

**ТОКСИЧНОСТЬ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РЫБИНСКОГО
ВОДОХРАНИЛИЩА ПО МНОГОЛЕТНИМ
ДАНЫМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ.
СООБЩЕНИЕ 2. ТЕРАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

© 2022 г. И. И. Томила^а, *, Л. П. Гребенюк^а, Р. А. Ложкина^а

^аИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова Российской академии наук,
пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Россия

*e-mail: i_tomilina@mail.ru

Поступила в редакцию 17.11.2020 г.

После доработки 19.05.2021 г.

Принята к публикации 22.06.2021 г.

Экспериментально подтверждено тератогенное воздействие донных отложений Рыбинского водохранилища на структуру ротового аппарата личинок *Chironomus riparius*, вызывающее возникновение патоморфологических изменений. В среднем за весь период наблюдений по плесам доля личинок хирономид с патоморфологическими нарушениями достигала для Моложского плеса 29.4, Центрального – 24.6, Волжского – 24.0, Шекснинского – 26.2, в контроле – 6.7%. Изменения регистрировали у всех структур ротового аппарата личинок хирономид. Количество деформаций ротового аппарата личинок хирономид может отражать уровень загрязнения донных отложений и служить достоверным биомаркером при проведении мониторинга экологического состояния пресноводных экосистем.

Ключевые слова: донные отложения, хирономиды, морфологические деформации ротовых структур, загрязнение

DOI: 10.31857/S0320965222010132

ВВЕДЕНИЕ

Биотестирование представляет собой комплекс различных подходов для оценки состояния разных организмов, находящихся под воздействием комплекса естественных и антропогенных факторов. Фундаментальным показателем их состояния служит эффективность физиологических процессов, обеспечивающих нормальное развитие организма. Основным тестируемым параметром при установлении токсичности природных сред (воды, водной вытяжки, нативных донных отложений) по-прежнему остается выживаемость организмов, хотя подобные тесты часто позволяют лишь предположить токсичность исследуемых проб. Более перспективным в качестве показателя представляется использование физиологиче-

ских, а тем более морфологических отклонений от нормы, поскольку этому предшествуют стойкие и долговременные биохимические процессы, которые приводят к изменению физиологического состояния тест-организма, ухудшения качества его потомства или гибели.

Комары-звонцы (Diptera, Chironomidae) – массовые и повсеместно распространенные в природе двукрылые насекомые, которые широко используются в качестве биоиндикаторов и тест-организмов в экотоксикологических исследованиях (Зинченко, 2005; Di Veroli et al., 2012; Corbi et al., 2019). В настоящее время опубликовано большое количество работ по исследованию тератогенного эффекта при воздействии различных токсиантов на хирономид в полевых и лабораторных условиях (Meregalli et al., 2000; Martinez et al., 2003; Di Veroli et al., 2014). Патоморфологические изменения структур ротового аппарата личинок хирономид возникают в условиях загрязнения среды обитания тяжелыми металлами и токсическими органическими соединениями (Bhattacharyay et al., 2006; MacDonald, Taylor, 2006; Al-Shami et al., 2010; Deliberalli et al., 2018). В водоемах, загрязненных Zn, Cu, Ni, Cr, As, Mo, Co, у личинок хирономид

Сокращения: ДО – донные отложения; ЗВ – загрязняющие вещества; ПХБ – полихлорированные бифенилы; 3-ХБ, 4-ХБ – низкохлорированные и 5-ХБ, 6-ХБ – высокохлорированные конгенеры ПХБ; РЗЭ – редкоземельные элементы; СОЗ – стойкие органические загрязняющие вещества; ISAD – индекс тяжести антеннальной деформации (Index of Severity of Antennal Deformation); ISMMD – индекс тяжести сильнохитинизированных структур (Index of Severity of Mandibular and Mentum Deformations).

рода *Chironomus* встречались тяжелые деформации зубцов ментума и мандибул (Janssens de Bisthoven et al., 1998), в загрязненных ртутью – деформации антенн (Di Veroli et al., 2014).

Экспериментально доказано, что ЗВ органической природы – хлорорганические пестициды (Madden et al., 1992), сырая нефть (Cushman, 1984), ксилол (Janssens de Bisthoven et al., 1997), мевинфос (Гребенюк, Томилина, 2006) – оказывают тератогенное действие на личинок хирономид. Обнаружена связь между дефектами антенн и концентрацией дихлордифенилдихлорэтана (Hamillton, Saether, 1971).

Возникновение и тяжесть мальформаций структур ротового аппарата личинок хирономид можно использовать для оценки воздействия ЗВ на пресноводные экосистемы. Водоем считается чистым, если доля личинок хирономид с аномалиями изменяется от 3–5 (Warwick, 1985) до 8–10% (Wiederholm, 1984). В популяции *Chironomus riparius* Meigen, 1804 при разведении в лабораторной культуре, доля деформированных личинок выше, чем в природных популяциях, и может достигать 10–14% (Гребенюк, Томилина, 2006).

Цель работы – изучить связь токсичности донных отложений Рыбинского водохранилища с возникновением морфологических деформаций структур ротового аппарата личинок хирономид.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на личинках комара-звонца *Ch. riparius* Meigen, 1804, культивируемых в лаборатории на незагрязненном грунте (фоновым контролем служили ДО устья р. Сутка, притока Рыбинского водохранилища) и отстоянной артезианской воде. Личинок хирономид первой стадии на следующие сутки после вылупления в количестве 30 шт. помещали индивидуально в чашки Петри с ДО (Ingersoll, Nelson, 1990). Продолжительность эксперимента ~20 сут (до достижения 80% личинок стадии IV возраста). Животных в ходе опытов кормили суспензией кормовых дрожжей из расчета 0.25 мг/личинку, корм добавляли в ДО по мере выедания.

Исследовали три группы структур ротового аппарата: сильнохитинизированные (ментум, мандибулы), комплекс верхней губы (премандибулы, эпифарингс, верхнегубной гребень) и антенны (Warwick, 1985). Деформированными считали те части ротового аппарата, в которых обнаруживали любую морфологическую аномалию. Механические повреждения в результате абразии и слова деформациями не считали (Saether, 1980). Изучение проводили на постоянных препаратах головных капсул, изготовленных по общепринятой методике с использованием жидкости Фора–Берлезе (Шилова, 1976). Препараты просматри-

вали под микроскопом “МБИ-3” (×200, ×280, ×400) и фотографировали на цифровом микроскопе “KEYENCE VHX-1000”, объектив VH-Z250R. Рассчитывали относительную численность личинок с деформациями, долю личинок с деформациями отдельных структур ротового аппарата, индексы ISAD (Warwick, 1985) и ISMMD (Warwick, 1991; Гребенюк, Томилина, 2014). Значения этих индексов у контрольных личинок находятся в пределах $0.25 \leq \text{ISAD} \leq 0.55$ и $0.03 \leq \text{ISMMD} \leq 0.20$ (Гребенюк, Томилина, 2014).

Для сравнения доли деформированных личинок в природных популяциях и при биотестировании ДО в лабораторных условиях на некоторых станциях однократно отбирали пробы бентоса, из которых извлекали личинок *Ch. plumosus* Linnaeus, 1758 и проводили биотестирование этих же проб с использованием личинок *Ch. riparius*.

Общее количество исследованных личинок *Ch. riparius* 2200 экз. (Волжский плес – 133, Главный – 1408, Шекснинский – 545, Моложский – 144), *Ch. plumosus* – 154 (Волжский плес – 16, Главный – 105, Шекснинский – 33).

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ($x \pm \text{SE}$). Статистическую значимость различий оценивали методом дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при $p = 0.05$ (Sokal, Rohlf, 1995). Если значения параметров не имели нормального распределения (Shapiro–Wilktest), использовали непараметрический коэффициент Спирмена ($r_s, p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При биотестировании ДО Рыбинского водохранилища доля личинок хирономид с патоморфологическими изменениями структур ротового аппарата за период наблюдений в среднем достигала 27.8%, что значительно выше установленных контрольных (табл. 1) и фоновых значений, указанных в работе (Warwick, 1985). Максимальная доля личинок с мальформациями отмечена при биотестировании ДО Моложского плеса (представленных одной станцией Противье), отобранных в 2008 г. – 52.5 ± 9.6 , в остальные годы – 20.5–23.8%. Достоверных различий среднего количества личинок с деформациями между годами и плесами не зарегистрировано. В среднем доля личинок хирономид с патоморфологическими нарушениями по плесам за весь период наблюдений была: для Моложского плеса – 29.4 (без учета данных 2008 г. – 21.7), Центрального – 24.6, Волжского – 24.0, Шекснинского – 26.2 (контроль – 6.7%).

Изменения регистрировали для всех структур ротового аппарата личинок хирономид. Большая часть деформаций приходилась на антенны (29.6–71.1%) (табл. 1). Аномальные отклонения в

Таблица 1. Средние значения морфологических показателей личинок *Chironomus riparius* при биотестировании донных отложений Рыбинского водохранилища за период 2006–2013 гг.

Плес (число станций)	Доля личинок с деформациями общего числа личинок, %	Доля деформированных структур общего количества деформаций, %			Доля личинок IV возраста общего числа личинок, %
		ментум, мандибулы	комплекс верхней губы	антенны	
2006 г.					
Центральный (3)	15.9 ± 3.7	28.3 ± 10.8	20.2 ± 5.7	29.6 ± 14.8	—
Шекснинский (3)	30.6 ± 5.6	40.6 ± 3.5	18.4 ± 6.4	41.1 ± 3.5	—
Контроль	6.6 ± 0.1	10.6 ± 0.6	20.6 ± 9.3	68.9 ± 8.9	—
2008 г.					
Моложский (1)	52.5 ± 9.6	12.2 ± 8.6	20.3 ± 1.5	67.5 ± 7.1	100 ± 0
Центральный (11)	37.45 ± 2.39	4.8 ± 1.05	25.3 ± 1.62	71.1 ± 1.6	99.2 ± 0.40
Волжский (2)	33.9 ± 9.2	1.3 ± 1.25	26.75 ± 2.15	69.4 ± 1.7	100 ± 0
Шекснинский (4)	32.28 ± 2.81	5.9 ± 0.42	28.25 ± 3.16	65.9 ± 3.5	94.5 ± 2.27
Контроль	8.3 ± 0.9	7.0 ± 2.5	51.0 ± 8.1	42.0 ± 5.6	100 ± 0
2010 г.					
Моложский (1)	20.5 ± 12.8	3.2 ± 3.2	40.2 ± 1.2	56.7 ± 2.0	100 ± 0
Центральный (7)	23.2 ± 1.5	7.3 ± 1.1	37.7 ± 1.6	55.0 ± 1.1	98.6 ± 1.56
Волжский (3)	20.7 ± 8.8	9.3 ± 9.3	43.6 ± 8.0	47.2 ± 4.1	100 ± 0
Шекснинский (5)	28.6 ± 3.5	10.1 ± 2.9	34.7 ± 0.8	55.2 ± 3.1	86.8 ± 6.20
Контроль	4.8 ± 4.8	3.0 ± 3.0	48.4 ± 4.6	48.8 ± 7.6	100 ± 0
2012 г.					
Моложский (1)	20.8 ± 7.8	10.0 ± 3.2	41.5 ± 0.6	48.5 ± 3.8	100 ± 0
Центральный (7)	20.2 ± 2.8	7.6 ± 1.2	36.1 ± 1.7	56.3 ± 1.5	99.5 ± 0.37
Волжский (1)	17.5 ± 1.4	11.0 ± 1.0	41.0 ± 1.0	48.0 ± 2.0	100 ± 0
Шекснинский (2)	15.8 ± 1.7	6.6 ± 1.5	41.3 ± 1.1	52.2 ± 2.5	100 ± 0
Контроль	7.0 ± 0.7	2.7 ± 2.7	19.7 ± 3.9	77.8 ± 1.3	100 ± 0
2013 г.					
Моложский (2)	23.8 ± 4.3	14.9 ± 5.2	26.8 ± 5.1	58.5 ± 0.1	96.9 ± 1.01
Центральный (4)	26.4 ± 1.3	13.4 ± 2.2	28.8 ± 2.7	57.9 ± 1.0	95.9 ± 1.79
Шекснинский (3)	23.9 ± 7.3	9.8 ± 1.9	29.3 ± 3.2	60.9 ± 3.5	97.5 ± 0.15
Контроль	6.7 ± 1.7	7.8 ± 2.2	13.8 ± 3.0	78.9 ± 1.1	100 ± 0

Примечание. Выделены достоверные различия (при $p = 0.05$), “—” — данные отсутствуют.

строении жестких структур, мандибул и ментума, встречались постоянно за весь период наблюдений, хотя и не достигали высокого количественного уровня (3.2–14.9%). Исключение составили исследования 2006 г., когда мальформации ментума и мандибул при биотестировании ДО Центрального плеса достигали 28.3, Шекснинского — 40.6% (табл. 1). В ряде случаев относительная численность личинок с деформациями сильнохитинизированных структур равнялась или превышала таковую с деформациями антенн. Патоморфологические нарушения в строении структур комплекса верхней губы варьировали от 18.4 до 41.5% (табл. 1).

Доля личинок хирономид, достигших IV возраста за время эксперимента, достоверно не отличалась от контрольных значений, хотя в отдельных случаях была <100% (табл. 1).

Значения ISAD для всех плесов в 2008 и 2010 гг. достоверно превышали в 3–8 раз таковые в контроле, не различаясь между собой (рис. 1а). Максимальное значение 4.8 ± 0.1 зафиксировано для Моложского плеса в 2008 г., в контроле — 0.6 ± 0.1 . Начиная с 2008 г., наблюдается тенденция снижения ISAD для всех плесов, за исключением Шекснинского.

Величины ISMMD, биологического показателя загрязнения ДО органическими веществами, для Шекснинского плеса в 2006 и 2010, Моложского в 2008 и Центрального в 2013 гг. достоверно превышали в 6.5–8 раз таковые контрольных значений (рис. 1б).

При анализе патоморфологических отклонений в строении ментума зафиксированы все типы деформаций: срединные (аномалии в строении срединного трехраздельного зубца), латеральные (уродливые боковые зубцы), смешанные (в той

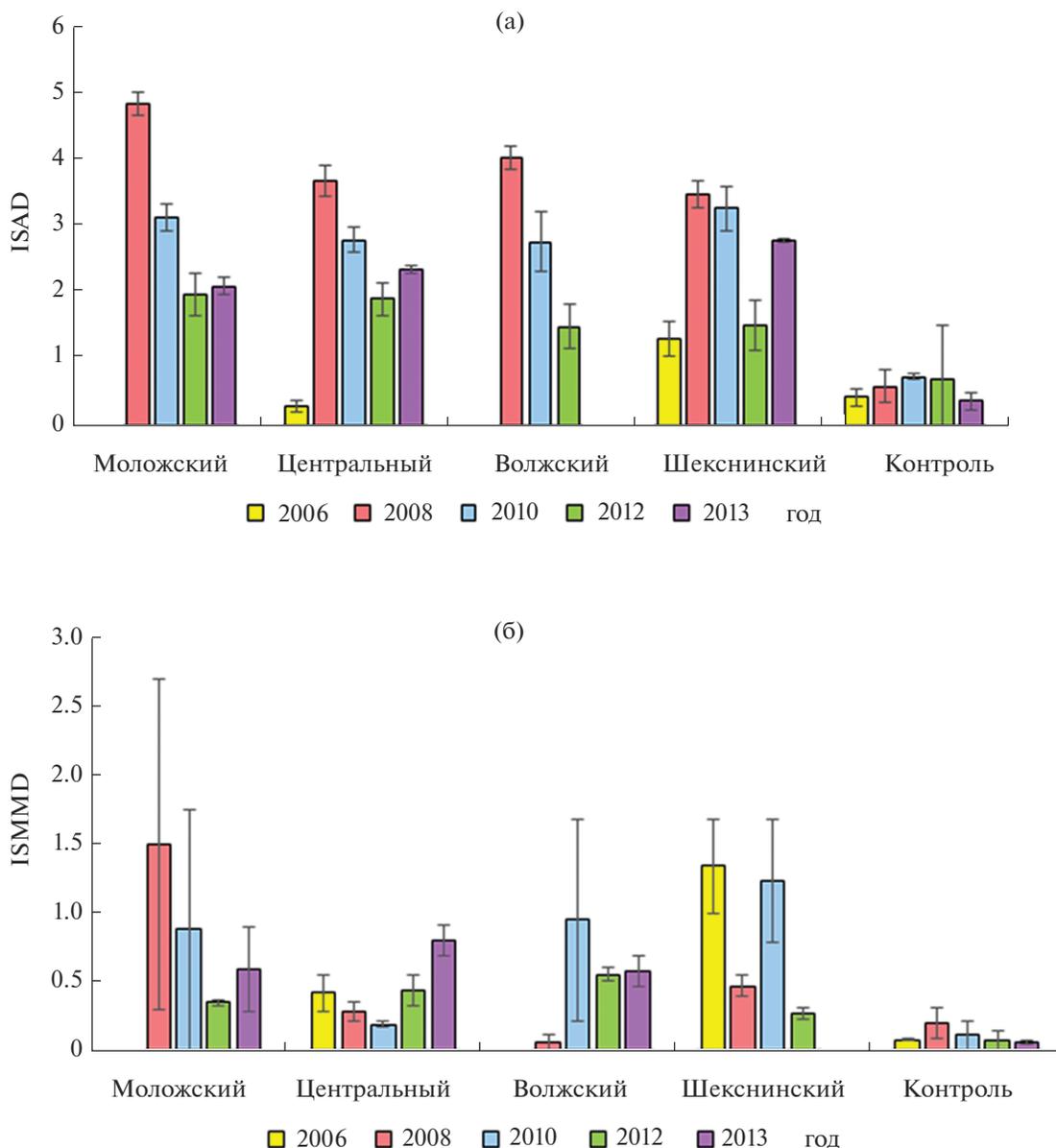


Рис. 1. Долговременные изменения ISAD (а) и ISMMD (б) *Chironomus riparius* в различных плесах Рыбинского водохранилища.

или иной степени деформированы срединный и латеральные зубцы) (рис. 2). Среди латеральных деформаций отмечены раздвоенный первый латеральный зубец (рис. 2в), дополнительный зубчик между четвертым и пятым латеральными зубцами (рис. 2д). Среди смешанных деформаций наблюдали число латеральных зубцов меньше обычного: отсутствовал первый латеральный слева и дополнительный зубец основного, имелась выемка с депигментированным основанием (рис. 2г). Неоднократно отмечали глубокую выемку между дополнительным и первым латеральными зубцами (рис. 2б).

Уродства мандибулы представлены большим разнообразием (рис. 3): увеличение (рис. 3б) или уменьшение числа зубцов (рис. 3в, 3г, 3е), частичная их депигментация, выемка на месте редуцированного зубца (рис. 3в, 3е), искривление дорсальной части от незначительного до очень сильного (рис. 3д).

Деформации комплекса верхней губы представлены отклонениями в строении его элементов: сокращение, увеличение или частичное слияние зубцов эпифаринкса, аномальные формы многочисленных щетинок, составляющих вооружение верхней губы. Многочисленные морфологические отклонения отмечены и в строении ан-

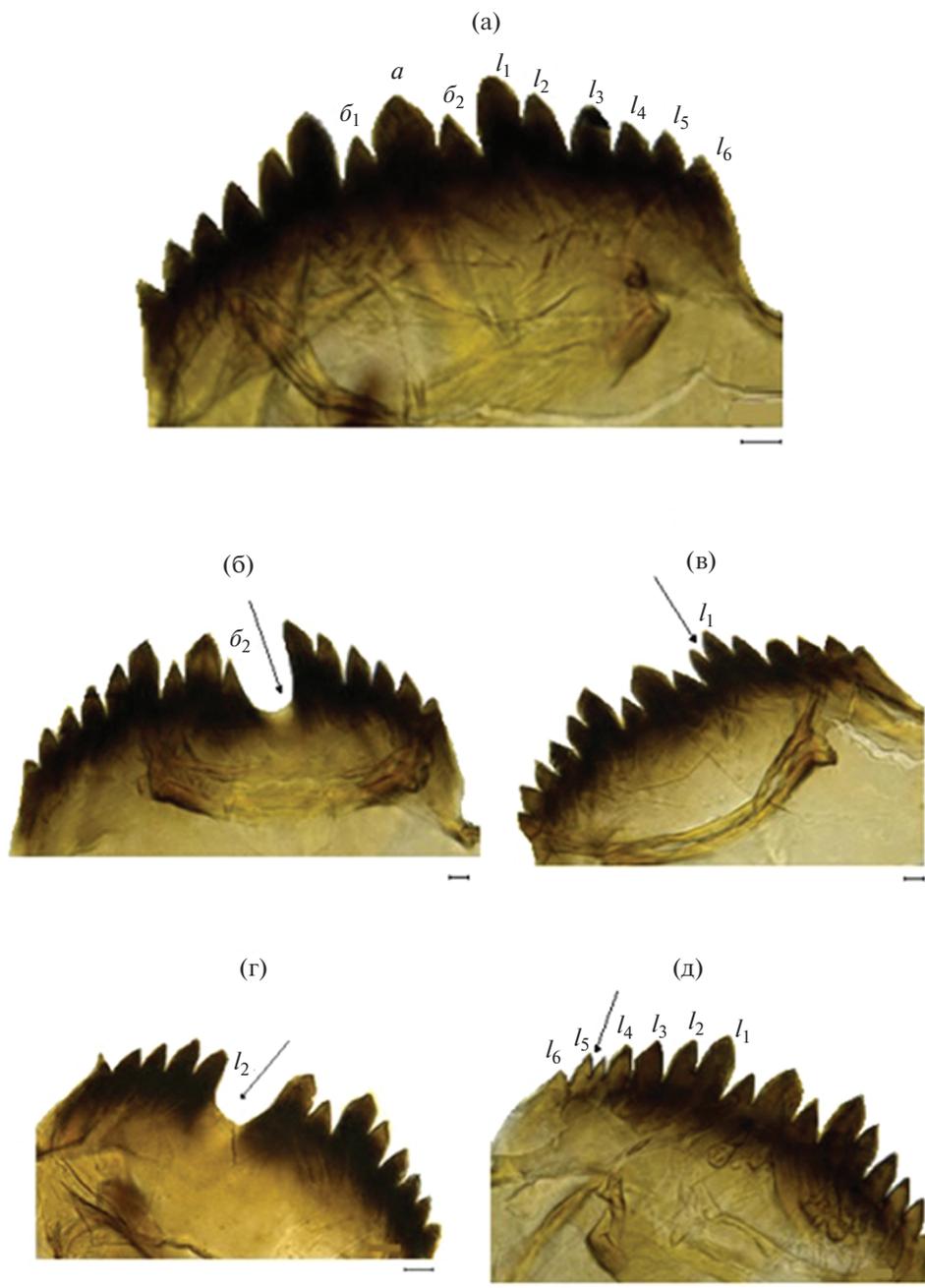


Рис. 2. Ментум личинок *Chironomus riparius*: а – нормальное строение, б–д – деформации ментума: а – основной зубец срединного трехзубчатого зубца, б₁, б₂ – добавочные; l₁–l₆ – латеральные (боковые) зубцы. Масштаб 1 мкм. Здесь и на рис. 3, рис. 4 стрелками указаны выявленные нарушения.

тени. На участке между II и III члениками, где расположен комплекс чувствительных сенсилл, чаще всего наблюдали их смещение, изменение формы, увеличение или уменьшение в размерах. Сами членики антенны были подвержены разнообразным изменениям.

Виды деформаций, встречаемые при биотестировании ДО Рыбинского водохранилища на *Ch. riparius*, отмечены и у личинок *Ch. plumosus* из

природных популяций в местах отбора проб. Относительная численность личинок *Ch. plumosus* с деформациями колебалась от 30 до 67% (в среднем 57.5%) (табл. 2) и была выше таковой *Ch. riparius*, зарегистрированной при биотестировании ДО на этих же станциях. Доля личинок с деформациями сильнохитинизированных структур *Ch. plumosus* в 5.4 раза превышала таковую у *Ch. riparius*. Значения ISAD были выше для *Ch. riparius*,

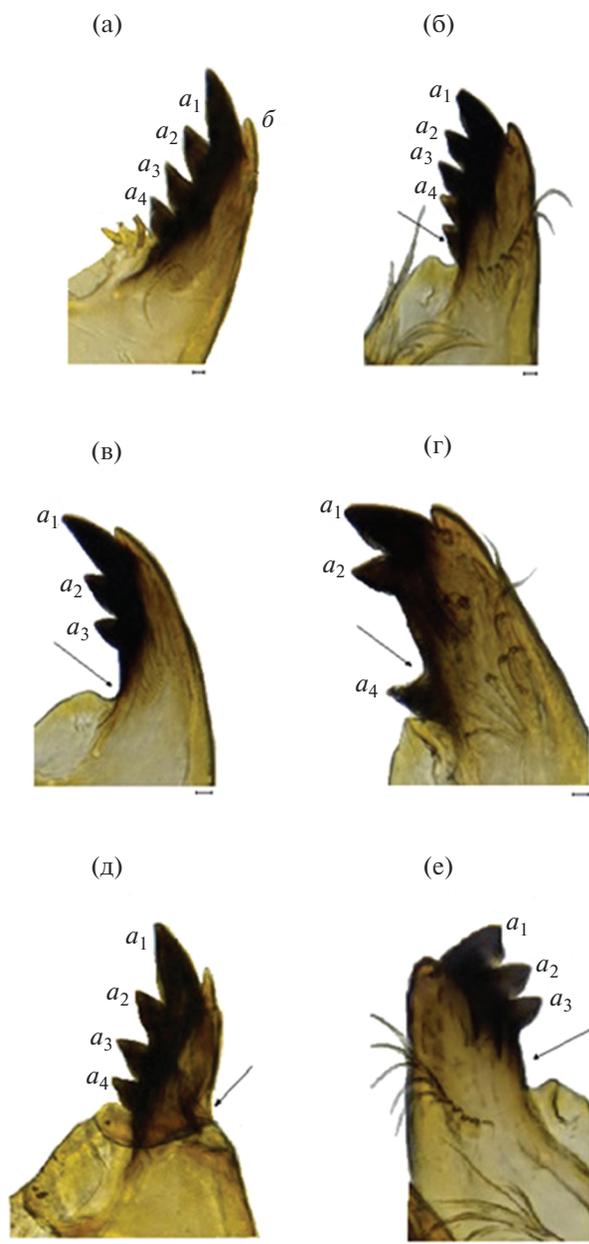


Рис. 3. Мандибулы личинок *Chironomus riparius*: а – нормальное строение, б–е – деформированные мандибулы; а₁–а₄ – нижние (наружные) пигментированные зубцы, б – верхние (внутренние) непигментированные зубцы.

за исключением станции Мякса Шеснинского плеса, ISMMD – *Ch. plumosus* (в среднем в 1.7 раза) (табл. 2).

У личинок *Ch. plumosus* представлены все типы деформаций ментума: срединные (аномалии в строении срединного трехраздельного зубца) (рис. 4а), латеральные (уродливые боковые зубцы), смешанные (в той или иной степени деформированы срединный и латеральные зубцы). Имело

место и раздвоение основного зубца (рис. 4б). Наиболее часто встречаемые отклонения в строении мандибул – это прогиб дорсальной части мандибулы.

Неоднократно отмечены случаи аномального строения двух жестких структур одновременно у одной личинки (рис. 4в).

Кроме морфологических деформаций обнаружены и другие нарушения нормальной структуры головной капсулы личинок *Ch. riparius* и *Ch. plumosus* – нарушения пигментации.

Результаты корреляционного анализа показали, что повышение концентрации в ДО Cr, Ni, Cu, Zn, Pb, Mo и Cd влияли на возникновение мальформаций структур ротового аппарата личинок хирономид (табл. 3). Количество деформированных сильнохитинизированных структур (ментума и мандибул) зависело от присутствия в ДО низкохлорированных (3-ХБ, 4-ХБ) и высокохлорированных (5-ХБ, 6-ХБ) конгенов ПХБ. Отмечено, что содержание РЗЭ в ДО влияло на прохождение метаморфоза личинками хирономид, т.е. доля личинок, достигших IV возраста, зависела от концентрации РЗЭ в ДО (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Морфологические деформации структур ротового аппарата, особенно ментума, личинок сем. Chironomidae считаются индикаторами раннего предупреждения ухудшения состояния ДО (Janssens de Bisthoven, 1992; Ochieng et al., 2008). Оценка фонового уровня деформаций сложный процесс и трудно установить градацию между “легким” и “тяжелым (серьезным)” токсическим эффектом. Для анализа уровня загрязнения проб разработаны пороговые значения количества деформаций (от общего количества обследованных личинок): критерий 1 – >8%, критерий 2 – >16%, критерий 3 – >32%, соответствующие хорошему, удовлетворительному и неблагоприятному состоянию популяции хирономид (Deckere et al., 2000). Согласно этим критериям пробы ДО, отобранные в 2008 г. на всех плесах, следует отнести к сильнозагрязненным (табл. 1). В остальные даты наблюдений исследованные ДО по количеству морфологических деформаций структур ротового аппарата личинок хирономид относились к относительно загрязненным.

Частота встречаемости деформаций антенн, как правило, выше, чем ментума и мандибул. В настоящем исследовании на деформированные антенны приходилось 29.6–71.1% общего числа деформаций, ментум и мандибулы – 1.3–40.6% (табл. 1). Возможно, такие сенсорные структуры, как антенны, начиная с определенных концентраций токсических веществ, перестают на них реагировать, и деформации начинают проявляться на более жестких морфологических структурах (Bhattacharyay et al., 2006; Vermeulen et al., 2000).

Таблица 2. Относительная численность личинок рода *Chironomus* с деформациями в природных и экспериментальных популяциях (2008 г.)

Станция	Природная популяция (<i>Ch. plumosus</i>) <i>n</i> = 154				Экспериментальная популяция (<i>Ch. riparius</i>) <i>n</i> = 292			
	доля личинок с деформациями общего числа личинок, %	доля личинок с деформациями сильнохитинизированных структур (ментум, мандибулы) общего числа личинок с деформациями, %	ISAD	ISMMD	доля личинок с деформациями общего числа личинок, %	доля личинок с деформациями сильнохитинизированных структур (ментум, мандибулы) общего числа личинок с деформациями, %	ISAD	ISMMD
Центральный плес								
Волково	41.3	57.1	2.02	0.78	37.7 ± 10.7	15.4 ± 5.4	3.38 ± 0.2	0.21 ± 0.2
Миллюшино	66.7	100.0	2.00	2.67	37.0 ± 4.9	5.5 ± 5.5	3.93 ± 0.1	0.04 ± 0.04
Устье р. Согожа	57.1	31.3	2.93	0.93	41.1 ± 1.8	42.1 ± 11.3	3.04 ± 0.6	0.80 ± 0.2
Ягорба	55.6	60.0	3.03	2.44	41.3 ± 4.3	11.7 ± 1.7	3.02 ± 0.9	0.27 ± 0.0
Брейтово	61.1	45.5	2.28	1.22	40.4 ± 16.0	19.2 ± 8.1	3.51 ± 1.2	0.34 ± 0.3
Молога	30.0	33.3	2.86	0.40	49.3 ± 2.4	6.3 ± 6.3	4.64 ± 0.2	0.24 ± 0.2
Среднее	52.0 ± 5.6	54.5 ± 10.3	2.5 ± 0.2	1.4 ± 0.4	41.1 ± 1.8	16.7 ± 5.5	3.6 ± 0.3	0.3 ± 0.1
Волжский плес								
Щумаровские о-ва	66.7	100.0	3.17	1.33	24.7 ± 1.6	0	3.35 ± 0.2	0
Шекнинский плес								
Мякса	53.8	57.1	4.38	2.46	29.5 ± 5.2	22.2 ± 0	3.06 ± 0.3	0.24 ± 0.09

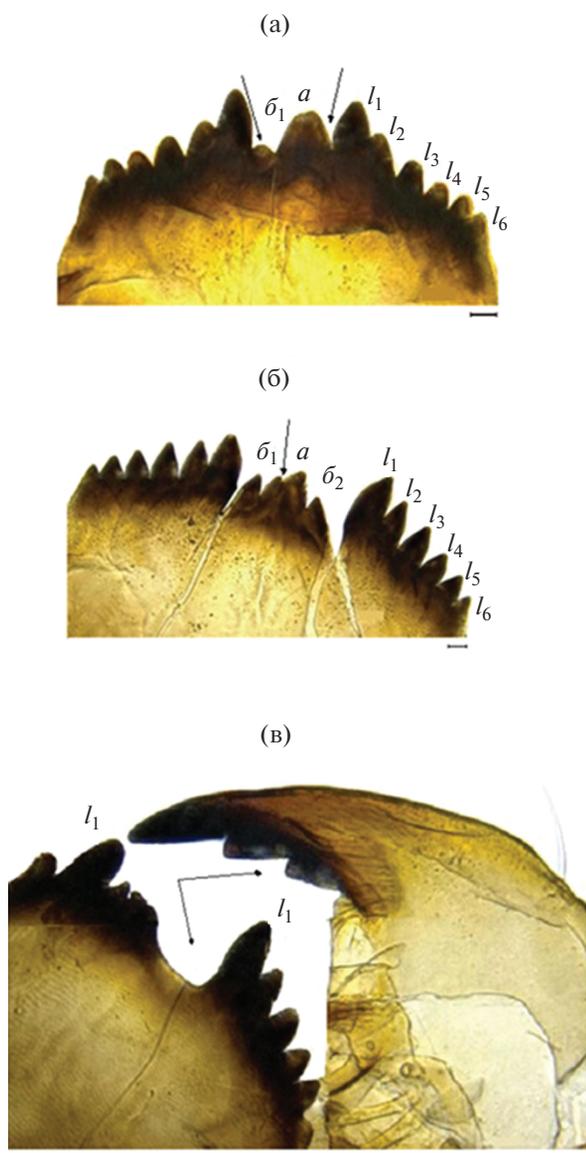


Рис. 4. Деформированные ментум и мандибулы личинок *Chironomus plumosus*: а, б – деформации ментума, в – аномальное строение ментума и мандибул у одной личинки: а – основной зубец срединного трехзубчатого зубца, b_1 , b_2 – добавочные; l_1 – l_6 – латеральные (боковые) зубцы.

При высоких концентрациях токсикантов число деформированных антенн не увеличивается, а число деформаций ментума и мандибул – возрастает (Odume et al., 2012).

Преобладание деформированных антенн в общем количестве аномальных структур ротового аппарата личинок и высокие значения ISAD, зарегистрированные нами, могут служить основанием для предположения, что тяжелые металлы влияют на наблюдаемый тератогенный эффект. Косвенное подтверждение этого – корреляционные зависимости доли деформированных личинок

от содержания тяжелых металлов в ДО (табл. 3). Почти все металлы, с которыми установлены корреляционные связи (за исключением кадмия, его биологическая роль на настоящий момент неясна), активно участвуют в биологических процессах, входят в состав многих ферментов и в микрочислах необходимы для организма. Однако в концентрациях, превышающих предельно-допустимые, они становятся биологически опасными. В экотоксикологическом отношении требуют внимания металлы, максимально загрязняющие водоемы ввиду значительного использования в производственной деятельности и опасные вследствие их биологической активности и токсических свойств. Ранее отмечено, что ДО водохранилища не отвечают стандартам, принятым в европейских странах. Зарегистрировано превышение нормативных концентраций по Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn. Максимальная кратность превышения отмечена для Cd – 5.8, Cu – 2.2, Cr – 1.94, Pb – 1.4 и Zn – 3.6 раз (Томилина и др., 2018).

Доля деформированных сильнохитинизированных структур зависела от содержания в ДО различных конгенов ПХБ (табл. 3). Рыбинское водохранилище активно подвергается постоянному антропогенному химическому загрязнению стойкими органическими веществами за счет водного транспорта, диффузного склонового стока с прилегающих сельскохозяйственных территорий, поступления коммунально-промышленных сточных вод из находящихся на его побережье населенных пунктов и атмосферных выпадений (Chuiiko et al., 2010). Наиболее высокие уровни загрязнения наблюдаются в Шекснинском плесе в черте г. Череповец, в остальной части водохранилища они находятся в фоновых количествах. Среди СОЗ количественно преобладают ПХБ (Чуйко, Подгорная, 2018). СОЗ аккумулируются в организмах гидробионтов в более высоких концентрациях, чем ионы тяжелых металлов, накоплению которых препятствуют различные адаптивные биохимические механизмы, переводящие их в неактивную форму (Canfield et al., 1999). Можно предположить, что и негативное действие СОЗ будет более сильным, что приводит к патоморфологическим изменениям “устойчивых” жестких структур ротового аппарата личинок. Подтверждением этому служит увеличение уродств ментума и мандибул при биотестировании грунтов природных водоемов, подвергающихся длительному действию промышленных и сельскохозяйственных стоков, в настоящем исследовании и ранее (Томилина и др., 2011) и в экспериментах с дозированным внесением органических токсикантов (Гребенюк, Томилина, 2006). Зависимость индекса ISMMD (показателя, отражающего уровень воздействия органических загрязняющих веществ на личинок хирономид) от содержания конгенов ПХБ подтверждает данное заключение. Органические ЗВ (хлор- и фосфорсодержащие) сильнее неорганических действуют на морфогенез животных, приводя к аномальным из-

Таблица 3. Корреляции между морфологическими параметрами *Chironomus riparius* и концентрациями химических элементов в донных отложениях Рыбинского водохранилища*

Параметр	Химический элемент (коэффициент корреляции по Спирмену при $p < 0.5$)
Доля личинок с деформациями, %	Cr (–0.485), Ni (–0.511), Cu (–0.566), Zn (–0.573), Sr (–0.557), Mo (–0.570), Cd (–0.563), Pb (–0.522)
Доля деформированных сильнохитинизированных структур (ментум, мандибулы) общего числа деформаций ISAD	3-ХБ (0.588), 4-ХБ (0.596), 5-ХБ (0.611), 6-ХБ (0.427), Ce (–0.403)
ISMMD	Ge (–0.609)
Доля личинок IV возраста, %	3-ХБ (0.394), 4-ХБ (0.520), 5-ХБ (0.571), 6-ХБ (0.497), Ce (–0.394), U (–0.379)
	Mn (0.537), Sm (0.388), Eu (0.396), Gd (0.380), Dy (0.406), Ho (0.387)

* По (Томила и др., 2018; Чуйко и др., 2010).

менениям “устойчивых” сильнохитинизированных структур и вызывая необычные формы патоморфологических отклонений.

Присутствие РЗЭ в воде и ДО влияет на изменение биологических параметров гидробионтов: стимуляция и ингибирование роста тест-организмов, стабилизация и дестабилизация цитоскелета, изменение антиоксидантной активности, блокировка нервной передачи и т.д. (Баренбойм и др., 2014). Корреляционная связь изменения линейных размеров личинок хирономид от содержания РЗЭ в донных отложениях косвенно свидетельствует об этом (Томила и др., 2021). Доказана связь хромосомных aberrаций у *Allium cepa* L., 1753 и частота доминантных летальных мутаций (генных, хромосомных и геномных) у *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 при действии ДО, загрязненных РЗЭ (Соловых и др., 2012). Один из основных факторов, определяющих экологическую опасность РЗЭ – их биодоступность. Механизм поглощения лантана и некоторых других РЗЭ в биологических системах сходен с таковым для кальция, что может приводить к нарушению нормального течения процесса линьки гидробионтов (Das et al., 1988). Корреляционная связь доли личинок IV возраста от содержания РЗЭ в ДО может служить подтверждением этого (табл. 3).

При сравнении доли деформированных личинок в природных популяциях и при биотестировании ДО в лабораторных условиях установлено, что относительная численность личинок с деформациями в природных популяциях выше в 1.3–2.7 раз (табл. 2). Доля личинок с деформациями сильнохитинизированных структур *Chironomus plumosus* превышает таковую у *Ch. riparius* в 5.4 раза. Это можно объяснить несколькими причинами.

У популяций хирономид, длительно живущих в условиях антропогенного загрязнения, мальформации могут накапливаться. Выявлена связь между концентрацией кадмия и частотой возникновения аномалий структур ротового аппарата при его воздействии на яйца и личинок *Ch. ripari-*

us на протяжении 7–10 поколений. При этом частота появления деформаций ментума возрастала в последних четырех поколениях и коррелировала с уровнем смертности личинок (Janssens de Bisthoven et al., 1992). В эксперименте отмечена более высокая частота встречаемости деформаций зубцов в седьмом–девятом поколениях личинок *Ch. riparius* при действии 9 мкг Cd/л (Janssens de Bisthoven et al., 2001).

Несмотря на то, что случаи возникновения деформаций среди родов подсемейства Chironomidae встречаются чаще, чем в других подсемействах (Bhattacharya et al., 2006; Ochieng et al., 2008), сравнительные исследования по чувствительности различных видов хирономид к воздействию загрязняющих веществ немногочисленны. Показано, что токсичность может варьировать в зависимости от выбора тестируемых видов и характера загрязняющего вещества. Так, LC₅₀₋₄₈ кадмия для личинок *Ch. riparius* составила 2.62 мкг/л, для *Ch. tentans* Fabricius, 1805 – 9.34 мкг/л. При увеличении экспозиции до 240 ч значения выравнивались – 0.70 и 0.74 мкг/л соответственно (Watts, Pascoe, 2000). В сравнительных исследованиях по влиянию загрязненных нефтепродуктами ДО установлено, что наибольшую устойчивость к их действию проявили личинки *Ch. riparius*. По мере уменьшения чувствительности используемые в эксперименте виды хирономид располагались в следующем порядке: *Ch. plumosus* > *Ch. riparius* > *Ch. dorsalis* Meigen, 1818 (Томила и др., 2003).

Тем не менее, патоморфологические отклонения в строении ротовых структур личинок этого рода тождественны. Личинки рода *Chironomus* имеют единый план строения и очень сходную морфологию. Все это дает основания экстраполировать полученные количественные показатели по деформациям жестких структур *Ch. riparius* на личинок всего рода.

Искусственно вызванные деформации чаще всего слабее и количество их меньше, чем в при-

родных популяциях из загрязненных мест (Janssens de Bisthoven et al., 1992). При этом высокий уровень смертности в большинстве экспериментов по индукции мальформаций показывает, что это нельзя объяснить снижением биодоступности ЗВ для тест-объектов (Назарова, 2002).

Важную роль в индукции деформаций может играть комбинация физических, химических и биологических параметров среды (Dickman et al., 1992). Возможно, факторы, непосредственно не связанные с загрязнением (тип донных отложений, хищничество, конкуренция за пищевые ресурсы), также могут влиять на возникновение мальформаций (Bird et al., 2011). Отмечены высокие корреляции между случаями возникновения деформаций ментума и концентрациями растворенного кислорода и неорганического азота, электропроводностью и мутностью (Servia et al., 2000).

Время отбора проб также может влиять на общую картину частоты обнаружения деформаций. Если пробы отбирали после вылета хирономид, количественная оценка популяции может быть занижена. Оставшиеся особи могут представлять физиологически ослабленных членов популяции с замедленным метаморфозом, или тех, которые не способны его завершить (Назарова, 2002).

Механизм возникновения деформаций структур ротового аппарата личинок хирономид при загрязнении ДО изучен недостаточно. По некоторым данным, патоморфологические изменения структур, вероятно, являются следствием взаимодействия разрушающих эндокринную систему химических веществ, с гормонами, структурно связанными с эстрогеном, такими как экдизон. Экдизоны – гормоны, относящиеся к группе стероидов, стимулирующие линьку и метаморфоз членистоногих (He et al., 2010). Следовательно, “измененный” экдизон может влиять на процессы линьки в развитии личинок, и вызывать мальформации у хирономид (Vermeulen et al., 2000).

Тест-организмы подвергаются воздействию широкого спектра химических загрязнений в водной среде. Возможно, слишком упрощенно было бы приписывать влияние на возникновение мальформаций той или иной группе химических веществ, поскольку загрязняющие вещества находятся в природной среде не только в чистом состоянии, но и в побочных продуктах их деградации, синергетических и антагонистических процессов (Warwick, 1991). Тем не менее, морфологические деформации структур ротового аппарата личинок хирономид являются специфическим ответом на различные загрязняющие вещества и могут служить показателем для оценки степени тяжести и характера антропогенного воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально подтверждено тератогенное действие ДО Рыбинского водохранилища на

возникновение патоморфологических изменений структур ротового аппарата личинок *Chironomus riparius*. Максимальная доля личинок с мальформациями отмечена при биотестировании ДО Моложского плеса, отобранных в 2008 г. – $52.5 \pm 9.6\%$. В среднем доля личинок хирономид с патоморфологическими нарушениями по плесам за весь период наблюдений была для Моложского плеса – 29.4, Центрального – 24.6, Волжского – 24.0, Шекснинского – 26.2 (контроль – 6.7%).

Изменения регистрировали для всех структур ротового аппарата личинок хирономид. Большая часть деформаций приходилась на антенны (29.6–71.1%). Наиболее часто встречаемые отклонения в строении мандибул – это прогиб дорсальной части мандибулы, в строении ментума – срединные и латеральные деформации, в строении антенн – деформации в области “жгута” антенны (II–V члеников).

При невозможности измерить аналитическими методами содержание всех химических веществ, аккумулированных в ДО, количество деформаций ротового аппарата личинок хирономид может свидетельствовать о потенциальной опасности загрязнения ДО и тератогенного эффекта при проведении мониторинга экологического состояния пресноводных экосистем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственных заданий № 121050500046-8 и 121051100109-1, при частичной поддержке Программы РАН “Биоразнообразие природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баренбойм Г.М., Авандеева О.П., Коркина Д.А. 2014. Редкоземельные элементы в водных объектах (Экологические аспекты) // Вода: химия и экология. № 5. С. 42.
- Гребенюк Л.П., Томилина И.И. 2006. Изменение физиологических и морфологических показателей личинок *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) при действии токсических веществ различной природы // Биол. внутр. вод. № 3. С. 81. <https://doi.org/10.7868/S0320965214030097>
- Гребенюк Л.П., Томилина И.И. 2014. Морфологические деформации сильнохитинизированных структур ротового аппарата личинок рода *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) как показатель органического загрязнения пресных водоемов // Биол. внутр. вод. № 3. С. 79.

- Зинченко Т.Д. 2005. Биоиндикация как поиск информативных компонентов водных экосистем (на примере хирономид – Diptera, Chironomidae) // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. Вып. 3. С. 338.
- Назарова Л.Б. 2002. Морфологические деформации комаров-звонцов Diptera, Chironomidae в связи с загрязнением водоемов // Успехи соврем. биол. Т. 122. № 5. С. 516–523.
- Соловых Г.Н., Голинская Л.В., Кануникова Е.А. 2012. Редкоземельные металлы как один из факторов мутагенности // Гигиена и санитария. № 3. С. 23.
- Томилиная И.И., Гребенюк Л.П., Чуйко Г.М. 2011. Токсикологическая и тератогенная оценка донных отложений Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. № 3. С. 78.
- Томилиная И.И., Ганеева М.В., Ложкина Р.А. 2018. Эко-токсикологическая оценка качества воды и донных отложений // Структура и функционирование экосистемы Рыбинского водохранилища в начале XXI века. Москва: РАН. С. 371. <https://doi.org/10.31857/S9785907036185000001>
- Томилиная И.И., Ложкина Р.А., Ганеева М.В. 2021. Токсичность донных отложений Рыбинского водохранилища по многолетним данным биотестирования. Сообщение 1. Токсикологические исследования // Биол. внутр. вод. № 6. С. 640–650. <https://doi.org/10.31857/S0320965221060188>
- Томилиная И.И., Михайлова Л.В., Гребенюк Л.П. и др. 2003. Влияние нефтепродуктов на личинок комаров рода *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) // Биол. внутр. вод. № 2. С. 100.
- Шилова А.И. 1976. Хирономиды Рыбинского водохранилища. Ленинград: Наука.
- Чуйко Г.М., Подгорная В.А. 2018. Пространственное распределение органических загрязняющих веществ в экосистеме водохранилища (ретроспективный аналитический обзор) // Структура и функционирование экосистемы Рыбинского водохранилища в начале XXI века. Москва: РАН. С. 357. <https://doi.org/10.31857/S9785907036185000001>
- Чуйко Г.М., Законнов В.В., Морозов А.А. и др. 2010. Пространственное распределение и качественный состав полхлорированных бифенилов (ПХБ) и хлорорганических пестицидов (ХОП) в донных отложениях и леще (*Abramis brama* L.) Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. № 2. С. 98.
- Al-Shami S., Rawi C.S., Nor S.A. et al. 2010. Morphological deformities in *Chironomus* spp. (Diptera: Chironomidae) larvae as a tool for impact assessment of anthropogenic and environmental stresses on three rivers in the Juru river system, Penang, Malaysia // Environmental Entomology. V. 39(1). P. 210. <https://doi.org/10.1603/EN09109>
- Bird G.A., Rosentreter M.J., Schwartz W.J. 2011. Deformities in the menta of chironomid larvae from the experimental lakes area Ontario // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 52. P. 2290. <https://doi.org/10.1139/f95-819>
- Bhattacharyay G., Sadhu A.M., Majumdar U. et al. 2006. Assessment of impact of heavy metals on the communities and morphological deformities of Chironomidae larvae in the River Damodar (India, West Bengal) // Supplementa and Acta Hydrobiologica. V. 8. P. 21.
- Canfield T.J., Kemble N.E., Brumbaugh W.G. et al. 1994. Use of benthic invertebrate community, structure and the sediment quality triad to evaluate metal-contaminated sediment in the upper Clark River, Montana // Environ. Toxicol. Chem. V. 13. № 12. P. 1999.
- Corbi J.J., Bernegossi A.C., Moura L. et al. 2019. *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) as a sensitive test species: Can we rely on its use after repeated generations, under laboratory conditions? // Bull. Environ. Contam. Toxicol. V. 103. P. 213. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02644-8>
- Cushman R.M. 1984. Chironomid deformities as indicators of pollution from a synthetic, coal-derived oil // Freshwater Biol. V. 14. P. 179.
- Das T., Sharma A., Talukder G. 1988. Effects of lanthanum in cellular systems // Biological Trace Element Research. V. 18(1). P. 201. <https://doi.org/10.1007/BF02917504>
- Deckere E., Cooman W., Florus M., Devroede-Vander Linder M.P. 2000. Characterizing the sediments of Flemish watercourses: a manual produced by TRIAD. Brussels: AMINAL-Department Water.
- Dickman M., Brindle I., Benson M. 1992. Evidence of teratogens in sediments of the Niagara River Watershed as reflected by chironomid (Diptera: Chironomidae) deformities // J. Great Lakes Res. V. 18. P. 467.
- Deliberalli W., Cansan R.L., Pereira A.A.M. et al. 2018. The effects of heavy metals on the incidence of morphological deformities in Chironomidae (Diptera) // Zoologia. V. 35. P. 1. <https://doi.org/10.3897/zoologia.35.e12947>
- Di Veroli A., Goretti E., Leon Paumen M. et al. 2012. Mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to toxicants // Environ. Pollut. V. 166. P. 212.
- Di Veroli A., Santoro F., Pallottini M. et al. 2014. Deformities of Chironomid larvae and heavy metal pollution: From laboratory to field studies // Chemosphere. V. 11. № 2. P. 9. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere>
- Janssens de Bisthoven L., Huysmans C., Goemans G. et al. 1997. Field and experimental morphological response of Chironomus larvae to xylene and toluene // Neth. J. Zool. V. 47. P. 227.
- Janssens de Bisthoven L., Postma J.F., Parren P. et al. 1998. Relations between heavy metals in aquatic sediments and in *Chironomus* larvae of Belgian lowland rivers and their morphological deformities // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 55. P. 688. <https://doi.org/10.1139/f97-265>
- Janssens de Bisthoven L.G., Timmermans K.R., Ollevier F. 1992. The concentration of cadmium, lead, copper and zinc in *Chironomus* gr. *thummi* larvae (Diptera, Chironomidae) with deformed versus normal menta // Hydrobiologia. V. 239. P. 141. <https://doi.org/10.1007/BF00007671>
- Janssens de Bisthoven L.G., Postma J.F., Vermeulen A. et al. 2001. Morphological deformities in *Chironomus riparius* Meigen larvae after exposure to cadmium over several generations // Water, Air, and Soil Pollution. V. 129. P. 167.
- Ingersoll C.G., Nelson M.K. 1990. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera) // Aquat. Toxicol. and Risk Assessment. Philadelphia: Amer. Soc. Test. and Mater. V. 13. P. 93. <https://doi.org/10.1520/STP20101S>
- Hamilton A.C., Saether O.A. 1971. The occurrence of characteristic deformities in chironomid larvae of several Canadian lakes // Can. Entomol. V. 103. P. 363.

- <https://doi.org/10.4039/Ent103363-3>
- He H., Xi G., Lu X. 2010. Molecular cloning, characterization, and expression analysis of an ecdysone receptor homolog in *Teleogryllus emma* (Orthoptera: Gryllidae) // J. Insect Sci. V. 10(188). P. 1.
<https://doi.org/10.1673/031.010.18801>
- Madden C.P., Suter P.J., Nicolson B.C., Austin A.D. 1992. Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress // Neth. J. Aquat. Ecol. V. 26. № 2–4. P. 551.
<https://doi.org/10.1007/BF02255289>
- Martinez E.A., Moore B., Schaumloffel J., Dasgupta N. 2003. Morphological abnormalities in *Chironomus tentans* exposed to cadmium and copper spiked sediments // Ecotoxicol. Environ. Safety. V. 55. P. 204.
[https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00136-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00136-7)
- Meregalli G., Vermeulen A.C., Ollevier F. 2000. The Use of Chironomid Deformation in an *in situ* Test for Sediment Toxicity // Ecotoxicol. Environ. Safety. V. 47. P. 231.
<https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1981>
- MacDonald E.E., Taylor B.R. 2006. Incidence of mentum deformities in midge larvae (Diptera: Chironomidae) from Northern Nova Scotia, Canada // Hydrobiologia. V. 563. P. 277.
<https://doi.org/10.1007/s10750-006-0012-8>
- Ochieng H., de Ruyter van Steveninck E.D., Wanda F.M. 2008. Mouthpart deformities in Chironomidae (Diptera) as indicators of heavy metal pollution in northern Lake Victoria, Uganda // Afr. J. Aquat. Sci. № 33(2). P. 135.
<https://doi.org/10.2989/AJAS.2008.33.2.4.501>
- Odume O.N., Muller W.J., Palmer C.G., Arimoro F.O. 2012. Mentum deformities in Chironomidae communities as indicators of anthropogenic impacts in Swartkops River // Physics and Chemistry of the Earth. V. 50–52. P. 140.
<https://doi.org/10.1016/j.pce.2012.08.005>
- Saether O.A. 1980. Glossary of chironomid morphology terminology (Diptera: Chironomidae) // Entomol. Scand. Suppl. № 14. P. 1.
- Servia M., Coba F., Gonzalez M.A. 2000. Seasonal and inter annual variation in the frequency and severity of deformities in larvae of *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) and *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) collected in polluted site // Environ. Monit. Assess. V. 64. № 3. P. 617.
<https://doi.org/10.1023/A:1006333808107>
- Sokal R.R., Rohlf F.J. 1995. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. New York: W.H. Freeman and Co.
- Vermeulen A.C., Liberloo G., Dumont P. et al. 2000. Exposure of *Chironomus riparius* larvae (Diptera) to lead, mercury and beta-sitosterol: effects on mouthpart deformation and moulting // Chemosphere. V. 41. P. 1581.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00033-3)
- Warwick W.F. 1985. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus meigen* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 42. P. 1881.
<https://doi.org/10.1139/f85-236>
- Warwick W.F. 1991. Indexing deformities in ligula and antennae of Procladius larvae (Diptera: Chironomidae): application to contaminant stressed environments // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 48. P. 1151.
<https://doi.org/10.1139/f91-139>
- Watts M.M., Pascoe D.A. 2000. Comparative Study of *Chironomus riparius* Meigen and *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera: Chironomidae) in Aquatic Toxicity Tests // Arch. Environ. Contam. Toxicol. V. 39. P. 299.
<https://doi.org/10.1007/s002440010108>
- Wiederholm T. 1984. Incidence of deformed chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in Swedish lakes // Hydrobiologia. V. 109. P. 243.
<https://doi.org/10.1007/BF00007742>

Toxicity of Bottom Sediments of the Rybinsk Reservoir according to Long-Term Biotesting Data. Part 2. Teratological Studies

I. I. Tomilina¹, *, L. P. Grebenyuk¹, and R. A. Lozhkina¹

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Science, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: i_tomilina@mail.ru

The teratogenic effect of bottom sediments of the Rybinsk reservoir on the occurrence of pathomorphological changes of the mouthpart structures of *Chironomus riparius* larvae has been experimentally confirmed. On average, the proportion of chironomid larvae with pathomorphological deformities in the reaches for the entire observation period was: for the Molozhsky reach – 29.4, the Central – 24.6, the Volzhsky – 24.0, the Sheksninsky – 26.2 (control – 6.7%). Changes were recorded for all structures of the mouthpart of chironomid larvae. The number of deformations of the mouthpart of chironomid larvae may reflect the potential danger of contaminated sediments and serve as a good biomarker when monitoring the ecological state of freshwater ecosystems.

Keywords: bottom sediments, chironomids, morphological deformations of mouthpart structures, pollution