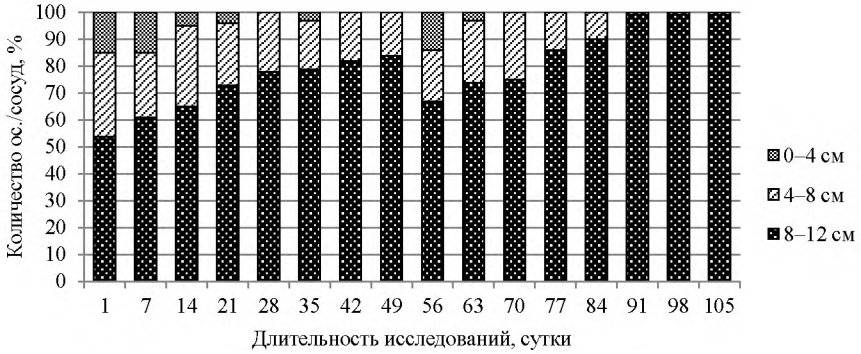

Рисунок 8 – Вертикальное распределение половозрелых особей *L. rubellus* при наличии поллютантов в почве.

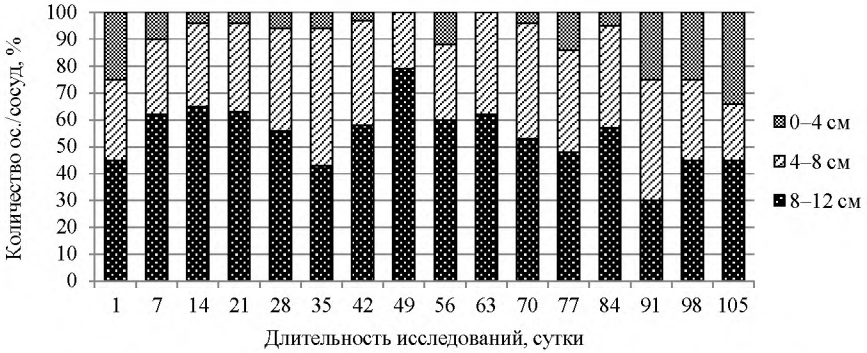

Рисунок 9 – Вертикальное распределение половозрелых особей *L. rubellus* при отсутствии поллютантов в почве.

Для *P. diplotetratheca* характерны те же тенденции: на контроле черви данного вида отличались высокой подвижностью, поэтому обнаруживались во всех слоях субстрата, на загрязнённой почве черви смещались в нижние слои субстрата и отличались низкой активностью. Достоверное различие наблюдалось во второй половине эксперимента (χ^2=12,189, p = 0,042).

Сравнительный анализ методик очистки содержимого пищеварительного тракта дождевых червей для экотоксикологических исследований

После выдерживания люмбрицид на различных субстратах производилось их вскрытие и осуществлялся учет на наличие остаточных включений. На контроле содержание частиц составляет 26±8 ед. (P<0,05). Содержание частиц на субстрате с использованием агара с концентрацией сухого вещества от 3 до 4 г/л однородно и составляет от 1,2±0,5 до 1,3±0,5 ед. При увеличении концентрации агара до 5 г/л наблюдается увеличение количества остаточных частиц в кишечнике люмбрицид до 4±1 (p<0,05) единиц, что может быть связано с повышением густоты полученной

смеси и затруднением перемещения червей во всем объеме субстрата. На измельченной и увлажненной фильтровальной бумаге показатель составил 2±1 ед. ($p<0,05$). Содержание остаточных включений является стабильным, но недостаточно удовлетворительным по количеству включений, к тому же необходимо уделить большее внимание чистоте субстрата. На сатурированной фильтровальной бумаге содержание остаточных частиц равно 1,2±0,2 ед. ($p<0,05$). Содержание остаточных частиц практически не различалось в эксперименте на сатурированной фильтровальной бумаге и на среде с концентрациями агара 3 г/л и 4 г/л ($p<0,05$).

Содержание тяжелых металлов в тканях дождевых червей, собранных на различном расстоянии от точечного источника эмиссии

Для меди, цинка и кадмия характерно прямое накопление в тканях люмбрицид (Табл. 1). Чем выше их концентрация в почве, тем выше концентрация в тканях дождевых червей. Для накопления цинка показатель силы влияния оказался низким и недостоверным.

Таблица 1. Концентрации (мкг/г) тяжелых металлов в дождевых червях на разном удалении от СУМЗа

Элемент	Расстояние до источника выбросов, км			
	30 [n=55]	**20 [n=47]**	**7 [n=38]**	**4–5 [n=57]**
Cu	7,5±0,1 {9,9} (5,6–10,3)	7,9±0,2 {17,4} (5,3–11,1)	24±2{44,2}*** (11,9–71,7)	28±2{50,3}*** (10,3–75,4)
Pb	9,2±0,7 {56,4} (1,0–26,7)	14±1{72,9} (3,1–62,6)	110±14{74,5}*** (18,3–359,5)	230±25{83,0}*** (8,6–1010,3)
Cd	16,8±0,7 {30,9} (6,6–28,8)	21,3±0,9 {29,0}** (9,7–35,8)	68±4{34,6}*** (24,8–131,9)	92±5{39,4}*** (28,3–193,3)
Zn	300±10{25,0} (143,6–439,6)	360±15{28,4} (193,6–705,9)	618±36{36,2}*** (230,2–1365,3)	537±31{43,2}*** (185,6–1152,4)

Примечание: среднее ± ошибка, в круглых скобках – минимальное и максимальное значение, в фигурных скобках – коэффициент вариации, учетная единица – особь. Уровень значимости различий с 30 км: * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$ (критерий Шеффе).

С приближением к источнику эмиссии однофакторный дисперсионный анализ показал снижение силы влияния концентрации тяжелых металлов в субстрате на их накопление тканями *P. diplotetratheca* (Табл. 2). Возможно, это говорит о границе накопления, за которой следует летальный исход червей.

Таблица 2. Влияние концентрации тяжелых металлов в субстрате на их накопление тканями *P. diplotetratheca*

Металлы	ŋ±m	F	k-n	A
Cu	0,75±0,02	20,63	1; 62	0,05
Pb	0,35±0,07	14,25	1; 62	0,01
Cd	0,55±0,05	16,25	1; 46	0,05
Zn	0,3±0,2	(2,97)	1; 46	-

Примечание: ŋ±m показатель силы влияния ± ошибка, F – достоверность по Фишеру, в круглых скобках – показатель F<Fтаб, k-n – число степеней свободы, α – уровень значимости исследований.

При помощи однофакторного дисперсионного анализа установлена достоверная разница ($p<0,05$) в накоплении цинка, кадмия, свинца, зависящая от возраста особей (Рис. 10). В ювенильных особях содержание свинца меньше в 1,14, цинка – в 1,34, кадмия – в 1,3 раза, чем в половозрелых, что можно объяснить меньшей продолжительностью нахождения неполовозрелых люмбрицид в загрязненной зоне или более быстрым обменом веществ. В накоплении меди между половозрелыми и ювенильными особями разница недостоверна.

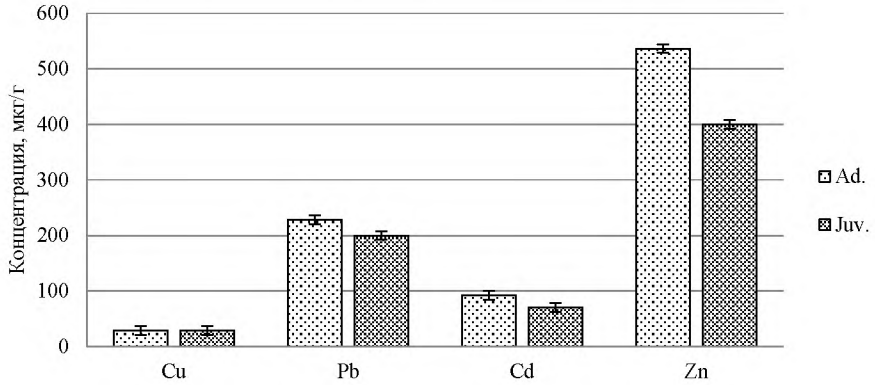

Рисунок 10 – Накопление тяжелых металлов (Cu, Zn, Cd, Pb) в ювенильных и половозрелых особях *P.diplotetratheca* (Среднее±ошибка)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования сделаны следующие **выводы:**

1. Видовое богатство дождевых червей представлено девятью видами, два из которых – эндемики Среднего Урала. На всей исследуемой территории доминантным является вид *P. diplotetratheca*. При приближении к СУМЗу

наблюдается снижение видового богатства с 7 видов на фоновой территории до 3 видов на буферной.

2. Дождевые черви в зоне воздействия поллютантов характеризуются меньшими размерами и массой (сухой вес). При приближении к заводу наблюдаются общие тенденции в снижении числа видов, численности и количества откладываемых коконов дождевых червей.

3. В лабораторных условиях установлено, что присутствие поллютантов в субстрате способствует гибели дождевых червей. Перед этим провоцируется разовая откладка коконов люмбрицид. На контроле к концу эксперимента наблюдается стационарный тип возрастной структуры, на загрязненной почве – регрессивный. Присутствие загрязняющих веществ в субстрате способствовало уменьшению подвижности дождевых червей.

4. Наиболее эффективной является методика эвакуации содержимого пищеварительного тракта дождевых червей с использованием агар-агара с концентрацией 3–4 г/л.

5. Чем ближе расстояние до источника эмиссии, тем выше концентрация тяжелых металлов в тканях дождевых червей. Накапливаются преимущественно свинец и цинк, в меньшей степени медь и кадмий.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, в том числе статья в журнале, переводная версия которого индексируется Web of Science:

1. **Резниченко И. С.** Влияние выбросов Среднеуральского медеплавильного завода на *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister, 1843) в условиях эксперимента [Электронный ресурс] / И. С. Резниченко // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – 7 с. – URL: https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11451 (дата обращения: 14.03.2017). – 0,8 п.л.

2. **Резниченко И. С.** Сравнительный анализ методик очищения пищеварительной системы дождевых червей для экотоксикологических исследований на *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) / И. С. Резниченко // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6, ч. 5. – С. 1156–1159. – 0,8 п.л.

3. Нестеркова Д. В. Тяжелые металлы в пищевой цепи «почва – дождевые черви – европейский крот» в условиях загрязнения среды выбросами медеплавильного завода / Д. В. Нестеркова, Е. Л. Воробейчик, **И. С. Резниченко** // Сибирский экологический журнал. – 2014. – Т. 21, № 5. – С. 777–788. – 1,2 / 0,4 п.л.

в переводной версии журнала:

Nesterkova D. V. The effect of heavy metals on the soil-earthworm- European mole food chain under the conditions of environmental pollution caused by the emissions of a copper smelting plant / D. V. Nesterkova, E. L. Vorobeichik, **I. S. Reznichenko** // Contemporary Problems of Ecology. – 2014. – Vol. 7, is. 5. – P. 587–596. – DOI: 10.1134/S1995425514050096 (*Web of Science*)

4. **Резниченко И. С.** Аккумуляция тяжелых металлов почвенно-подстилочным типом дождевых червей на примере Perelia diplotetratheca (Perel, 1967) в условиях загрязнения точечным источником эмиссии [Электронный ресурс] / И. С. Резниченко // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – 8 с. – URL: http://science-education.ru/ru/article/view?id=25507 (дата обращения: 14.03.2017) – 0,8 п.л.

Публикации в других научных изданиях:

5. **Резниченко И. С.** Трансформация люмбрикофауны Западной Сибири и Урала в связи с глобальными изменениями климата / И. С. Резниченко, С. Ю. Князев // Студент и научно-технический прогресс : биология : материалы XLVIII международной научной студенческой конференции. Новосибирск, 16–20 апреля 2011 г. – Новосибирск, 2011 – С. 97. – 0,1 / 0,05 п.л.

6. **Резниченко И. С.** Изменение эколого-биологических характеристик популяции дождевых червей в зоне действия Среднеуральского медеплавильного завода / И. С. Резниченко // Молодежь XXI века : образование, наука, инновации : материалы III всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. Новосибирск, 19–21 ноября 2014 г. – Новосибирск, 2014. – Ч. 1. – С. 238. – 0,06 п.л.

7. **Резниченко И. С.** Механизмы выживания дождевых червей (*сем. Lumbricidae*) в градиенте загрязнения медеплавильным производством / И. С. Резниченко // Биология – наука XXI века : сборник тезисов 20-й международной Пущинской школы-конференции молодых учёных. Пущино, 18–22 апреля 2016 г. – Пущино, 2016. – С. 402. – 0,05 п.л.

Издание подготовлено в авторской редакции.
Отпечатано на участке цифровой печати
Издательского Дома Томского государственного университета
Заказ № 28-0418 от «27» апреля 2018 г. Тираж 100 экз.
г. Томск Московский тр. 8 тел. 53-15-28