

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО АНАЛИЗА *Anadara* sp. cf. *Anadara inaequalvis* (Bivalvia) В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

© 2013 г. Г. А. Колючкина¹, Д. М. Милютин²

¹Институт океанологии им. П. П. Ширшова РАН, Москва

²Научно-исследовательский институт Зенкенберга, Германский центр по изучению морского биоразнообразия, Вильгельмсхафен, Германия

e-mail: galka.sio@gmail.com, miljutin@yahoo.com

Поступила в редакцию 05.03.2012 г., после доработки 04.06.2012 г.

В 2005–2007 гг. были исследованы популяционная динамика и морфо-функциональные характеристики (концентрация гемоцитов в гемолимфе и уровень гистопатологий) двустворчатых моллюсков *Anadara* sp. cf. *Anadara inaequalvis* Северо-Кавказского побережья Черного моря. В мае 2007 г. были отмечены резкое снижение численности моллюсков и превышение норм по кадмию в их мягких тканях, а также в донных осадках. За полгода до появления популяционных эффектов у анадар были отмечены морфо-функциональные изменения (снижение концентрации гемоцитов в гемолимфе, повышенное содержание “коричневых” клеток в соединительной ткани и гранул липофусциноподобного пигмента в эпителии пищеварительной железы), последствия негативного внешнего воздействия, предположительно интоксикации моллюсков кадмием. Таким образом, морфо-функциональные изменения индивидуальных моллюсков могут стать перспективным инструментом в ранней диагностике влияния загрязняющих веществ на донные экосистемы.

DOI: 10.7868/S003015741301005X

1. ВВЕДЕНИЕ

Контроль за разовыми сбросами загрязняющих веществ в прибрежную зону Северо-Кавказского побережья Черного моря (сточные воды — ливневые канализации в Анапе и Геленджике [5, 20], стоки с полей, периодически повторяющиеся аварии на судах [10]) является в современных экономических условиях нерешенной проблемой. Основными способами выявления разовых сбросов загрязняющих веществ в РФ традиционно остаются химические (содержание загрязняющих веществ в организмах, донных осадках, воде) и экологические методы (биотестирование, биоиндикация) (СНиП 11-02-96; СП 11-102-97) [15, 16]. Однако химические методы анализа воды и донных осадков не позволяют учесть возможных синергических и антагонистических взаимодействий отдельных загрязняющих веществ друг с другом [32]. Так, например, совместное воздействие ионов меди (до 6.0 мкг/л) и серебра (до 11.0 мкг/л) приводит к взаимному ослаблению токсического эффекта на эмбрионы тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* [27], а совместное воздействие меди и цинка, напротив, вызывает усиление токсического эффекта [31].

Метод биотестирования также не всегда оказывается эффективным, в частности, при оценке качества изменчивой морской среды. Так, для прибрежной зоны Северо-Кавказского побере-

жья Черного моря показано, что загрязняющие вещества из точечного источника могут разноситься течениями на десятки километров в первые часы после сброса [13]. При этом местонахождение таких точек может быть неочевидным. Проведение исследований токсичности воды будет результативным в районе источника загрязнения только в первые часы после сброса, в противном случае концентрации загрязняющих веществ в области источника могут снизиться до фоновых значений, а пятно загрязнения будет унесено с прибрежными течениями в другие районы. Необходимо отметить, что при этом произойдет и значительное растворение загрязняющего вещества морскими водами [13]. Таким образом, биоиндикаторные исследования с использованием лабораторных культур гидробионтов оказываются эффективными в весьма ограниченных условиях, кроме того, они дают информацию о токсичности воды, но не позволяют судить о дальнейшей судьбе местной фауны.

Другим способом выявления разовых сбросов в условиях высокой скорости переноса в прибрежной зоне могут быть биоиндикаторные исследования донных экосистем, поскольку бентосные сообщества являются хорошим интегральным показателем состояния экосистемы в целом [1]. Однако использование этого метода также имеет ряд ограничений. Так, например, на

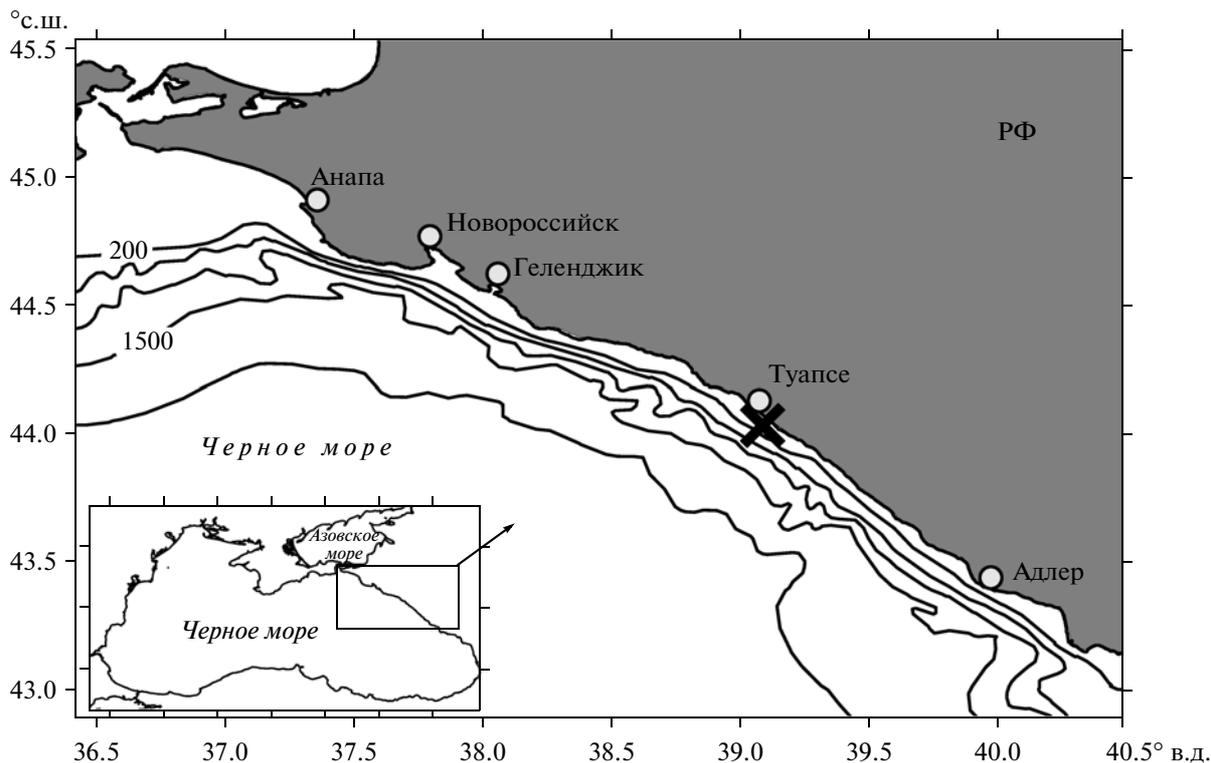


Рис. 1. Район сбора материала (отмечен косым крестиком).

Северо-Кавказском побережье Черного моря в результате инвазии аллохтонных видов и бенто-планктонных взаимодействий наблюдаются значительные колебания численности и биомассы донных организмов [6, 26]. На этом фоне выявить появление и динамику видов-биоиндикаторов, а также однозначно связать изменения в структуре сообществ с загрязнением оказывается сложной задачей.

Здесь мы предлагаем применение дополнительных подходов, связанных с оценкой свойств индивидуальных организмов, доминантов донных сообществ [2, 4]. Использование таких методов пока не получило распространения в отечественной практике мониторинга. Поэтому главной задачей данного исследования стало сравнение эффективности методов морфо-функциональной диагностики отдельных гидробионтов и традиционных подходов для оценки и прогноза состояния донных сообществ: анализ динамики изменения популяционной структуры разных видов, химический анализ донных осадков и мягких тканей моллюсков.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследований — двустворчатый моллюск анадара, тихоокеанский вселенец [28], систематическое положение которого в настоящее

время не определено [8]. Эти моллюски широко распространились по побережью Черного моря на песчаных и илистых грунтах [35] и вытеснили с прежних местообитаний автохтонные виды двустворчатых моллюсков (например, *Chamelea gallina*) [18]. Анадара, кроме того, является промысловым видом, ее запасы только в выбранном районе исследования оценивают примерно в 1.5 тыс. тонн [9]. Поэтому изучение динамики отдельных скоплений анадары является, кроме всего прочего, важной самостоятельной задачей для выявления потенциальных объектов промысла.

Район исследования и схема отбора проб. Исследования проводили в районе пос. Шепси на Северо-Кавказском побережье Черного моря в 2005–2007 гг. (рис. 1) на глубине 9 м. Отбор проб моллюсков и натурные наблюдения проводили каждые полгода, начиная с мая 2005 г. и по август 2007 г. с использованием легководолазного снаряжения.

Оценку популяционных показателей проводили водолажным способом. При движении водолаза-исследователя по трансекте длиной 100 м отмечались глубина и характер грунта, а также количество особей анадары справа и слева от трансекты на расстоянии 0.5 м. Кроме того, наблюдали рефлекс смыкания створок на прикосновение к мантии.

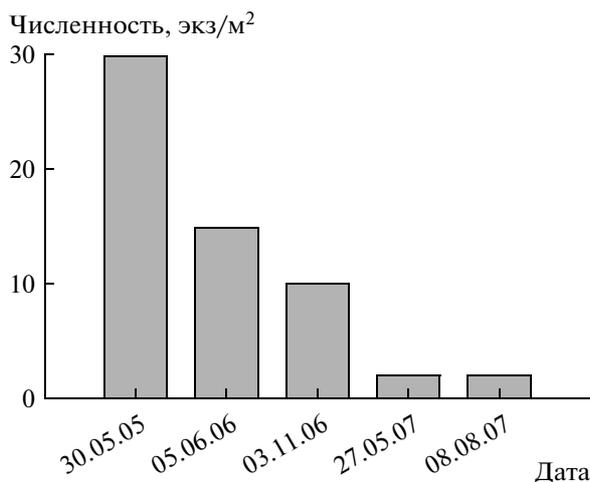


Рис. 2. Динамика численности *Anadara sp. cf. Anadara inaequivalvis* в районе пос. Шепси в 2005–2007 гг.

Исследование содержания тяжелых металлов (ТМ) (кадмия, меди, никеля и свинца) в мягких тканях анадар и донных осадках проводилось сотрудниками ГОИН с использованием атомно-адсорбционного спектрометра SpectrAA-800, а также сотрудниками Кафедры химии почв Факультета почвоведения МГУ с использованием атомно-адсорбционного спектрометра ContrAA300 (Analytik Jena). Для анализа использовали моллюсков тотально. Нормы и результаты полевых исследований по содержанию ТМ в моллюсках приведены для сырого веса. Для анализа на содержание тяжелых металлов отбирали по 3–10 моллюсков.

Исследование морфо-функциональных характеристик двустворчатых моллюсков. В качестве способа диагностики состояния моллюсков были выбраны следующие стандартные методики, используемые для контроля качества морепродуктов и адаптированные для черноморских моллюсков: анализ гистопатологий и концентрации гемоглобина в гемолимфе [2, 3, 4].

Для анализа концентрации гемоглобина в гемолимфе отбирали по 10 моллюсков с точки, для гистологического анализа – по 30 моллюсков. Исследование биомаркерных характеристик проводили согласно методикам, описанным в статье Колючкиной и Исмаилова [4].

Статистическая обработка данных. Для оценки степени попарного сходства/отличия данных использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни ($p < 0.05$).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Популяционная динамика. Численность анадар в районе пос. Шепси в мае 2005 г. составляла 30 экз/м². До ноября 2006 г. наблюдалось посте-

пенное снижение этого значения до 10 экз/м². В мае 2007 г. численность моллюсков резко снизилась в 5 раз до 2 экз/м². Такие же значения были отмечены в августе 2007 г. (рис. 2).

Поведение и распределение. Донные осадки в исследуемом районе были представлены сильно заиленными песками. По данным водолазных наблюдений до ноября 2006 г. анадары были погружены в грунт на 80%, оставляя на поверхности только края створок. При этом они резко захлопывали створки в ответ на прикосновение к краю мантии в 100% случаев.

В ноябре 2006 г. рефлекс закрытия створок в ответ на прикосновение к ноге и мантии под водой отсутствовал у 90% обследованных особей, моллюски находились преимущественно на поверхности грунта. При поднятии на воздух моллюски смыкали створки раковины.

В мае и августе 2007 г. было отмечено присутствие створок от мертвых анадар в исследуемом районе, а выжившие моллюски были погружены в грунт и рефлекс смыкания створок присутствовал в 100% случаев.

Содержание тяжелых металлов. По результатам анализа химического состава донных осадков район поселка Шепси до 2007 г. оставался среди незагрязненных акваторий (таблица). В мае 2007 г. наблюдалось повышенное содержание кадмия в тканях моллюсков – до 2.15 мкг/г сыр. веса (норма СанПиН 2.3.2.560-96 2.00 мкг/г сыр. веса) и в донных осадках – 1.19 мкг/г сух. веса (допустимая концентрация по “Голландским листам” (Neue Niederlandische Liste) [34] 0.8 мкг/г) при средней концентрации по Северо-Кавказскому побережью Черного моря 0.97 и 0.09 мкг/г соответственно [7]. Концентрация других тяжелых металлов в донных осадках в наблюдаемые период времени не превышала Европейские стандарты (см. таблицу). Содержание этих элементов в мягких тканях моллюсков не превосходило единственного имеющегося в нашем распоряжении ориентира – норм СанПиН [14].

Концентрация гемоглобина в гемолимфе. До ноября 2006 г. содержание гемоглобина в гемолимфе анадар составляло в среднем 30491 ± 2634 кл./мкл ($N = 19$, здесь и далее: среднее \pm ст. ошибка), что соответствует норме [2, 4]. В ноябре 2006 г. было отмечено понижение концентрации гемоглобина в гемолимфе до 50% от фонового уровня, что составило 10472 ± 2412 кл./мкл ($N = 10$) (рис. 3). В 2007 г. не наблюдалось отклонений концентрации гемоглобина от нормы.

Гистопатологии. По нашим данным в 2005 г. у анадар, собранных в районе Шепси, не было отмечено патологических изменений внутренних органов. Однако в ноябре 2006 г. у всех исследованных экземпляров в соединительной ткани во-круг пищеварительной железы были обнаружены

Содержание ТМ в мягких тканях *Anadara* sp. cf. *Anadara inaequalvis* и донных осадках (ПДК по содержанию Ni в двустворчатых моллюсках по СанПиН не нормируется)

Дата сбора	Содержание ТМ в мягких тканях анадар, мкг/г сыр. веса				Содержание ТМ в донных осадках, мкг/г сух. веса			
	Ni	Cu	Cd	Pb	Ni	Cu	Cd	Pb
Май 2005 г.	0.57	4.30	0.98	0.06	21.3	9.30	0.04	8.90
Май 2007 г.	0.28	2.26	2.15	0.08	2.47	10.3	1.19	0.99
ПДК (по СанПиН)	—	30.00	2.00	10.00				
Предел содержания по “Голландским листам” (<i>Neue Niederlandische Liste</i>) [34]					35.00	35.00	0.80	85.00

скопления “коричневых” клеток, а в эпителии пищеварительной железы — желто-коричневый пигмент (рис. 4). В мае 2007 г. количество животных с такими патологическими изменениями упало до 20%, однако в 50% случаев была отмечена патологическая вакуолизация эпителиальных клеток пищеварительной железы, при которой размер вакуолей в эпителиальных клетках составлял 10 мкм и более, что больше нормы в 2 и более раз. В августе 2007 г. количество анадар с аномальной вакуолизацией увеличилось до 80%, а желто-коричневый пигмент отмечен не был.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

По нашим данным, до ноября 2006 г. численность анадар в районе пос. Шепси снижалась, уменьшаясь на 50% в год (от 30 до 15 экз/м²). При

этом состояние моллюсков не отличалось от нормы: не наблюдались ни гистопатологии, ни изменения концентрации гемоцитов в гемолимфе моллюсков, а также был выражен рефлекс смыкания створок.

В ноябре 2006 г. численность анадар снизилась всего на 33% по сравнению с маем 2006 г. При этом анализ морфо-функциональных характеристик анадар указывал на стрессовое состояние животных. Об этом свидетельствовало отсутствие рефлекса смыкания створок под водой у большинства обследованных особей, снижение в 2–2.5 раза концентрации гемоцитов у 100% моллюсков [23, 36, 39, 40], появление большого количества “коричневых” клеток в соединительной ткани вокруг пищеварительной железы и желто-коричневых гранул в пищеварительных клетках [2, 4, 42, 43, 44].

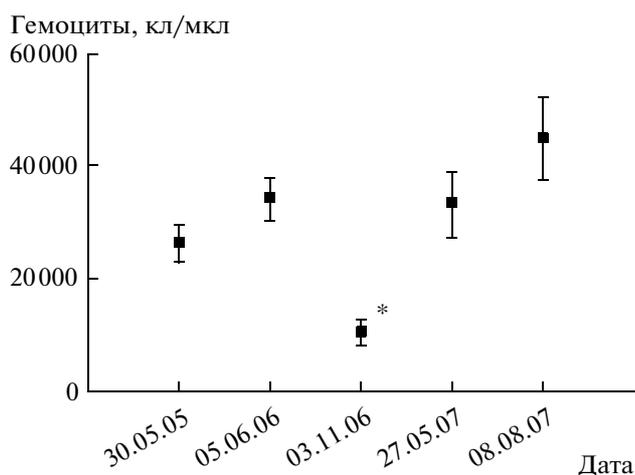


Рис. 3. Динамика гемоцитов в гемолимфе анадар в 2005–2007 гг. (среднее ± станд. ошибка). Звездочкой отмечено достоверное отличие от среднего на 95% уровне значимости.

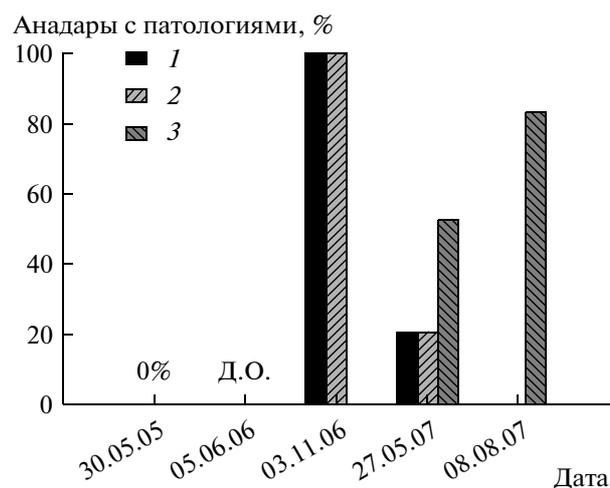


Рис. 4. Динамика гистопатологий в тканях анадар в 2005–2007 гг.

1 – “коричневые” клетки, 2 – желто-коричневые гранулы в эпителии пищеварительной железы, 3 – вакуолизация эпителиальных клеток пищеварительной железы, Д.О. – данные отсутствуют.

Уже через полгода, в мае 2007 г., популяция анадар в районе пос. Шепси сократилась в 5 раз. При этом рефлекс смыкания створок, а также концентрация гемоцитов в гемолимфе у анадар были в норме. Однако гистопатологии (аномальная вакуолизация и желто-коричневые гранулы эпителиальных клеток пищеварительной железы и аномальное количество “коричневых” клеток) указывали на присутствие в популяции 20–50% угнетенных особей. Таким образом, через полгода после стрессового воздействия у моллюсков наблюдались нарушения, схожие с ноябрьскими патологиями, но в более легкой форме и у меньшего числа анадар.

Можно с уверенностью утверждать, что в ноябре 2006 г. были зарегистрированы начальные этапы реакции анадар на воздействие негативного фактора, и, что именно это воздействие послужило причиной резкого снижения их численности в мае 2007 г. Очевидно, что стандартные методы сбора проб с последующим анализом популяционной структуры анадар в ноябре 2006 г. не позволили бы предсказать резкое снижение численности этих моллюсков в последующие полгода, поскольку они не предполагают анализа состояния отдельных особей. Анализ морфо-функциональных характеристик двустворчатых моллюсков позволил в ходе нашего исследования диагностировать ранние последствия изменения условий среды до появления популяционных и экосистемных эффектов.

Среди возможных причин зарегистрированного воздействия, вызвавшего изменения в популяции анадар, наиболее вероятными представляются следующие: резкие изменения биотических взаимодействий (например, паразитарная инвазия), изменения абиотических условий (солености, температуры, содержания кислорода), а также интоксикация моллюсков химическими веществами природного или антропогенного происхождения.

Гистологическое исследование тканей анадар не выявило паразитарных инвазий в жизненно-важных органах на протяжении всего периода наблюдений. Сильное течение в исследуемом районе и штормовая погода осенью 2006 г. обеспечивающие перемешивание воды на глубинах 4–9 м, практически исключают возможность замора от недостатка кислорода в придонном слое. Кроме того, анадары устойчивы к условиям гипоксии благодаря гемоглобин-содержащим гемоцитам, которые выполняют функцию не только переноса кислорода к тканям, но и создания его запаса [40]. Можно предположить, что изменения в популяции анадар могли быть вызваны резкими колебаниями солености или температуры вследствие повышения пресноводного стока в это время года. Однако если снижение гемоцитов в

гемолимфе моллюсков является неспецифической реакцией на стресс, вызванный любыми из перечисленных выше или иных причин, то гистопатологии, выявленные в ноябре 2006 г. и в мае 2007 г. являются специфической реакцией на интоксикацию ксенобиотиками [42, 43, 44].

Специфическим индикатором стресса, обусловленного загрязнением химическими веществами [42, 43, 44], являются многочисленные “коричневые” клетки – своеобразные “почки накопления” продуктов липидного обмена [17]. Такие изменения отмечаются у разных видов моллюсков при загрязнении среды обитания [24, 25]. Гранулы, придающие специфический оттенок “коричневым” клеткам, а также обнаруженные нами в эпителиальных клетках пищеварительной железы, по всей видимости, являются гранулами липофусцина, продукта реакций перекисного окисления автофагоцитизированных липопротеиновых мембран [4, 17, 25]. Такие изменения могут быть связаны с невозможностью катаболизировать липиды и интенсифицировать их синтез, или с нарушением нейроэндокринного контроля липидного обмена при воздействии ксенобиотиков [30, 33]. Другим последствием нарушения обмена липидов являются аномально крупные вакуоли на гистологических срезах пищеварительной железы, отмеченные в 2007 г. Они появляются при воздействии на моллюсков целого спектра органических и неорганических загрязняющих веществ и являются вторичными лизосомами, содержащими большое количество растворимых в хлороформе и вымытых при гистологической проводке липидов [22, 29, 30, 41]. Вакуолизация пищеварительной железы может усиливаться даже при кратковременном воздействии загрязняющих веществ, и сохраняться после прекращения воздействия на протяжении как минимум трех недель [3].

Таким образом, именно интоксикация ксенобиотиками, по всей видимости, оказалась основной причиной стрессового состояния анадар в ноябре 2006 г. Предположительно таким ксенобиотиком может быть кадмий, поскольку в мае 2007 г. было отмечено повышенное содержание кадмия как в мягких тканях моллюсков, так и в донных осадках. Кадмий не является эссенциальным элементом и даже в небольших концентрациях может вызывать нарушения синтеза ДНК и разделение окислительного фосфорилирования в митохондриях [11], приводя к нарушению энергетического обмена клеток [38] и вызывая патологические изменения.

Несовпадение относительного повышения концентрации этого элемента у моллюсков и в донных осадках в мае 2007 г. может указывать на время поступления кадмия в среду. У первых отклонение от фона составляло 2.2 раза, а норма

СаНПин была превышена всего на 7.5%; для вторых — два порядка, а превышение норм — 49%. Вторичное попадание кадмия в организм анадар из донных осадков могло быть затруднено из-за характера осадков в исследуемом районе (заиленный песок). Как известно, илистые осадки могут накапливать высокие концентрации ТМ в виде комплексов с органическими веществами, что значительно снижает биодоступность ТМ для сестонофагов-фильтраторов, к которым относится анадара [12, 19]. Таким образом, мы предполагаем, что загрязнение произошло перед отбором проб в ноябре 2006 г. и стало причиной многочисленных морфо-функциональных изменений, наблюдаемых у анадар. Период полувыведения кадмия у двустворчатых моллюсков может составлять от 6 до 12 месяцев [21, 37], поэтому в мае 2007 г. мог произойти частичный выход кадмия из тканей моллюсков на фоне высокого его содержания в донных осадках. Таким образом, характер наблюдающихся патологий анадар в ноябре 2006 г. и повышенное содержание кадмия в моллюсках и донных осадках указывают на то, что значительное снижение численности анадар в 2007 г. было вызвано стрессовым воздействием, связанным, по всей вероятности, с загрязнением акватории кадмием.

Несмотря на то, что для исследования был выбран объект, склонный к накоплению в организме высоких концентраций тяжелых металлов, с помощью анализа морфо-функциональных особенностей анадар удалось выявить ранние реакции индивидуальных моллюсков на негативное воздействие, проявляющиеся до популяционных изменений, а также предположить, что именно загрязнение кадмием могло стать причиной таких реакций. Этот метод позволяет глубже понять механизмы воздействия загрязняющих веществ на экосистемы, поскольку является промежуточным звеном между химическими, слишком вариabельными, и экологическими, слишком консервативными, показателями загрязненности акваторий. Однако для применения данного метода к другим гидробионтам необходима дополнительная отработка методик и стандартов.

Авторы благодарят сотрудников Лаборатории прикладной гидрохимии и аналитической химии Государственного океанографического института и сотрудника Кафедры химии почв Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова А.А. Степанова за определение концентрации тяжелых металлов в мягких тканях моллюсков.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 05-05-64329-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бурковский И.В.* Морская биогеоценология. Организация сообществ и экосистем: М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. 288 с.
2. *Колочкина Г.А., Исмаилов А.Д.* Параметры экстрапаллиальной жидкости двустворчатых моллюсков — неспецифические биомаркеры кратковременного загрязнения водной среды // *Океанология*. 2007. Т. 47. № 2. С. 233–240.
3. *Колочкина Г.А.* Биомаркеры воздействия загрязнений на двустворчатых моллюсков северо-кавказского побережья Черного моря. Дис. ... канд. биологических наук: 03.00.18. М., 2009. 119 с.
4. *Колочкина Г.А., Исмаилов А.Д.* Морфо-функциональные особенности двустворчатых моллюсков при экспериментальном загрязнении среды тяжелыми металлами // *Океанология*. 2011. Т. 51. № 5. С. 857–866.
5. *Крыленко В.В., Есин Н.В.* Загрязнение Геленджикской бухты ливневым стоком // *Экология моря*. 2001. Вып. 58. С. 69–73.
6. *Кучерук Н.В., Басин А.Б., Котов А.В., Чикина М.В.* Макрозообентос рыхлых грунтов северокавказского побережья Черного моря: многолетняя динамика сообществ // *Комплексные исследования северо-восточной части Черного моря* / Под ред. Зацепина А.Г., Флинта М.В. М.: Наука, 2002. С. 289–297.
7. *Лапшин В.Б., Сыроешкин А.В., Колесников М.В. и др.* Отчет о научно-исследовательской работе “Экспедиционные исследования загрязнения прибрежной среды российской части Черного моря” по теме ФЦП “Мировой океан” // Подпрограмма “Исследования природы Мирового океана», Черное море, V раздел отчета ГОИН. М.: ГОИН, 2003. 105 с.
8. *Лутаенко К.А.* К фауне двустворчатых моллюсков подсемейства Anadarae (Arcidae) южной Индии // *Бюллетень Дальневосточного малакологического общества*. 2006. Т. 10. С. 102–121.
9. *Милютин Д.М., Вилкова О.Ю.* Черноморские моллюски-вселенцы рапана и анадара: современное состояние популяций и динамика запасов // *Рыбное хозяйство*. 2006. № 4. С. 50–53.
10. *Натальчук С.М., Лебедева Е.С.* Состояние морской среды Черного и Азовского морей и основных водных объектов водосборного бассейна и ходе природоохранного строительства в прибрежной зоне (по данным госстатотчетности за 1994 год) // “Проблемы защиты Черного моря от загрязнения” (Материалы межведомственной комиссии по Черному морю) / Под ред. Порядина А.Ф., Заславского Е.М. М.: РЭФИА, 1996. Вып. 1. 172 с.
11. *Никифорова Т.Е.* Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания. Учебное пособие. Иваново: ГОУ ВПО “Иван. гос. хим.-технол. ун-т”, 2007. 132 с.
12. *Олифиренко А.Б.* Особенности биологии двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* в заливе Петра Великого (Японское море). Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.18, 03.00.16. Владивосток, 2007. 23 с.
13. Отчет по Федеральной Целевой Программе “Мировой океан”: тема 7 — Комплексные исследования

- ния Черного и Азовского морей. М.: Архив ИО РАН, 2004.
14. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.3.2.560-96 “Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов” (утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 24 октября 1996 г. N 27) (с изменениями от 11 октября 1998 г., 21 марта 2000 г., 13 января 2001 г.). http://www.service-holod.ru/SanPiN/Norma6_3.htm. Дата обращения 24.02.2012.
 15. Свод правил по инженерным изысканиям для строительства СП 11-102-97 “Инженерно-экологические изыскания для строительства” (одобрен Госстроем РФ от 10 июля 1997 г. N 9-1-1/69). <http://www.zodchii.ws/normdocs/info-1186.html>. Дата обращения 24.02.2012.
 16. Строительные нормы и правила СНиП 11-02-96 “Инженерные изыскания для строительства. Основные положения” (утв. постановлением Минстроя РФ от 29 октября 1996 г. N 18-77) <http://lib.ru/NTL/STROI/snip07.txt>. Дата обращения 24.02.2012.
 17. Ушева Л.Н., Ващенко М.А., Дуркина В.Б. Гистопатология пищеварительной железы двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) из юго-западной части залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2006. Т. 32. № 3. С. 197–203.
 18. Чикина М.В., Колючкина Г.А., Кучерук Н.В. “Аспекты биологии размножения *Scapharca inaequivalvis* (Bruguière) (Bivalvia; Arcidae) в Черном море” // Экология моря. 2003. Вып. 64. С. 72–77.
 19. Шкапенко В.В., Кадошиников В.М., Горлицкий Б.А. и др. Трансформация углеводородов в воде и донных осадках // Сб. научных трудов Института геохимии окружающей среды. 2007. Т. 14. С. 102–108.
 20. Якушев Е.В. Отчет по проекту ФЦП “Мировой океан”: тема 7 – Комплексные исследования процессов, характеристик и ресурсов Черного и Азовского морей. М.: Архив ИО РАН, 2004.
 21. Bebianno M.J., Langston W.J. Turnover rate of metallothionein and cadmium in *Mytilus edulis* // BioMetals. 1993. №6. P. 239–244.
 22. Bright D.A., Elis D.V. Aspects of histology in *Macoma carlottensis* (Bivalvia: Tellinidae) and in situ histopathology related to mine-tailings discharge // J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 1989. V. 69. P. 447–464.
 23. Brousseau M.E., Eberhart G.P., Dupuis J. et al. Cellular cholesterol efflux in heterozygotes for Tangier disease is markedly reduced and correlates with high density lipoprotein cholesterol concentration and particle size // J. Lipid Res. 2000. V. 41. P. 1125–1135.
 24. Byrne P.A., O’Halloran J. The use of Manila clam *Tapes semidecussatus* and *Scrobicularia plana* in sediment toxicity testing: a review // Coastal shellfish: a sustainable resource. Netherlands: Kluwer Academic Publications, 2001. P. 209–217.
 25. Byrne, P.A., O’Halloran, J. Acute and sub-lethal toxicity of estuarine sediments to the Manila Clam *Tapes semidecussatus* // J. Environmental Toxicology. 2000. V. 15. P. 456–512.
 26. Chikina M.V., Kucheruk N.V. Changes in the species structure of the Black Sea coastal benthic communities // Oceanography of the Eastern Mediterranean and Black Sea / Ed. Yilmaz A. Turkey: Ankara: Tubitak Publishers, 2003. P. 897–901.
 27. Coglianese M., Martin M. Individual and Interactive Effects of Environmental Stress on the Embryonic Development of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. I. The Toxicity of Copper and Silver // Marine Environmental Res. 1981. №5. P. 13–27.
 28. Ghisotti F., Rinaldi E. Osservazioni sulla popolazione di *Scapharca insediatasi* in quieti ultimi anni su un tratto del litorale romagnolo // Conchiglie. 1976. V. 12 (9–10). P. 183–195.
 29. Gold-Bouchot G., Sima-Alvarez R., Zapata-Perez O. et al. Histopathological effects of petroleum hydrocarbons and heavy metals on the American oyster (*Crassostrea virginica*) from Tabasco, Mexico // Marine Pollution Bulletin. 1995. V. 31. № 4. P. 439–445.
 30. Lowe D.V. Alteration in cellular structure of *Mytilus edulis* resulting from exposure to environmental contaminants under field and experimental conditions // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1988. V. 46. P. 91–100.
 31. Mac Innes J.R. Response of embryos of the american oyster, *Crassostrea virginica*, to heavy metal mixtures // Mar. Environ. Res. 1981. № 4. P. 217–227.
 32. Magaud H., Migeon B., Morfin P. et al. Modeling fish mortality due to urban storm run-off: interacting effects of hypoxia and un-ionized ammonia // Water Res. 1997. V. 31. P.211–218.
 33. Mathieu M. Etude experimentale du controle neuroendocrinien des cycles de development de la gonade et du tissue de reserve chez la moule adulte *Mytilus edulis* L. (Mollusque Lamellibranche): D. Sc. thesis. France: Caen, 1979. P. 337.
 34. Neue Niederlandische Liste, Altlasten Spektrum 3/95 // PTS limits and levels of concern in the environment, food and human tissues. 3. www.amap.no/documents. P. 29–32. Дата обращения 24.02.2012.
 35. Şahin C., Emiral H., Okumuş İ. et al. The Benthic Exotic Species of the Black Sea: Blood Cockle (*Anadara inaequivalvis*, Bruguiere, 1789: Bivalve) and Rapa Whelk (*Rapana thomasiana*, Crosse, 1861: Mollusc) // J. of Animal and Veterinary Advances. 2009. V. 8. № 2. P. 240–245.
 36. Sauvé S., Brousseau P., Pellerin J. et al. Phagocytic activity of marine and freshwater bivalves: in vitro exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn) // Aquatic Toxicology. 2002. V. 58. № 3–4. P. 189–200.
 37. Serafim A., Bebianno M.J. Kinetic model of cadmium accumulation and elimination and metallothionein response in *Ruditapes decussatus* // Environmental Toxicology and Chemistry. 2007. V. 26. P. 960–996.
 38. Simkis K., Mason A.Z. Metal ions: metabolic and toxic effects // The Mollusca / Ed. Hochachka P. W. New York: Academic Press, 1983. P. 101–164.
 39. Vooy C.G.N., de Zwaan A., Roos J. et al. Anaerobic metabolism of erythrocytes of the arcid clam *Scapharca inaequivalvis* (Bruguitre): effects of cadmium // Comp. Biochem. Physiol. 1991. V. 98B. № 1. P. 169–175.
 40. Weber R.E., Lykke-Madsen M., Bang A. et al. Effects of cadmium on anoxic survival, haematology, erythrocytic volume regulation and haemoglobin – oxygen affin-

- ity in the marine bivalve *Scapharca inaequivalvis* // J. Exp. Mar. Biol. 1990. V. 144. P. 29–38.
41. Wedderburn J., McFadzen I., Sanger R.C. et al. The field application of cellular and physiological biomarkers, in the mussel *Mytilus edulis*, in conjunction with early life stage bioassays and adult histopathology // Mar. Pol. Bull. 2000. V. 40. №. 3. P. 257–267.
42. Zaroogian G., Jackim E. *In vivo* metallothionein and glutathione status in an acute response to cadmium in *Mercenaria mercenaria* brown cells // Comp. Biochem. and Phys.: C Pharm. Toxi. and Endocrin. 2000. V. 127. № 3. P. 251–261.
43. Zaroogian G., Norwood C. Glutathione and metallothionein status in an acute response by *Mercenaria mercenaria* brown cells to copper *in vivo* // Ecotoxicol. and Env. Safety. 2002. V. 53. № 2. P. 285–292.
44. Zaroogian G., Yevich P., Anderson S. Effect of selected inhibitors on cadmium, nickel, and benzo(a)pyrene uptake into brown cells of *Mercenaria mercenaria* // Mari. Env. Res.. V. 1993. V. 35. № 1–2. P. 41–45.

Application of Morpho-Functional Analysis of *Anadara* sp. cf. *Anadara inaequivalvis* (Bivalve) to Environmental Monitoring

G. A. Kolyuchkina, D. M. Milyutin

The population dynamics and morpho-functional characteristics (concentration of hemocytes in the hemolymph and the level of histopathology) of bivalve *Anadara* sp. cf. *Anadara inaequivalvis* were studied in 2005–2007 at North Caucasian Black Sea coast. The dramatic decrease of bivalves abundance together with increase of cadmium concentration in bivalves tissues and bottom sediments were observed in May 2007. A half-year before population effects the morpho-functional changes (hemocytes concentration decreasing, “brown” cells in connective tissue and granules of lipofuscin-like pigment increasing) were revealed, that gave evidence of negative external impact, presumably cadmium intoxication. The morphological and functional changes in individual anadaras were showed to be a promising tool for early detection of the influence of pollutants on benthic ecosystems.