

УДК 594.38:57.084.1:539.1.047

ВЛИЯНИЕ γ -ОБЛУЧЕНИЯ НА СМЕРТНОСТЬ И БИОМАССУ НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА *F. fruticum* М.

© 2023 г. Е. Е. Черкасова^{1,*}, Г. В. Лаврентьева^{1,2}, Б. И. Сынзыныс¹,
О. А. Мирзеабасов¹, А. Н. Павлов³

¹Обнинский институт атомной энергетики — филиал Национального исследовательского ядерного университета
“МИФИ”, Обнинск, Россия

²Калужский филиал МГТУ им. Н.Э. Баумана, Калуга, Россия

³Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

*E-mail: Caterinacherkasova@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.12.2022 г.

После доработки 20.03.2023 г.

Принята к публикации 05.04.2023 г.

Представлены результаты изучения релевантных показателей смертность и биомасса после γ -облучения наземного моллюска *F. fruticum* М. второй возрастной группы в диапазоне доз 10–300 Гр. Возраст моллюсков определяли по количеству оборотов раковины. Экспериментальным путем подобраны условия содержания моллюска в лабораторных условиях таким образом, чтобы выживаемость в контрольной группе составляла 100%. Длительность эксперимента (210 сут) и диапазон доз облучения (10–300 Гр) позволили установить показатель ЛД_{50/60} для наземного моллюска второй возрастной группы, который составляет 115.6 ± 33.8 Гр. ЛД_{50/60} определялась расчетным способом пробит-анализа с применением метода наименьших квадратов. Установлены три дозовых диапазона изменения изучаемых релевантных показателей (10–100 Гр, 110–170 Гр и 180–300 Гр). Для каждого временного диапазона, начиная с 60 сут после облучения, установлена линейно-пороговая зависимость с тремя дозовыми диапазонами: дозозависимое плато при низких дозах облучения, дозозависимый диапазон при увеличении дозы облучения и дозозависимое плато при достижении абсолютной смертности.

Ключевые слова: наземный моллюск, релевантный показатель, ЛД_{50/60}, смертность, биомасса, лабораторный эксперимент, метод пробит-анализа

DOI: 10.31857/S0869803123030049, EDN: XYSVSI

В настоящее время все большую актуальность приобретают методы биологического контроля состояния окружающей среды, в том числе и при радиоактивном загрязнении. При этом международными организациями по вопросам радиационной защиты (МАГАТЭ, МКРЗ, НКДАР) инициируются научные исследования в рамках экоцентрического принципа нормирования радиационного фактора [1–3]. В основе экоцентрического принципа — концепция “условных (референтных) животных и растений” (RAPs — reference animals and plants), которая предложена и развивается в Публикациях МКРЗ [1–4]. Концепция предполагает разработку методов защиты для небольшого числа референтных видов и дальнейшую интерпретацию рисков возникновения негативных эффектов на популяционный и экосистемный уровни. Следует отметить, что предложенный МКРЗ набор RAPs является достаточно дискуссионным. При этом рекомендуется проведение работ по за-

полнению существующих баз данных и обоснованию других референтных видов.

Данная работа направлена на изучение рекомендуемых МКРЗ релевантных показателей (смертность и изменение биомассы как проявление заболеваемости) представителя наземной макрофауны моллюска *Fruticola fruticum* М. после облучения. Наземные моллюски не входят в список референтных видов, представленных в Публикациях МКРЗ. Однако в публикации Научного комитета ООН по действию атомной радиации (НКДАР) фигурируют представители водной макрофауны и почвенные беспозвоночные в качестве референтных организмов [4].

Следует отметить, что моллюски давно признаны удобным инструментом биоиндикации при загрязнении окружающей среды благодаря высоким коэффициентам накопления тяжелых металлов и радионуклидов, широкой распространенности, простоте идентификации, короткому

жизненному циклу. Выполнено немало исследований по изучению возникновения биологических эффектов у моллюсков в условиях загрязнения разного генезиса. Накоплен экспериментальный материал о возникновении биологических эффектов у представителей водной малакофауны по различным показателям, включая изменение кардиоритма, генетические показатели, репродуктивные показатели, показатели накопления загрязняющих веществ. Стоит отметить, что многие исследования были проведены на водных моллюсках, обитающих в водоемах, подвергшихся радиоактивному загрязнению [5, 6]. При этом изучению наземных представителей отводится меньше внимания, а основное направление исследований — изучение влияния естественных факторов окружающей среды на физиологические показатели животных, видовую распространенность. Для установления особенностей влияния радиационного фактора на наземных моллюсков нами был проведен цикл натурных исследований, направленных на изучение влияния хронического облучения радионуклидом ^{90}Sr на изменение высоты раковины и уровня белков металлотioneинов в мягких телах моллюска *F. fruticum* M. [7].

В данной работе представлены результаты лабораторного эксперимента, направленного на установление показателя ЛД_{50/60}, изучение динамики изменения показателей смертности и биомассы наземного моллюска после γ -облучения.

Следует отметить, что проведение подобных исследований является необходимым для расширения баз данных о радиационно-индуцированных эффектах у представителей биоты, без чего весьма затруднительно развивать методы экологического контроля состояния окружающей среды в условиях радиоактивного загрязнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследований является наземный моллюск *F. fruticum* M.

Пробоотбор моллюсков. Для лабораторного эксперимента моллюсков отбирали в Калужской области на территории особо охраняемой природной территории на значительном расстоянии от города и промышленных предприятий. Пробоотбор моллюсков осуществляли в летний период с крапивы и с поверхности почвы под растениями ручным сбором. Для исследований отбирались половозрелые особи второй возрастной группы без видимых повреждений раковины. Ко второй возрастной группе относятся моллюски, имеющие 3.25–4.00 оборота раковины [8].

Методика содержания наземных моллюсков *F. fruticum* M. в лабораторных условиях. Для выполнения исследований были подобраны и экспери-

ментально обоснованы условия содержания наземного моллюска в лаборатории. Методика содержания моллюсков отработывалась в течение трех лет перед выполнением эксперимента по облучению животных. Следует отметить, что среда обитания имеет важное значение для наземных моллюсков. Многие факторы могут негативно сказываться на их питании, размножении и поведенческой активности [9].

По данным исследователей материал для емкостей обитания моллюсков может быть различным [10]. Для содержания наземных моллюсков были выбраны пластиковые пищевые контейнеры объемом 0.25 л. Пищевые контейнеры пропускают свет и в них легко сделать необходимые отверстия для вентиляции. Для содержания улиток был выбран кокосовый субстрат, которым заполнялись контейнеры на 1/4 от объема емкости. Выбор субстрата обусловлен отсутствием химических элементов, которые могут повлиять на ход эксперимента, а также способностью поддерживать необходимую влажность в улитариуме. Плотность моллюсков в контейнерах подбиралась из расчетов 25–35 особей на 1 м² [11].

Для поддержания требуемой влажности 75–85% [10], а также для исключения влияния фактора внесения с водой веществ, негативно сказывающихся на исследуемые показатели, субстрат смачивали дистиллированной водой. Температура в лаборатории варьировала в диапазоне от 21 до 25°C, что является допустимой температурой для жизни наземных моллюсков [12].

В качестве кормовой базы служили овощи (огурцы, капуста, листья салата). Дополнительно вносили CaCO₃, необходимый для поддержания структуры раковин. Для адаптации к лабораторным условиям моллюсков выдерживали в течение 14 дней в лабораторном помещении перед облучением.

Облучение моллюсков. Облучение моллюсков проводили на γ -установке ГУР-120 в диапазоне поглощенных доз 10–300 Гр с шаговым отличием 10 Гр. Мощность поглощенной дозы составляла 30 Гр/ч. Всего было облучено 30 проб, по 15 особей моллюсков в каждой пробе. В качестве контроля выступает проба моллюсков, не подвергнутой облучению.

Определение смертности, биомассы моллюсков и показателя ЛД_{50/60}. Перед измерением массы моллюсков промывали под проточной водой для удаления слизи, субстрата, а также для выведения особей из спящего состояния и высушивали фильтровальной бумагой перед взвешиванием [40]. Моллюски взвешивались на аналитических весах с точностью до 0.0002 мг.

Измерение массы проводилось каждые 15 сут после облучения. Моллюсков взвешивали группой и рассчитывали среднюю массу особей.

Для расчета достоверного отличия от контроля изменение массы переводилось в проценты, так как сравнение массы в граммах не отражает динамику изменения контрольной группы и групп моллюсков после облучения. Первоначальная масса принималась за 100%. Дальнейшие изменения показаны из расчета превышения или уменьшения первоначальной массы в процентах. Достоверность отличия значений, полученных в группах после облучения, сравнивали с такими же значениями в контрольной группе в соответствующий временной промежуток.

Для оценки изменения массы моллюсков в граммах на протяжении всего эксперимента проводилось сравнение показателя с первоначальной массой до облучения.

Если динамика массы в контрольной группе отражает физиологические особенности, связанные с сезонностью, то для исключения сезонности, динамика рассматривалась как отношение средней массы каждой исследуемой группы относительно динамики средней массы контрольной группы. Кроме этого, следует учитывать различные средние начальные массы в группах и, следовательно, нормировать динамику в каждой группе на соответствующее начальное значение.

Перед проведением регистрации смертности моллюски промывались под проточной водой для выведения из состояния сна. Смертность моллюска регистрировали по признакам: не реагирует на орошения водой; находится глубоко в раковине и отсутствует эпифрагма; мягкое тело становится бесформенным; улитка источает неприятный запах; отсутствие мягкого тела в раковине. Показатель регистрировали каждые 10 сут. Время эксперимента составляет 210 сут.

Определение $LD_{50/60}$. Полулетальная доза через 60 сут после облучения ($LD_{50/60}$) определялась расчетным способом пробит-анализа с применением метода наименьших квадратов [13]. Следует отметить, что метод пробит-анализа широко применяется для изучения количественных зависимостей “доза–эффект” в фармакологии и токсикологии, а последние годы находит применение и в радиобиологических исследованиях [14].

Статистическая обработка данных. Экспериментальные данные обработаны с помощью программного пакета Microsoft Excel 2019 и с применением программной среды R. На графиках представлены средние значения и стандартная ошибка среднего. Для определения значимости различий между средними значениями изучаемых показателей и контролем использовали t -тест Стьюдента. Статистические выбросы определяли посредством критерия Граббса.

Линейные пороговые зависимости определялись с учетом трех параметров: D_s – доза достижения 100% смертности; D_p – доза, до которой

смертность постоянна (пороговое значение); M_0 – значение постоянной смертности до пороговой дозы (D_p).

Оценки средних значений параметров моделей проводили с использованием метода наименьших квадратов (в языке R метод реализован в функции `nls`), достоверность параметров оценивали по статистике ошибок $p < 0.05$.

Зависимость изменения смертности моллюсков (M , %) от дозы облучения (D) определяется следующим образом:

$$\begin{cases} M(D) = M_0 & \text{при } D \leq D_p \\ M(D) = M_0 + (D - D_p) / (D_s - D_p)(100 - M_0) & \text{при } D_p < D < D_s \\ M(D) = 100 & \text{при } D \geq D_s \end{cases}$$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатель смертности. На основании экспериментальных данных выявлена дозоременная зависимость изменения показателя смертности после γ -облучения наземного моллюска. В контроле отмечается 100%-ная выживаемость на протяжении всего эксперимента.

На основании данных лабораторного эксперимента установлена временная закономерность изменения смертности моллюска при облучении в изучаемом диапазоне доз. Оценка показателя не учитывает дозу облучения 30 Гр, так как она является статистическим выбросом. При этом через 30 сут (рис. 1) после облучения дозами 10–300 Гр изменение показателя смертности носит дозозависимый характер.

Через 60–210 сут после облучения установлено линейно-пороговое изменение смертности моллюска при увеличении дозы облучения. При этом для каждого рассматриваемого временного диапазона после облучения наблюдается два пороговых перехода на новый уровень летальности моллюска, т.е. три дозовых диапазона (табл. 1).

Через 60 сут после облучения моллюсков (рис. 2, табл. 1) выявляется первый дозозависимый диапазон показателя смертности, который находится на уровне 21.9% при облучении животных дозой менее 73 Гр. В диапазоне 73–289 Гр отмечается дозозависимый пороговый переход на новый уровень летальности, который описывается как $M(D) = 21.9 + 0.362 \times (D - 73)$, с последующим достижением 100%-ной смертности при дозах более 289 Гр (рис. 3).

Через 90 сут после облучения (рис. 3, табл. 1) первый дозозависимый диапазон смертности определяется при облучении дозами 10–87.3 Гр и находится на уровне 24.2%. При облучении дозами 87.3–197 Гр наблюдается дозозависимое повышение смертности до перехода на новый уро-

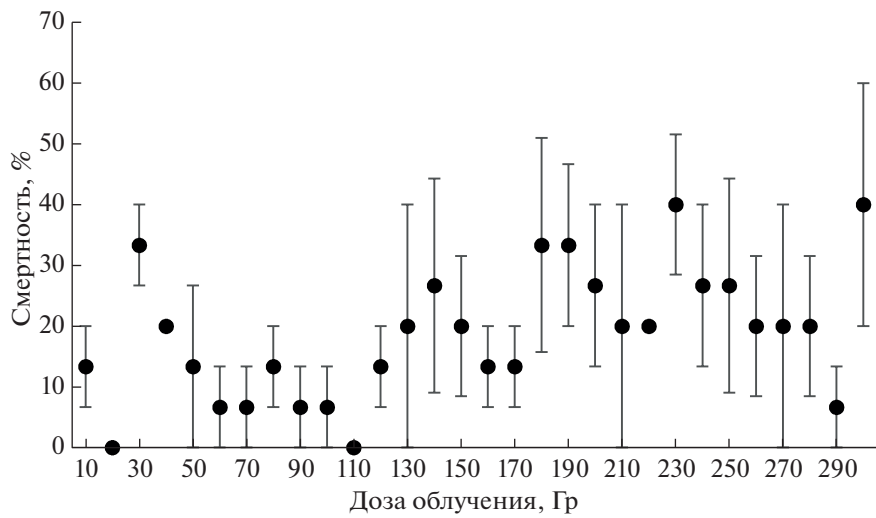


Рис. 1. Смертность моллюсков через 30 сут после облучения.
Fig. 1. Mortality of mollusks 30 days after irradiation.

вень летальности, который составляет 100%. Таким образом, доза облучения 197 Гр в данный временной период после облучения является пороговой при переходе к дозозависимому плато, характеризующему абсолютную смертность.

Через 120 сут после облучения зависимость доза–эффект также имеет три диапазона изменений (рис. 4, табл. 1): дозозависимый диапазон, дозозависимый диапазон и дозозависимое плато при достижении абсолютной смертности. Первый дозовый диапазон наблюдается при облучении моллюсков дозами до 75 Гр с показателем смертности в среднем 29.5%, второй – при достижении дозы облучения 185 Гр с дальнейшим переходом к новому уровню летальности (100%) в диапазоне доз от 185 до 300 Гр.

Через 150 и 180 сут после облучения отмечаются низкие относительно предыдущих временных интервалов пороговые дозы (7.47 и 9.49 Гр соответственно) при переходе от первого дозозависимого к следующему дозозависимому диапазону (рис. 5, 6, табл. 1). С увеличением дозовой нагрузки до 186 и 149 Гр смертность увеличивается в диапазоне от 24.4 и 30.8% до перехода на абсолютный уровень летальности соответственно, при наблюдении показателя через 150 и 180 сут после облучения.

В более отдаленный временной период после облучения (210 сут) также сохраняется тенденция изменения показателя в соответствии с линейно-пороговой моделью (табл. 1). При этом в диапазоне облучения 10–68.5 Гр выявляется первый уро-

Таблица 1. Параметры линейно-пороговых зависимостей
Table 1. Parameters of linear-threshold dependencies

Сутки после облучения	Параметры модели		
	$M(D) = M_0$ при $D \leq D_p$	$M(D) = M_0 + (D - D_p)/(D_s - D_p)(100 - M_0)$ при $D_p < D < D_s$	$M(D) = 100$ при $D > D_s$
60 сут	$M(D) = 21.9$ при $D \leq 73$	$M(D) = 21.9 + 0.362(D - 73)$ при $73 < D < 289$	$M(D) = 100$ при $D \geq 289$
90 сут	$M(D) = 24.2$ при $D \leq 87.3$	$M(D) = 24.2 + 0.691(D - 87.3)$ при $87.3 < D < 197$	$M(D) = 100$ при $D \geq 197$
120 сут	$M(D) = 29.5$ при $D \leq 75$	$M(D) = 29.5 + 0.642(D - 75)$ при $75 < D < 185$	$M(D) = 100$ при $D \geq 185$
150 сут	$M(D) = 24.4$ при $D \leq 7.47$	$M(D) = 24.4 + 0.424(D - 7.47)$ при $7.47 < D < 186$	$M(D) = 100$ при $D \geq 186$
180 сут	$M(D) = 30.8$ при $D \leq 9.49$	$M(D) = 30.8 + 0.497(D - 9.49)$ при $9.49 < D < 149$	$M(D) = 100$ при $D \geq 149$
210 сут	$M(D) = 54.4$ при $D \leq 68.5$	$M(D) = 54.4 + 1.07(D - 68.5)$ при $68.5 < D < 111$	$M(D) = 100$ при $D \geq 111$

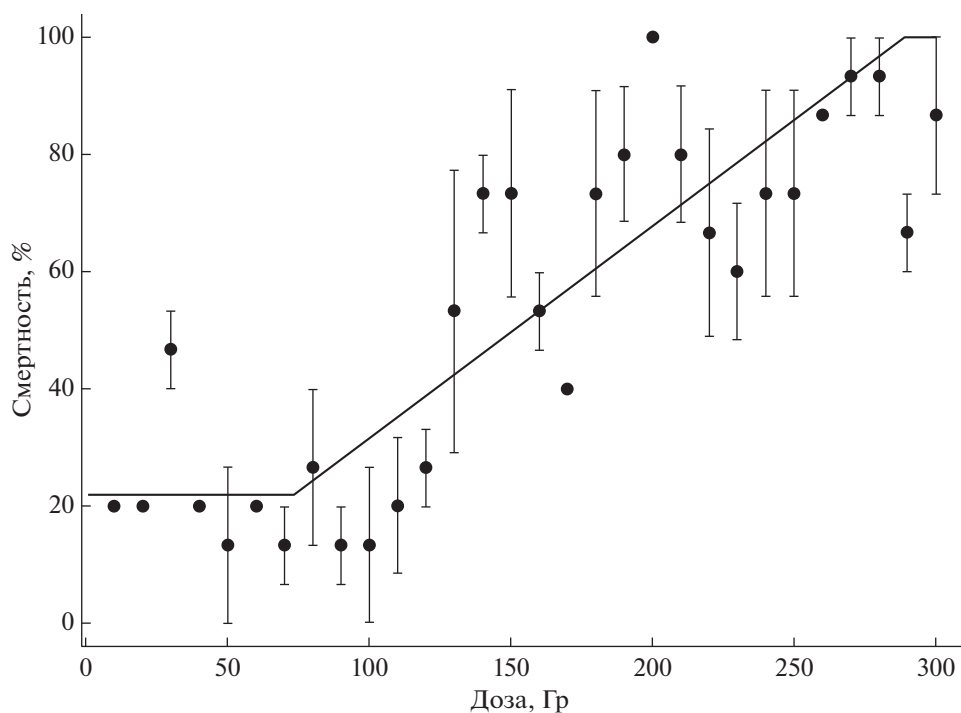


Рис. 2. Смертность моллюсков через 60 сут после облучения.

Fig. 2. Mortality of mollusks 60 days after irradiation.

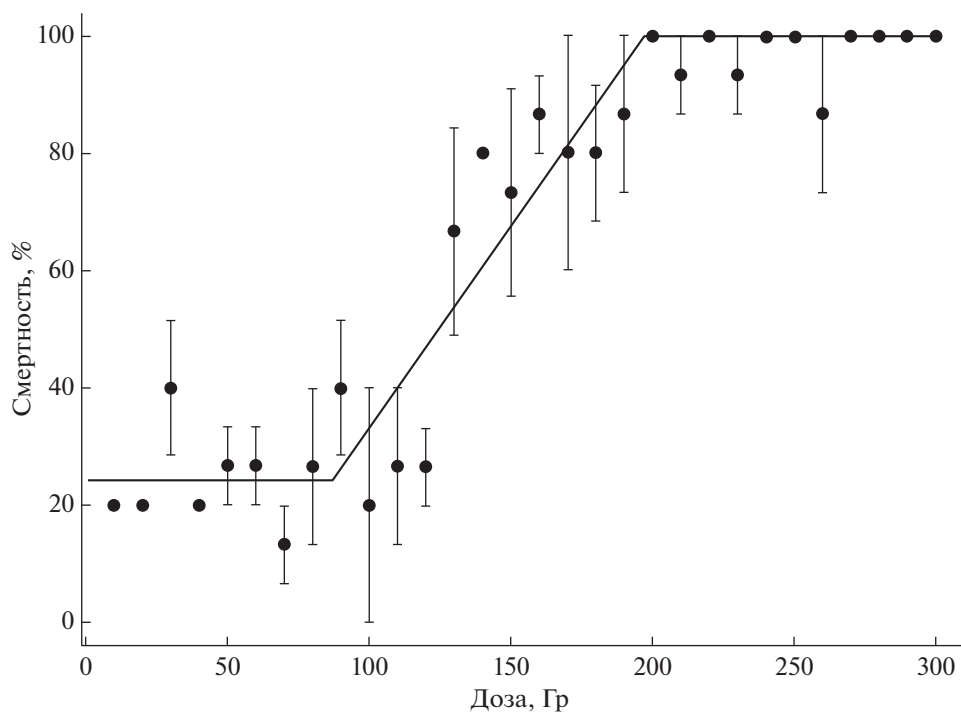


Рис. 3. Смертность моллюсков через 90 сут после облучения.

Fig. 3. Mortality of mollusks 90 days after irradiation.

вень летальности (54.4%) с последующим пороговым переходом на дозозависимый диапазон при облучении моллюсков дозами до 111 Гр. В свою

очередь 111 Гр является пороговой дозой при переходе на дозозависимое плато со 100%-ной смертностью моллюсков (рис. 7).

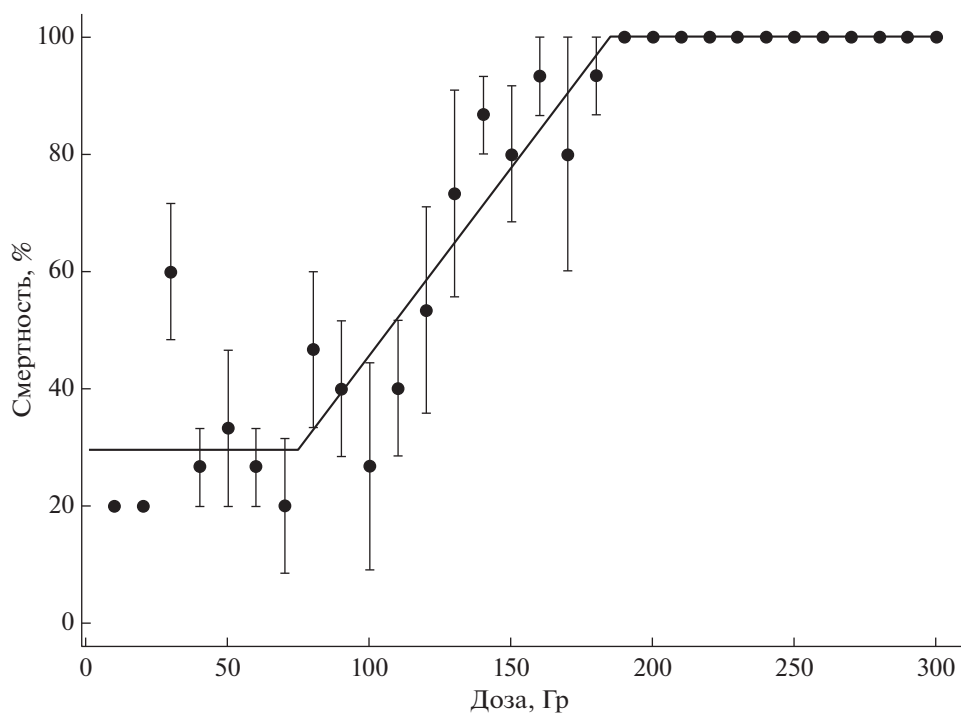


Рис. 4. Смертность моллюсков через 120 сут после облучения.

Fig. 4. Mortality of mollusks 120 days after irradiation.

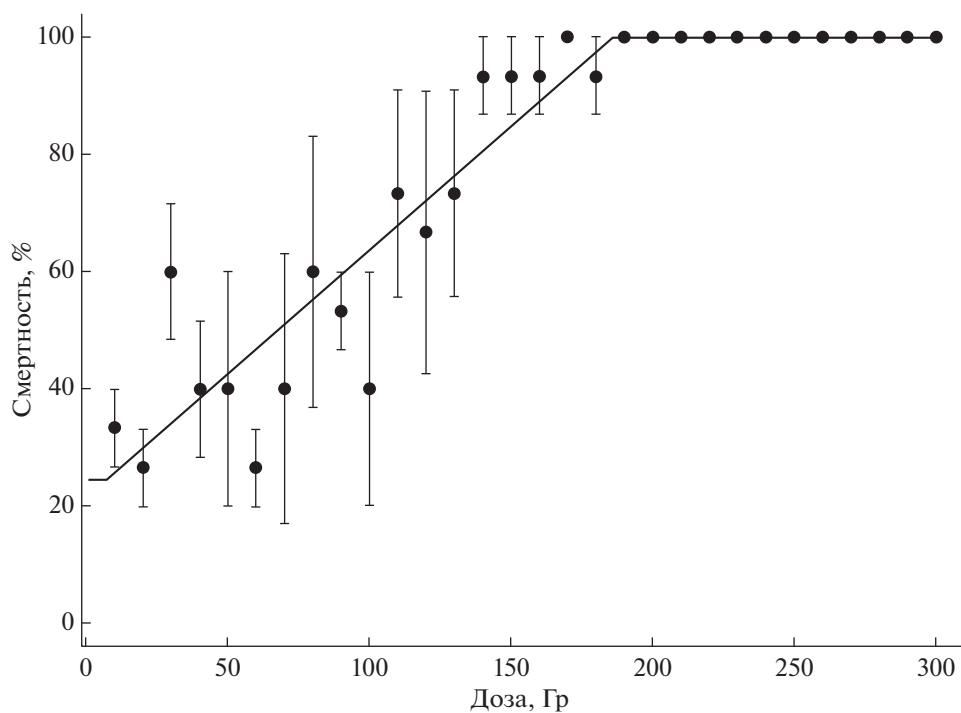


Рис. 5. Смертность моллюсков через 150 сут после облучения.

Fig. 5. Mortality of mollusks 150 days after irradiation.

Динамика изменения смертности моллюсков в зависимости от времени после облучения представлена с учетом пороговых доз при достижении

абсолютной смертности. При этом дозы облучения объединены в дозовые диапазоны: 10–100 Гр, 110–170 Гр, 180–250 Гр, 260–300 Гр (рис. 8).

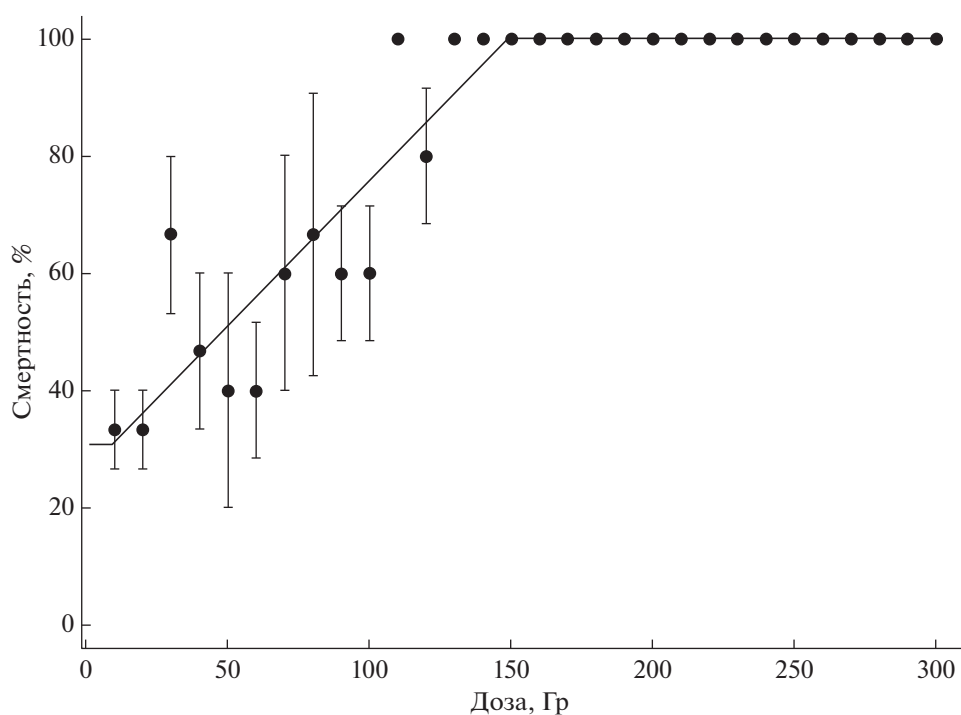


Рис. 6. Смертность моллюсков через 180 сут после облучения.

Fig. 6. Mortality of mollusks 180 days after irradiation.

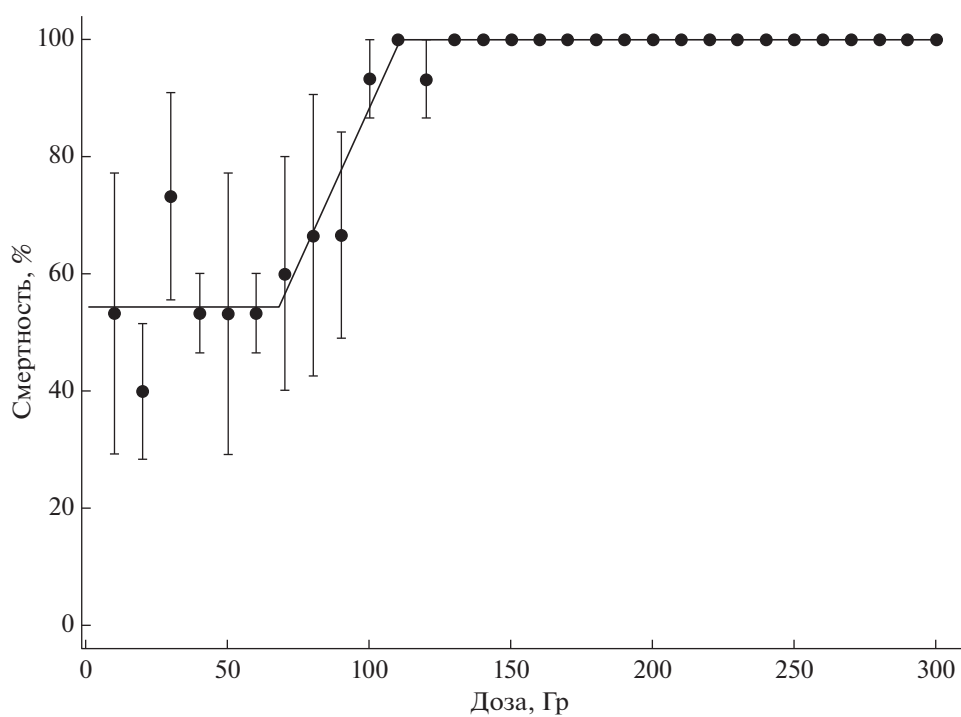


Рис. 7. Смертность моллюсков через 210 сут после облучения.

Fig. 7. Mortality of mollusks 210 days after irradiation.

В дозовом диапазоне облучения моллюсков 10 до 100 Гр не наблюдается абсолютной смертности

на протяжении 210 сут эксперимента. При этом с течением времени отмечается динамика увеличе-

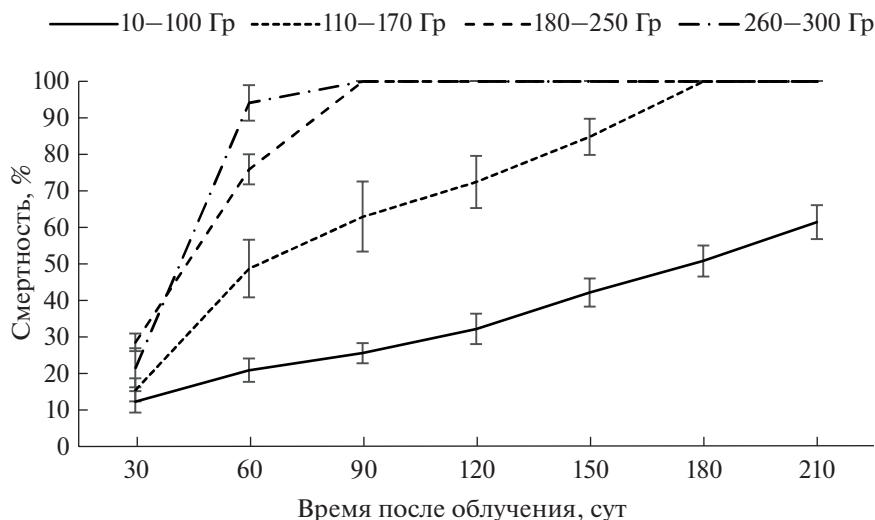


Рис. 8. Временная динамика изменения смертности моллюсков.

Fig. 8. Temporal dynamics of changes in mollusk mortality.

ния изучаемого показателя, в среднем в 5 раз на 210 сут эксперимента относительно первого периода наблюдения.

Дозы облучения 110–170 Гр вызывают абсолютную смертность моллюсков через 180 сут наблюдений. Показатель увеличивается в 6.6 раза через 180 сут эксперимента относительно начального периода и в 1.3–2.5 раза относительно предыдущего диапазона доз ($p < 0.05$).

При облучении моллюсков дозами 180–250 Гр эффекты летальности проявляются через 90 сут после облучения. При этом смертность увеличивается в 3.5 раза относительно первого временного периода наблюдения и от 1.5 до 1.9 раза относительно предыдущего дозового диапазона. Облучение моллюсков дозами 260–300 Гр на основании экспериментальных данных приводит к 100%-ной смертности особей через 90 сут. С учетом достоверных отличий между значениями можно утверждать, что абсолютная смертность достигается через 60 сут, что подтверждается и параметрами линейно-кусочной модели (табл. 1). Облучение дозами 260–300 Гр характеризуется увеличением показателя в 4.7 раза относительно первоначального временного периода наблюдения. Также отмечается увеличение смертности в 1.6–4.6 раза относительно предыдущего диапазона доз ($p < 0.05$).

Длительность экспериментальных наблюдений и диапазон доз острого γ -облучения животных позволили определить показатель ЛД_{50/60} для наземного моллюска *F. fruticum* М. второй возрастной группы, который составляет 115.6 ± 33.8 Гр.

Масса моллюска. Анализ изменения массы моллюска в результате воздействия радиационного фактора невозможен без учета физиологиче-

ских особенностей животного ввиду сезонных изменений изучаемого показателя. В связи с этим отмечается динамичный характер массы в контрольной группе в период проведения эксперимента (рис. 9).

Изменение массы в контрольной группе носит нелинейный характер, что является физиологической нормой. Например, А.А. Зотин в своей работе отмечает, что удельная скорость роста моллюсков постоянно колеблется независимо от формы кривой роста и вида моллюсков [15]. В рамках лабораторного эксперимента первое измерение массы было проведено в конце сентября. Через 30 сут эксперимента, что пришлось на конец октября, отмечается достоверное увеличение массы. Возможно, такой эффект наблюдается из-за обилия и разнообразия подкормки, а также внесения кальция в кормовую базу животного. При этом в период сентябрь–октябрь в естественной среде обитания моллюска недостаточно разнообразия корма, обогащенного кальцием. Кроме того, избыток пищи может приводить к увеличению потребления и соответственно массы, что, например, наблюдалось у гребневика *Mnemiopsis Mcradyi*, который активно потребляет пищу в лабораторных условиях при увеличении рациона [16].

В следующие 90 сут эксперимента изменение массы моллюсков относительно массы перед облучением отсутствует (отсутствие достоверного отличия при $p < 0.05$).

Через 135–150 сут эксперимента отмечается снижение массы моллюсков в 1.3 раза, что может быть обосновано следующим. В связи с биологическими ритмами наземных моллюсков, которые в зимний период находятся в состоянии ана-

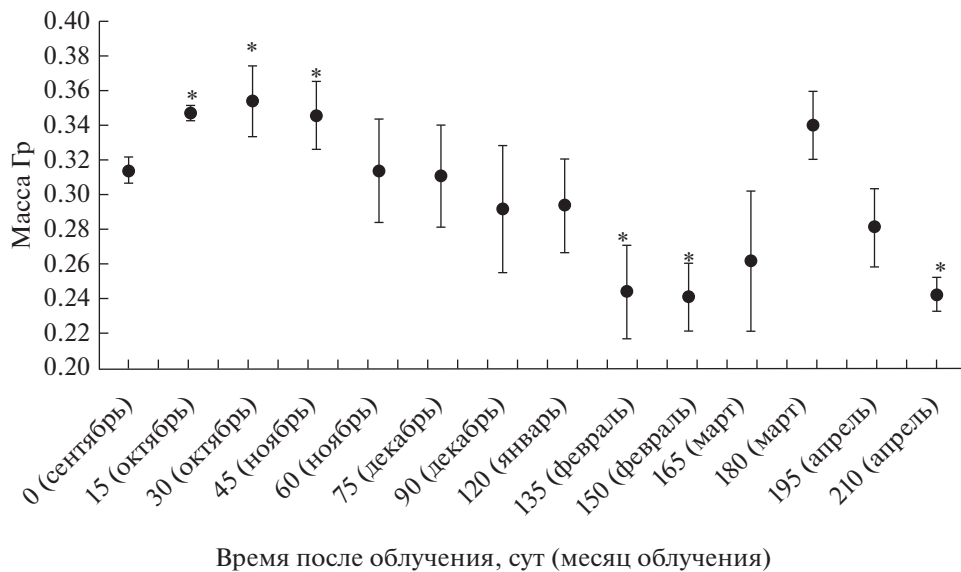


Рис. 9. Масса контрольной группы моллюсков.

Fig. 9. Mass of the control group of mollusks.

биоза, снижается их активность с ноября по февраль. Например, в исследованиях П.О. Рипатти при проведении лабораторного эксперимента выделял неактивных особей кустарниковой улитки *Bradybaena fruticum* Müll (*F. fruticum* M.), по-видимому, уже находящихся в состоянии зимовки. Они не реагировали на раздражающие стимулы в эксперименте, в качестве которого выступал свет. Отмечается, что у неактивных особей содержание всех жирных кислот общих липидов меньше, чем у остальных особей [17]. Определение периода зимовки у моллюсков происходит при уменьшении продолжительности светового дня, а не температуры [18]. Снижение массы изучаемых особей происходит в ноябре–феврале, что соответствует периоду зимней спячки или диапаузы. Подобные периоды снижения роста и массы наблюдались у представителей *Bithynia tentaculata*, *Contectiana listeri*: пять или шесть линий сезонных остановок роста соответствовали пяти зимовкам [19]. В период диапаузы перед наступлением вредных внешних сезонных воздействий отмечается снижение общего метаболизма и прекращения формообразования, что, возможно, связано с накоплением пищевых резервов (чаще липидов) [18].

После снижения массы к 180-м суткам эксперимента (конец марта) наблюдается 30-дневный период увеличения массы в 1.4 раза. Это может быть связано с периодом выхода из диапаузы и активным потреблением пищи. В естественной среде обитания подобные закономерности отмечаются у моллюсков вида *Helix lucorum* Linnaeus и *Helix albescens* Rossmassler [11], в апреле – мае наблюдается активный рост *Caucasotachea vindobonensis* [20]. В исследованиях [21] показано, что ак-

тивность моллюсков *F. fruticum* M. зависит от возрастной группы. В лабораторных условиях молодые улитки гораздо более активны весной, летом и осенью, а взрослые более подвижны зимой.

После повышения массы следует период достоверного снижения показателя до конца эксперимента в течение 30 дней (апрель–май). Это может быть связано с биологическими ритмами, а возможно – с началом периода размножения. Например, у моллюсков *C. vindobonensis* после периода активного роста идет период замедления роста [20]. В естественных условиях откладка яиц *Bithynia tentaculata* осуществляется преимущественно с середины мая по конец июня [22].

Изменение массы моллюсков после облучения дозами от 10 до 100 Гр имеет схожую динамику с контрольной группой во все временные периоды эксперимента ($r = 0.8$). При этом в период выхода из анабиоза (март–апрель) отмечается достоверное снижение массы моллюска через 180–210 сут после облучения. Наблюдается снижение массы до 19% относительно первоначальной массы и до 25% – относительно массы через 15 сут эксперимента. На фоне снижения показателя облучение дозами 20 Гр, 50 Гр и 100 Гр приводит к увеличению массы относительно контрольной группы (рис. 10).

При облучении дозами 110–160 Гр (рис. 10, 11) уменьшение массы происходит преимущественно в период с 45-х по 150-е сутки после облучения, что соответствует периоду анабиоза в естественных условиях (ноябрь–февраль). Также отмечается, что в данный период масса достоверно

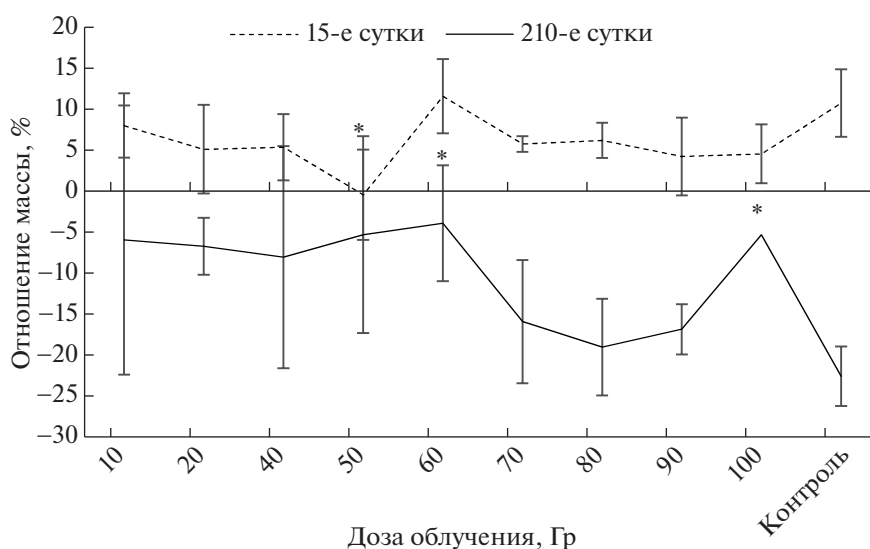


Рис. 10. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 10–100 Гр.

Fig. 10. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 10–100 Gy.

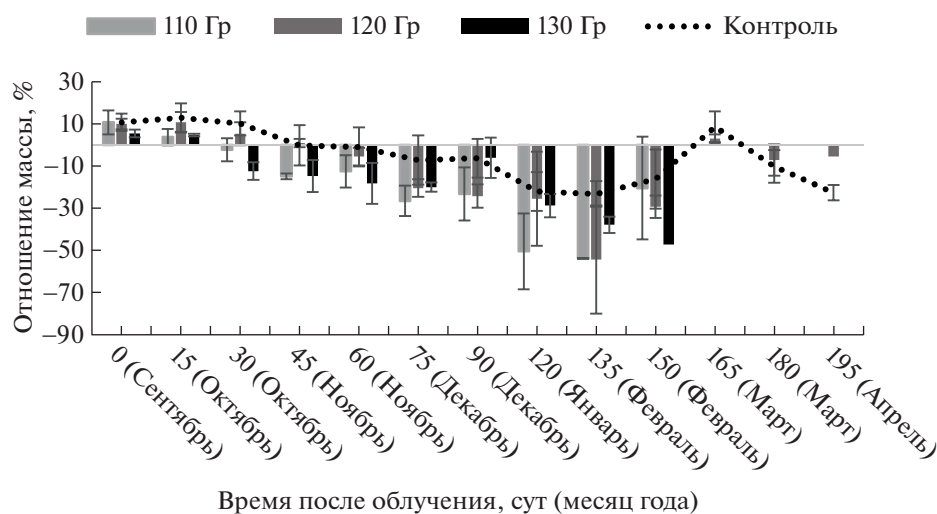


Рис. 11. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 110–130 Гр.

Fig. 11. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 110–130 Gy.

снижается за 15–30 сут до полного вымирания группы (100% смертность) в 1.5 раза (рис. 11, 12).

При облучении моллюсков дозами 170 и 180 Гр (рис. 13) снижение массы наблюдается на протяжении 90–105 сут, начиная с 45–60-х суток эксперимента до достижения абсолютной смертности через 135, 150 сут соответственно. Масса снижается в среднем на 72% относительно первоначальной массы и на 67% за весь период, тогда как в контрольной группе снижение массы происходит на 12%.

При облучении дозами 240–290 Гр (рис. 14, 15) отмечается достоверное снижение массы на протяжении всего периода до достижения 100%-ной смертности (через 75–90 сут) в среднем в 2.5 раза. Изменение массы при облучении дозой 300 Гр является статистическим выбросом ($U_{\text{расч}} > U_{\text{табл}}$).

Анализ данных лабораторного эксперимента позволил установить, что изменение массы имеет дозовременную зависимость. При этом с увеличением дозы облучения достоверное снижение массы проявляется в более ранний период и с большим отличием от контрольных значений.

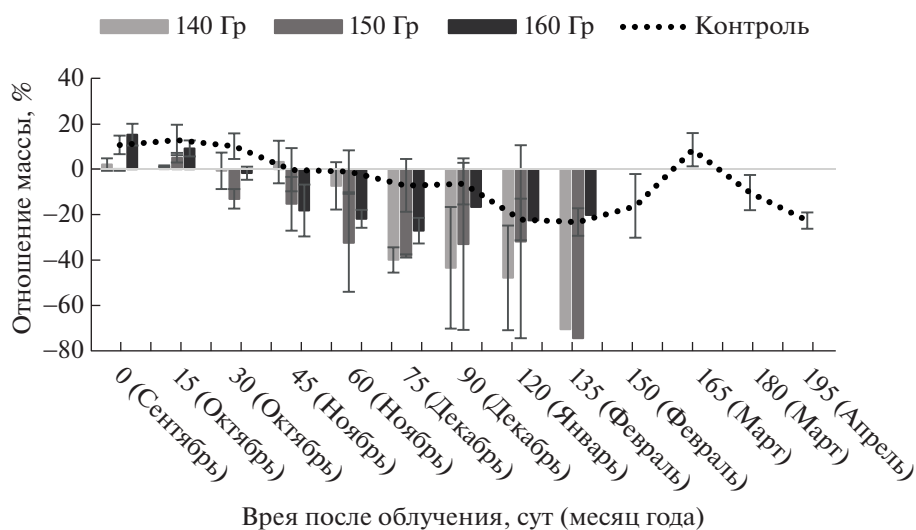


Рис. 12. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 140–160 Гр.
Fig. 12. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 140–160 Gy.

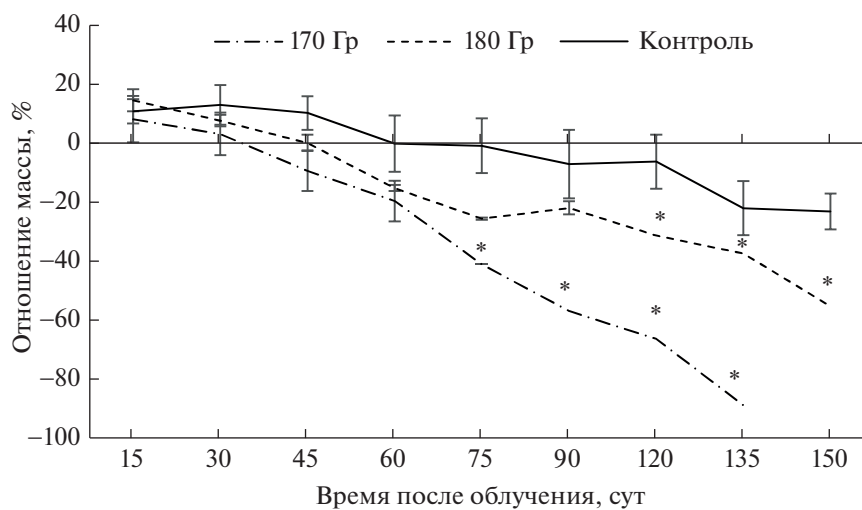


Рис. 13. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 170–180 Гр.
Fig. 13. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 170–180 Gy.

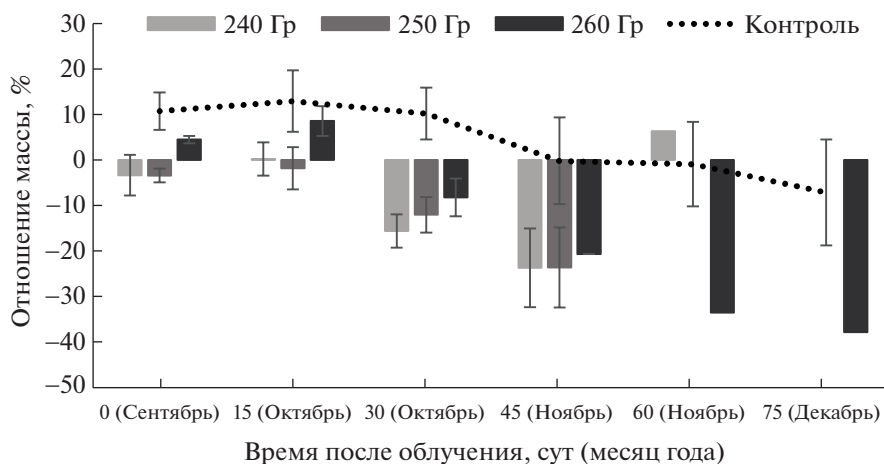


Рис. 14. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 240–260 Гр.
Fig. 14. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 240–260 Gy.

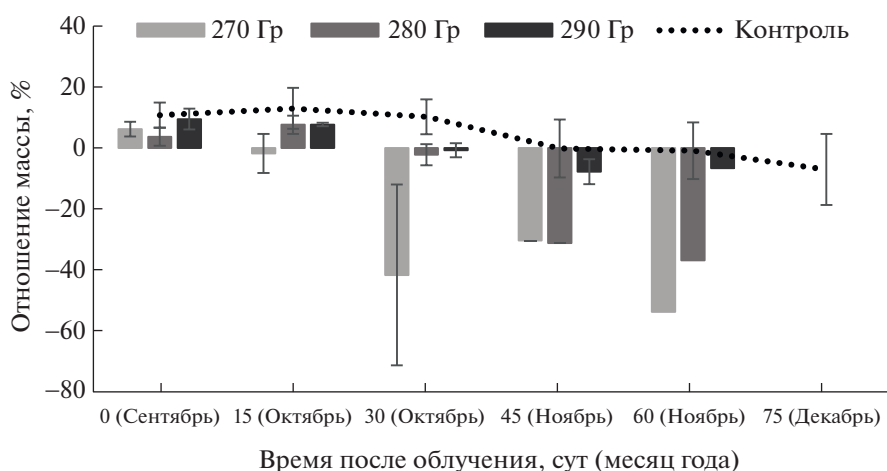


Рис. 15. Отношение массы моллюсков к первоначальному значению после облучения дозами 270–290 Гр.
Fig. 15. The ratio of the mass of mollusks to the initial value after irradiation with doses of 270–290 Gy.

ОБСУЖДЕНИЕ

Смертность как биологический эффект при воздействии γ -облучения на моллюсков *F. fruticum* М. в диапазоне доз от 10 до 300 Гр проявляется через 60 сут после облучения, о чем свидетельствует достоверное отличие изучаемого показателя от контроля на фоне нулевой смертности в контрольной группе.

Эксперимент с увеличением дозы облучения моллюска позволил установить, что через 30 сут после облучения смертность имеет дозозависимый характер. Через 60–210 сут после облучения изменение смертности описывается линейно-пороговой дозовой зависимостью с тремя диапазонами: дозозависимое плато при низких дозах облучения, дозозависимый диапазон при увеличении дозы облучения и дозозависимое плато при достижении абсолютной смертности. Схожие эффекты были обнаружены при изучении изменения летальности дафний, где регистрируются пороговые переходы на 25%-ный и 100%-ный уровни летальности [23].

При облучении дозами 10–120 Гр достоверное увеличение смертности (13.3–26.7%) регистрируется в первые 60 сут после облучения (октябрь–ноябрь). После чего смертность остается стабильной на том же уровне до 90-х суток, за исключением дозы 90 Гр, где смертность увеличилась на 26.7%. Через 90–150 суток смертность увеличивается в среднем на 21%, но данное увеличение статистически не достоверно. Вероятно, дозы облучения 10–120 Гр не вызывают необратимых изменений в организме. Однако в ранний период после облучения могут погибать более слабые особи [24], что наблюдается в эксперименте. Через 70–150 сут после облучения (декабрь – февраль) отмечается отсутствие достоверного увеличения показателя смертности моллюсков, что

обусловлено биологическими ритмами животного, а именно периодом анабиоза животного. Поскольку период зимовки у моллюсков определяется световым режимом [18], в лабораторных условиях у моллюсков наблюдался гипобиоз [25], когда биологические процессы в организме моллюсков замедляются. Последующее увеличение смертности на 14% наступает через 160–210 сут после облучения (март–апрель) в период сезонной активности [20] и восстановления метаболических процессов. Следует отметить, что абсолютная смертность при облучении в диапазоне от 10 до 120 Гр отсутствует. В данный временной диапазон (через 180–210 сут после облучения), который соответствует выходу животного из анабиоза (март–апрель), также отмечается снижение массы моллюска при облучении дозами 10–100 Гр. Возможно, моллюски способны к адаптации и восстановлению после облучения в данном диапазоне доз. Известно, что радиационные эффекты активируют функции гомеостатической регуляции, общее значение которых заключается в мобилизации компенсаторных механизмов, предназначенных для восстановления нарушенного динамического равновесия данной системы [24].

При облучении дозами 130–170 Гр выделяется три периода достоверного увеличения смертности. Первый период увеличения смертности с 0 до 33.3–66.7% наблюдается в первые 50 сут после облучения, что, возможно, связано с гибелью слабых особей из-за особенностей индивидуальной радиочувствительности [26]. Последующее увеличение смертности (73.3–86.7%) происходит через 60–150 сут эксперимента, что совпадает с периодом понижения активности моллюсков. В этот же период отмечается и уменьшение массы животных, что соответствует периоду анабиоза в естественных условиях (ноябрь–февраль) в связи

с биологическими ритмами и гипобиозом (декабрь—февраль) [25]. Через 150–210 сут после облучения в период весеннего (март—апрель) повышения активности моллюсков смертность достигает абсолютного максимума. Таким образом, диапазон доз облучения от 130 Гр и более приводит к необратимым нарушениям в организме моллюсков, что обуславливает увеличение смертности даже в период замедления жизненных процессов. Также отмечается динамика массы моллюсков. При облучении дозами 110–230 Гр масса снижается за 15–45 сут до 100%-ной смертности.

Дозы облучения 180–300 Гр приводят к абсолютной смертности через 60–120 сут после облучения. При этом отмечается снижение массы моллюсков на протяжении всего периода до смерти. Данный диапазон доз приводит к нарушениям в организме моллюсков, которые проявляются в 100%-ной смертности еще в период перед наступлением гипобиоза (ноябрь—декабрь).

Изменение массы наземного моллюска после γ -облучения, возможно, обусловлено воздействием радиационного фактора. Например, подобные эффекты наблюдались в экспериментах с мышами, когда острое γ -облучение дозами 9.5–10.0 Гр приводило к снижению массы животного на 24% [27].

Для установления зависимости изменения массы перед смертностью моллюсков был проведен корреляционный анализ данных. При облучении моллюсков дозами 10–100 Гр корреляционная связь между показателями отсутствует, при облучении дозами свыше 160 Гр наблюдается обратная корреляционная связь ($r = -0.9$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании лабораторного эксперимента установлен показатель ЛД_{50/60} для наземного моллюска *F. fruticum* М. второй возрастной группы (115.6 ± 33.8 Гр). Следует отметить, что до настоящего времени нет четкого представления о показателе ЛД для наземных моллюсков. При этом диапазон показателя, учитывая различные источники, изменяется от 20 до 500 Гр [28, 29].

Анализ экспериментальных данных позволил установить три дозовых диапазона (10–100, 110–170 и 180–300 Гр) с различными проявлениями изучаемых релевантных показателей. Облучение моллюсков дозами 10–100 Гр не приводит к абсолютной смертности на протяжении 210 сут наблюдения. Снижение массы животного отмечается, начиная с 180 сут после облучения. Дозы облучения 110–170 Гр вызывают абсолютную смертность моллюсков через 150–180 сут наблюдений, а также — снижение массы за 15–30 сут до смертности. При облучении дозами 180–300 Гр абсолютная смертность наступает через 60–140 сут,

при этом масса снижается на протяжении всего эксперимента. Также установлена обратная корреляционная зависимость между релевантными показателями ($r = -0.9$).

Для описания изменения показателя смертности моллюсков в зависимости от дозы облучения, начиная с 60-х суток после облучения, установлена линейно-пороговая зависимость. Для каждого временного диапазона после облучения наблюдается два пороговых перехода на новый уровень летальности моллюсков. С течением времени после облучения моллюсков отмечается снижение порога летальности от 289 Гр через 60 сут до 111 Гр через 210 сут эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ICRP. Environmental Protection: The Concept and Use of Reference Animals and Plants. Publication 108 // Ann. ICRP. 2008. 251 p.
2. ICRP. Environmental Protection: Transfer Parameters for Reference Animals and Plants. Publication 114 // Ann. ICRP. 2009. 111 p.
3. ICRP. Protection of the Environment under Different Exposure Situations. Publication 124 // Ann. ICRP. 2014. 59 p.
4. Sources and effects of ionizing radiation: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation: UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly // United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. V. 2. New York: Annexes D and E, 2011. 95 p.
5. Шаров А.Н., Холодкевич С.В. О некоторых особенностях использования пресноводных двустворчатых моллюсков при проведении экотоксикологических исследований на основе мониторинга их кардиоритма волоконно-оптическим методом // Принципы экологии. 2015. № 2. С. 21–28. [Sharov A., Kholodkevich S. Some features of using heart rate monitoring of freshwater bivalve molluscs with a fiber-optical method for ecotoxicological research // Principy jeologii. 2015. V. 2. P. 21–28. (In Russ.)]
6. Golubev A. Ionizing radiation long-term impact on biota in water bodies with different levels radioactive contamination in Belarusian sector of Chernobyl nuclear accident zone // Radioprot. 2011. V. 46. № 6. P. 393–399.
7. Лаврентьева Г.В., Шошина Р.Р., Мирзеабасов О.А. и др. Оценка влияния ^{90}Sr на морфометрические показатели и уровень белков металлотIONEИНОВ в мягких тканях сухопутных моллюсков *Bradybaena fruticum* на биотопе регионального хранилища радиоактивных отходов // Радиация и риск. 2017. Т. 26. № 4. С. 110–114. [Lavrentyeva G.V., Shoshina R.R., Mirzeabasov O.A. et al. Impact of ^{90}Sr on morphometric indices and metallothioneins level in the soft tissues of *Bradybaena Fruticum* inhabiting the regional radioactive wastes storage facility // Radiation and risk. 2017. V. 26. № 4. P. 110–114. (In Russ.)]
8. Гребенников М.Е., Хохуткин И.М. Содержание тяжелых металлов в наземных моллюсках в районе Среднеуральского медеплавильного завода // Мат.

- науч.-практ. конф. “Экологические основы стабильного развития Прикамья”. Пермь, 2000. 92 с. [Grebennikov M.E., Hohutkin I.M. Soderzhanie tiazhe-lyh metallov v nazemnyh molluskah v rajone Sredne-ural'skogo medeplavil'nogo zavoda // Materialy nauchno-prakticheskoy konferencii “Jekologicheskie osnovy stabil'nogo razvitiya Prikam'ja”. Perm', 2000. 92 p. (In Russ.)]
9. Петухова Г.А. Моллюски как чувствительные тест-индикаторы состояния перифитона при действии антропогенного пресса загрязнителей // Вестн. Тюменского гос. ун-та. 2005. № 5. С. 97–100. [Petuhova G.A. Molluski kak chuvstvitel'nye test-indikatory sostoyaniya perifitona pri dejstvii antropogen-nogo pressa zagryaznitelej // Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta. 2005. № 5. P. 97–100. (In Russ.)]
 10. Дедков В.П., Румянцева Е.Г. Новая технология культивирования виноградной улитки *Helix Pomatia* L. в условиях Калининградской области // Вестник РГУ им. Канта. Естественные науки. 2008. Вып 7. С. 87–94. [Dedkov V.P., Rumyantseva E.G. Novaya tekhnologiya kul'tivirovaniya vinogradnoj ulitki *Helix Pomatia* L. v usloviyah Kaliningradskoj oblasti // Vestnik RGU im. Kanta. Estestvennye nauki. 2008. V. P. 7: 87–94. (In Russ.)]
 11. Резник Е.П., Попов В.Н. Разведение улиток *Helix Lucorum* и *Helix Albescens* (Helicidae) в условиях фермерского хозяйства в Крыму // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2010. № 2 (21). С. 153–157. [Reznik E.P., Popov V.N. Razvedenie ulitok *Helix Lucorum* i *Helix Albescens* (Helicidae) v usloviyah fermerskogo hozyajstva v Krymu // Ekosistemy, ih optimizaciya i ohrana. 2010. №. 2. № 21. P. 153–157. (In Russ.)]
 12. Вычалковская Н.В. Особенности размножения наземных моллюсков braphuiopsis Cylindrica в лабораторных условиях // Вестн. зоологии. 2005. № 39 (3). С. 77–83 [Vychalkovskaya N.V. Osobennosti razmn-zheniya nazemnyh molluskov braphuiopsis Cylindrica v laboratornyh usloviyah // Vestnik zoologii. 2005. V. 39. № 3. P. 77–83 (In Russ.)]
 13. Черкасова Е.Е., Лаврентьева Г.В., Сынзыныс Б.И. Экспериментальное определение показателя полулетальной дозы для наземного моллюска *Fruticola Fruticum* // Междунар. науч.-исслед. журн. 2022. № 5–1 (119). С. 162–167. [Cherkasova E.E., Lavrent'eva G.V., Synzynys .BI. Experimental observation of half lethal dose determinant for terrestrial mollusk *Fruticola Fruticum* // International Research Journal. 2022. № 5–1 (119). P. 162–167. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.119.5.067>
 14. Khyzhnyak S., Sterlikova O., Poloschik S. et al. Studies of Ecotoxicity of Herbicides to Influence the Soil Fauna // Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. 2017. V. 1. P. 221–225.
 15. Зотин А.А. Закономерности роста и энергетического обмена в онтогенезе моллюсков: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2009. 30 с. [Zotin A.A. Zakonomernosti rosta i energeticheskogo obmena v ontogeneze molluskov [dissertation]. M., 2009. 30 p. (In Russ.)]
 16. Сергеева Н.Г., Заика В.Е., Михайлова Т.В. Питание гребневика *Mnemiopsis Mccradyi* в условиях Черного моря // Экология моря. 1990. Т. 35. С. 18–22 [Sergeeva N.G., Zaika V.E., Mikhailova T.V. Nutrition of ctenophore *Mnemiopsis Mccradyi* under conditions of the Black Sea // Ecology of the Sea. 1990. V. 35. P. 18–22 (In Russ.)]
 17. Рунатти П.О., Кауфман Б.З., Руоколайнен Т.Р. и др. Связь термопреферентного поведения кустарниковой улитки (*Bradybaena Fruticum*, *Stylommatophora*, *Bradybaenidae*) с содержанием липидов // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 4. С. 387–392 [Ripatti P.O., Kaufman B., Ruokolainen T.R. et al. Svyaz' termopreferentnogo povedeniya kustarnikovoju ulitki (*Bradybaena Fruticum*, *Stylommatophora*, *Bradybaenidae*) s soderzhaniem lipidov // Zoologicheskij zhurnal. 2008. V. 87. № 4. P. 387–392. (In Russ.)]
 18. Хлебович В.В. Адаптивные реакции организма в меняющейся среде // Наука – школе: Сб. науч. публикаций. СПб., 2017. С. 33–46. [Hlebovich V.V. Adaptivnye reakcii organizma v menyayushcheysya srede // Nauka – shkole: Sbornik nauchnyh publikacij. Sankt-Peterburg, 2017. P. 33–46. (In Russ.)]
 19. Березкина Г.В., Аракелова Е.С. Жизненные циклы и рост некоторых гребнежаберных моллюсков (Gastropoda: Pectinibranchia) в водоемах Европейской части России // Тр. Зоологического ин-та РАН. 2010. Т. 314. № 1–2. С. 80–92. [Beryozkina G.V., Arakelova E.S. The life-cycles and growth of some comb-branchial molluscs (Gastropoda: Pectinibranchia) in the ponds of the European part of Russia // Proc. Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences. 2010. V. 314. № 1–2. P. 80–92. (In Russ.)]
 20. Снегин Э.А., Тищенко А.Ю. Многолетняя динамика морфогенетических показателей наземного моллюска *Cepaea Vindobonensis* (Gastropoda, Pulmonata, Helicidae) в памятнике природы “Бекаряковский бор” (Россия) // Nature Conservation Research. Заповедная наука. 2021. № 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mноголетnyaya-dinamika-morfogeneticheskikh-pokazateley-nazemnogo-mollyuska-cepaea-vindobonensis-gastropoda-pulmonata-helicidae-v> (дата обращения: 16.11.2022) [Snegin E.A., Tishchenko A.Yu. Long-term dynamics of morphogenetic indicators of the terrestrial mollusk *Cepaea Vindobonensis* (Gastropoda, Pulmonata, Helicidae) in the Bekaryukovsky Bor natural monument, Russia // Nature Conservation Research. 2021. № 3. (In Russ.)]
 21. Kuźnik-Kowalska E., Lewandowska M., Pokryszko B.M. et al. Reproduction, growth and circadian activity of the snail *Bradybaena fruticum* (O.F. Müller, 1774) (Gastropoda: Pulmonata: Bradybaenidae) in the laboratory // Central Eur. J. Biol. 2013. V. 8. P. 693–700. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0182-5>
 22. Козминский Е.В. Сезонная динамика размножения и репродуктивные показатели *Bithynia tentaculata* (Gastropoda, Prosobranchia) // Зоол. журн. 2003. Т. 82. № 3. С. 325–331 [Kozminsky E.V. Seasonal dynamics of reproduction and reproductive parameters of *Bithynia Tentaculata* (Gastropoda, Prosobranchia) // Zoological Journal. 2003. V. 82. № 3. P. 325–331 (In Russ.)]

23. Сарapultseva E.И., Малина Ю.Ю., Сарapultsev B.И. Линейно-пороговые эффекты γ -облучения *Daphnia magna* в диапазоне малых доз // Радиация и риск (Бюлл. Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2007. Т. 16. № 2–4. С. 33–38 [Sarapultseva E.I., Malina Ju.Yu., Sarapultsev B.I. Linear threshold effects of *Daphnia magna* γ -irradiation at low doses // Radiation and risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Register). 2007. V. 16. № 2–4. P. 33–38. (In Russ.)]
24. Кузьменко Е.В. Современные подходы к определению групповой и индивидуальной радиочувствительности организма // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2011. Т. 24 (63). № 1. С. 109–122 [Kuz'menko E.V. Sovremennye podhody k opredeleniyu gruppovoy i individual'noj radiochuvstvitel'nosti organizma // Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, himiya. 2011. V. 24 (63). № 1. P. 109–122. (In Russ.)]
25. Фомичева Е.М., Семерной В.П. Видовой состав и выживаемость водных беспозвоночных малой реки в условиях пересыхания и промерзания грунта // Биология внутренних вод. 2015. № 1. С. 53 [Fomicheva E.M., Semernoy V.P. Species composition and survival of aquatic invertebrates of the small river in conditions of soil drying and freezing // Inland Water Biology. 2015. V. 8. № 1. P. 47–53. (In Russ.)]
26. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х. Резистентность, стресс, регуляция. Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1990. 237 с [Yakovlev G.M., Novikov V.S., Havinson V.H. Rezistentnost', stress, regulaciya. Leningrad: Nauka, Leningradskoe otdelenie, 1990. 237 p. (In Russ.)]
27. Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др. Терапевтический эффект длительного применения мелатонина на течение и летальный исход экспериментальной острой лучевой болезни // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 2013. Т. 156. № 12. С. 738–740. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Yu. et al. Terapevticheskij effekt dlitel'nogo primeneniya melatonina na techenie i letal'nyj iskhod eksperimental'noj ostroj luchevoj bolezni // Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny. 2013. V. 156. № 12. P. 738–740 (In Russ.)]
28. Гудков И.Н., Кудяшева А.Г., Москалёв А.А. Радиобиология с основами радиоэкологии: Учебное пособие. Сыктывкар: Изд-во СыктГУ, 2015. 512 с. [Gudkov I.N., Kudyasheva A.G., Moskalyov A.A. Radiobiologiya s osnovami radioekologii: Uchebnoe posobie. Syktvykar: Izd-vo SyktGU, 2015. 512 p. (In Russ.)]
29. Лазаревич Н.В., Сергеева И.И., Лазаревич С.С. Радиобиология: курс лекций. В 4 ч. Ч. 3. Радиобиология животных и человека. Горки: БГСКХА, 2012. 103 с. [Lazarevich N.V., Sergeeva I.I., Lazarevich S.S. Radiobiologiya: kurs lekcij. V 4 ch. Ch. 3. Radiobiologiya zhivotnyh i cheloveka. Gorki: BGSKHA, 2012. p. (In Russ.)]

The Effect of γ -Irradiation on Mortality and Biomass of the Terrestrial Mollusk *F. fruticum* M.

E. E. Cherkasova^{a, #}, G. V. Lavrentyeva^{a, b}, B. I. Synzynys^a, O. A. Mirzeabasov^a, and A. N. Pavlov^c

^aObninsk Institute for Nuclear Power Engineering, branch of the National Research Nuclear University MEPhI, Obninsk, Russia

^bBauman Moscow State Technical University (Kaluga Branch), Kaluga, Russia

^cRussian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia

[#]E-mail: Caterinacherkasova@yandex.ru

The results of the study of relevant indicators of mortality and biomass after γ -irradiation in the dose of 10–300 Gy of the terrestrial mollusk *F. fruticum* M. are presented. Mollusks of the second age group were selected. The age of the mollusks was determined by the number of revolutions of the shell. The conditions of keeping the mollusk in the laboratory were experimentally selected in such a way that the survival rate in the control group was 100%. The duration of the experiment (210 days) and the range of radiation doses (10–300 Gy) made it possible to establish the LD_{50/60} index for a terrestrial mollusk of the second age group. It is 115.6 ± 33.8 Gy. LD_{50/60} was determined by the calculated method of probit analysis using the least squares method. Three dose ranges (10–100, 110–170 and 180–300 Gy) of changes in the studied relevant indicators were established. For each time range, starting from 60 days after irradiation, a linear threshold dependence with three dose ranges was established: a dose-independent plateau at low radiation doses, a dose-dependent range with an increase in the radiation dose, and a dose-independent plateau when absolute mortality occurs.

Keywords: terrestrial mollusk, relevant indicator, LD50/60, mortality, biomass, laboratory experiment, probit analysis method