

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

МАТЕРИАЛЫ VI ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОФЕССОРА
БОРИСА АЛЕКСАНДРОВИЧА ФЛЁРОВА



**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД ИМ. И. Д. ПАПАНИНА РАН**



АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ VI ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
ПО ВОДНОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Д.Б.Н., ПРОФ. Б. А. ФЛЕРОВА,
С ПРИГЛАШЕНИЕМ СПЕЦИАЛИСТОВ ИЗ СТРАН БЛИЖНЕГО ЗАРУБЕЖЬЯ
И ШКОЛЫ-СЕМИНАРА ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ**

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ
ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

14–17 СЕНТЯБРЯ 2017 Г.

БОРОК

УДК 574.52(063) : 504.4.064(063) : 504.06(063)
ББК 28.59я4+28.69я4+20.18я4
А72

Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы : сборник материалов VI Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной 80-летию со дня рождения д.б.н., проф. Б. А. Флерова, с приглашением специалистов из стран ближнего зарубежья. Современные методы исследования состояния поверхностных вод в условиях антропогенной нагрузки : материалы школы-семинара для молодых ученых, аспирантов и студентов (Борок, 14–17 сентября 2017 г.). - Ярославль : Филигрань. – 2017. – 128 с.

ISBN 978-5-906682-94-9

В сборнике опубликованы материалы докладов конференции и школы-семинара по широкому кругу теоретических и практических вопросов водной экотоксикологии и охраны окружающей среды.

Рассматриваются судьба, биодоступность, биотрансформация, биоаккумуляция загрязняющих веществ; биохимические, физиологические поведенческие реакции гидробионтов на действие антропогенных факторов. Приведены методы и критерии оценки качества вод, состояния водных экосистем и водных объектов, проблемы регионального нормирования.

Для широкого круга специалистов: токсикологов, гидробиологов, экологов, гидрохимиков, ихтиологов, зоологов, альгологов.

Материалы сборника размещены на сайте ИБВВ РАН: <http://www.ibiw.ru>

Материалы печатаются в авторской редакции.

Компьютерная верстка: И. В. Чалова, Е. А. Заботкина, И. И. Томилина.

Фото на обложке: Б. А. Флеров в рабочем кабинете.

УДК 574.52(063) : 504.4.064(063) : 504.06(063)
ББК 28.59я4+28.69я4+20.18я4

ISBN 978-5-906682-94-9

© Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, 2017

МЕТОДИКО-МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОД ПО НАБОРУ БИОТЕСТОВ

Е.Н. Бакаева

*Институт водных проблем РАН, Гидрохимический отдел, rotaria@mail.ru
Южный федеральный университет, Институт наук о Земле
ФГБУ «Гидрохимический институт», 344090, г.Ростов-на-Дону, Россия*

Рассматриваются вопросы необходимости выхода методологии биотестирования на новый уровень.

Оценка эколого-токсикологического состояния водных объектов невозможна без данных оценки интегральной токсичности с помощью биотестирования. Этот тезис опирается на богатый мировой опыт и соответствует современным представлениям, подтверждаемым нормативно-методическими и нормативными документами. Система контроля, основанная на дифференцированном определении концентрации контролируемых загрязняющих веществ, как и методы биоиндикации и биотестирования, используемые отдельно, не могут давать реальной оценки состояния водных экосистем. Биотестирование в России в настоящее время нашло широкое применение в практике оценки токсичности поверхностных вод и донных отложений. На получение адекватной оценки изменений состояния поверхностных водных объектов по качественным показателям состояния водных ресурсов с помощью биотестирования указано в Постановлении Правительства РФ № 219.

Методология современной гидроэкологии по оценке качества поверхностных вод включает следующие направления: аналитические методы, биоиндикацию, биотестирование. В последнее десятилетие активно развиваются приборные биосенсорные методики, чувствительным элементом которых служат биомаркеры – функциональные показатели различных уровней живого. Отмечаемые в каждом из направлений положительные и отрицательные характеристики не являются абсолютными. Их проявление зависит от методологии исследования качества поверхностных вод, и при комплексном их применении сводится к минимуму.

В условиях современного антропогенного воздействия экосистемы водных объектов изменяются быстрее, чем накапливается информация об этих изменениях, в то время как такая характеристика поверхностных вод, как токсичность, очень динамична. Кроме того, как показывает многолетний опыт разработки методик биотестирования и их практического использования при исследовании токсичности поверхностных вод, одна и та же исследуемая проба часто оказывает различную степень воздействия (хроническое, подострое, острое токсическое действие) на разные тест-объекты. Поэтому результаты биотестовых исследований не всегда имеют однозначный характер, поскольку какое-либо вещество, или их смесь, может привести к возникновению специфических реакций у тест-объектов, особенно на клеточном или тканевом уровнях организации.

К настоящему времени разработано несколько десятков методик биотестирования. Существующие руководства, рекомендации, ПНД Ф отражают современный уровень методической базы биотестирования. Однако аспект оценки токсичности поверхностных вод полностью еще не решен, поскольку отдельная методика биотестирования с одним определённым тест-объектом даёт результат о токсическом воздействии воды исключительно на группу гидробиоты, представитель которой был использован в качестве тест-объекта. Возникла новая проблема в методологии биотестирования: создание набора методик биотестирования (biotest battery). Набор биотестов для оценки токсичности вод и донных отложений пресноводных экосистем предусматривает наблюдения с использованием центральных представителей каждого биоценоза водной экосистемы: фитопланктона, зоопланктона, зообентоса, макрофитов, бактериопланктона. Каждый тест-объект, выбранный представителем указанных биоценозов, в качестве биологического индикатора состояния пресноводных экосистем, имеет свои преимущества и недостатки, которые определяют границы его использования при решении тех или иных задач биотестирования для выявления наиболее существенных в каждом конкретном случае особенностей состояния водной экосистемы.

Каждый биотест проводят в соответствии с конкретной методикой. Основные общие методические положения биотестового анализа представлены на рисунке.

Использование набора тест-систем (biotest battery) является основой методологии биотестирования токсичности вод: при разработке нормативов токсичности отдельных веществ для водных объектов (ПДК рыбохозяйственного назначения), гигиенических нормативов питьевых вод, при оценке токсичности отдельных химических веществ, сточных, природных поверхностных и подземных вод.

Однако принципы оценки токсичности поверхностных вод отличаются от остальных, поскольку основной объект биотестирования поверхностных вод – это водная экосистема. Биотестирование позволяет определить качество среды обитания гидробиоты, т.е. качество воды, одной из характеристик которой является токсичность. Опираясь на принципы водной токсикологии, где существует оценка токсичности химических веществ и сточных вод, биотестирование подразумевает воздействие химической компоненты. Поэтому качество воды методами биотестирования принято оценивать как токсичное/нетоксичное, степень токсичности – хроническое (ХТД), подострое (ПОТД) и острое (ОТД) токсическое действие.

Руководящими документами Росгидромета Р 52.24566, РД 52.24.635, РД 52.24.662 рекомендовано при использовании набора биотестов итоговую оценку токсичности вод проводить по тест-объекту (или тест-показателю), проявившему наибольшую чувствительность. Такой способ оценки выявляет наиболее слабое звено в экосистеме, например, автотрофы из числа низших растений, фильтраторы из гетеротрофов, или один из двух использованных близкородственных видов (хлорелла и сценедесмус – представители фитопланктона).



Рис. Основные методические положения биотестового анализа

На наш взгляд принятая на сегодняшний момент оценка токсического действия вод по набору тест-объектов (Р 52.24.566, РД 52.24.635, РД 52.24.662) ужесточена и может быть использована для оценки только конкретной пробы, но не может быть распространена (использована) для оценки состояния водной экосистемы, поскольку при опоре только на наихудший показатель не учтенными остаются ответные реакции других видов, отличающихся по типу, способу питания и систематическому положению.

Методология оценки токсичности поверхностных вод и донных отложений приёмами биотестирования должна основываться на следующих принципах:

использование набора (комплекса, батареи) биотестов (biotest battery) с тест-объектами различной систематической принадлежности и трофического уровня;

последовательного применения в наборе биотестов экспрессных методик биотестирования (screening test), этологических (поведенческих тестов) и методик длительного биотестирования (prolong test).

3) опираться на знания об эколого-биологических особенностях жизнедеятельности организма при разработке и стандартизации методик биотестирования;

4) унификации и стандартизации методик биотестирования;

5) «адресном» биотестировании водных объектов с учётом особенностей их гидрохимии и климата территории для выбора и использования экологически соответствующего тест-объекта при проведении биотестирования (Р 52.24.741-2010);

6) синхронном отборе и проведении биотестового анализа токсичности проб воды и донных отложений водного объекта;

7) обязательном сравнении опытных серий с двумя контрольными – на воде из фонового (условно чистого) участка и дехлорированной водопроводной воде исследуемого региона;

8) соблюдении требований отбора и хранения проб воды и донных отложений;

9) содержании маточных культур тест-объектов в стандартных условиях;

10) проверке пригодности (готовности) тест-объекта к биотестированию по эталонному токсиканту;

11) регулярности биотестовых наблюдений исследуемого водного объекта в связи с высокой изменчивостью токсичности вод, зависящей от множества внутренних и внешних факторов;

12) комплексности исследований: биотестовые наблюдения должны использоваться как скрининг для обнаружения токсически опасных створов и участков водного объекта, т.е. предшествовать гидробиологическим (биоиндикационным) и гидрохимическим наблюдениям;

13) обязательным при обнаружении ОТД вод является определение кратности разбавления исследуемой пробы воды, снимающей токсическое воздействие. Кратность разбавления – 2; 10; 25; 50; 100 и 500 раз. Разбавление проводят водой, отобранной из фонового створа, или отстоянной дехлорированной водопроводной водой исследуемого региона;

14) итоговой оценке токсичности по результатам каждого биотеста из использованного набора.

До недавнего времени стратегия методологии биотестирования поверхностных вод включала два основных направления: 1) подбор методик (биотестов) с использованием гидробионтов, представляющих основные иерархические структуры водной экосистемы (аналогично подходу при разработке ПДК загрязняющих веществ); 2) поиск наиболее чувствительных тест-организмов и тест-показателей, позволяющих уловить низкий уровень токсического загрязнения, с вязанного с присутствием относительно низких концентраций загрязняющих веществ. К настоящему моменту на основе изучения особенностей реагирования гидробионтов различных систематических и экологических групп на воздействие токсических компонентов в составе промышленных, городских, сельскохозяйственных сточных вод, а также детального изучения эколого-биологических особенностей отдельных видов разработано около сотни методик биотестирования. Кроме того, использование набора (комплекса, батареи – biotest battery) биотестов, рекомендованных нормативно-методическими документами, выявило очень важный аспект методологии: определение итоговой оценки токсичности с учётом ответной реакции всех использованных тест-объектов. Что требует усилий в этом направлении.

В перспективе заслуживают внимания специализированные методы биотестирования. В частности, в настоящее время интенсивно развиваются биосенсорные методы выявления токсичности вод. Разрабатываются электрохимические, оптические (на основе абсорбции, флюоресценции, люминесценции), акустические и оптико-электронные приборы. Биомаркерами, т.е. чувствительными элементами в них, служат ферменты, антитела, нуклеиновые кислоты, микробные клетки. К числу явных преимуществ биосенсорных методов анализа можно отнести их направленность на определение конкретных загрязняющих веществ. При разработке новых биосенсорных методик биотестирования токсичности водной среды особое внимание в ряду тест-объектов занимают светящиеся бактерии. Природные штаммы этих бактерий, а также генно-инженерные конструкции, используют в качестве биологической основы биосенсоров – биоэлектронных систем, позволяющих в режиме on line регистрировать гибель, или изменение параметров метаболизма живых систем. Следует отметить, что современные методы генной инженерии позволяют переносить отдельные наиболее чувствительные генно-ферментные системы водных организмов в геном объектов, более удобных для практики.

Единственная универсальная методика биотестирования вряд ли может быть создана.

Поэтому перспективным направлением при биотестовом анализе токсичности поверхностных вод является грамотное формирование набора биотестов для конкретного водного объекта. А наиболее насущная проблема – разработка способа оценки токсичности поверхностных вод с учётом ответной реакции всех использованных в наборе биотестов тест-объектов.

НЕОБХОДИМОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАБОРА БИОТЕСТОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Е. Н. Бакаева^{1,2,3}, Н. А. Игнатова¹, М. Н. Тарадайко^{1,2,3}

¹Институт водных проблем РАН, Гидрохимический отдел, rotaria@mail.ru

²Южный федеральный университет, Институт наук о Земле

³ФГБУ «Гидрохимический институт», 344090, г. Ростов-на-Дону, Россия

На примере многолетних исследований токсичности вод и донных отложений водных объектов юга России продемонстрирована неоднозначность воздействия воды и донных отложений на тест-объекты разных трофических уровней и систематической принадлежности. Подчеркивается необходимость одновременного использования набора биотестов (biotest battery) с тест-объектами из числа автотрофов и гетеротрофов.

Оценка эколого-токсикологического состояния водных объектов невозможна без данных оценки интегральной токсичности с помощью биотестирования. Этот тезис опирается на богатый мировой опыт и соответствует современным представлениям, подтверждаемым нормативными документами. Так, в России в настоящее время биотестирование для оценки токсичности вод и донных отложений применяют водоохранные службы различных ведомств. На получение адекватной оценки изменений состояния поверхностных водных объектов по качественным показателям состояния водных ресурсов с помощью биотестирования указано в Постановлении Правительства РФ № 219. Кроме того материалы публикуются в докладах о состоянии окружающей среды как регионального, так и федерального уровня.

Как известно, биотестирование является основным методом при разработке нормативов ПДК химических веществ: биотестирование токсичности отдельных химических веществ с целью оценки их опасности для окружающей среды. К настоящему времени количество методик биотестирования и области их применения расширились. Они нашли широкое применение для характеристики эколого-токсикологического состояния и экологического благополучия водной экосистемы.

Методики биотестирования являются универсальными, позволяя с помощью одного биотеста выявлять токсичность в обоих компонентах водной экосистемы и определять её степень. Что немаловажно – биотесты экспрессны, то есть позволяют оценить токсичность за короткий промежуток времени – до получаса. Кроме того биотесты чувствительны, имеют низкую себестоимость и способны выходить на приборный уровень, в том числе поддаются автоматизации. Биотестирование не даёт информацию о химической природе загрязняющих веществ, однако позволяет с достаточной долей достоверности определить степень интегральной (суммарной) токсичности исследуемых компонентов водной экосистемы.

Биотестовый анализ воды проводят с целью установления токсичности воды и определения её степени. Различают острое, подострое и хроническое токсическое действие воды на тест-объекты, которые принадлежат к числу представительных видов водной экосистемы. В соответствии с руководящими документами и рекомендациями Росгидромета Р 52.24.566 [1], РД 52.24.635 [2], РД 52.24.662 [3] биотестирование проводят на нескольких тест-объектах, либо согласно РД 52.24.662 с помощью набора биотестов (biotest battery) на основе тест-показателей одного тест-объекта. Однако окончательную оценку о токсическом действии исследуемых сред проводят согласно нормативно-методическим документам по «наихудшему» результату биотестирования, т.е. тест-объекту или тест-показателю, проявившему наибольшую чувствительность. Например, из рекомендуемых трёх тест-объектов (микроводоросли, инфузории, дафнии). Или по тест-показателям одного тест-объекта: пищевой активности, гибели, и плодовитости коловраток; фотосинтезу, концентрации хлорофилла, интенсивности прироста микроводорослей. На наш взгляд последний вариант окончательной оценки более полно отражает реальную картину токсичности. Но наиболее точную оценку можно получить по комплексу показателей гибели и плодовитости тест-объекта в сочетании с экспозицией биотеста (РД 52.24.662), поскольку плодовитость является наиболее значимой характеристикой для сохранения и процветания популяции.

Для токсикологической оценки загрязнения пресноводных экосистем на основе биотестирования водной среды в рамках системы мониторинга ПВС Росгидромета рекомендовано использовать шесть видов тест-объектов: дафний, цериодафний, водорослей, простейших, коловраток, рыб.

По результатам многолетних биотестовых исследований по оценке токсичности поверхностных вод продемонстрируем существенную разницу в отклике разных тест-объектов на токсическое загрязнение.

Объектом наших исследований служили поверхностные воды бассейна Нижнего Дона: водные объекты в пределах урбанизированных территорий, малые реки бассейнов р. Северский Донец и Тузлов, находящихся в пределах Восточного Донбасса на территории Ростовской области, Цимлянское водохранилище. Исследования выполнены в составе комплексных экспедиций Гидрохимического (Южного) отдела ИВП РАН, ФГБУ «Гидрохимический институт», Институт наук о Земле Южного федерального университета, а также в ходе инициативных исследований.

Токсичность вод и донных отложений изучали с использованием семи тест-объектов, принадлежащих к различным трофическим уровням и систематическим группам: микроводоросли *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, высшие растения *Raphanus sativus* [4], инфузорий *Paramecium caudatum*, коловраток *Brachionus calyciflorus*, ракообразных *Daphnia magna*, личинок хирономид *Chironomus plumosus* [2]. Биотесту по фитотоксичности поверхностных вод в отношении высших растений уделяется всё более пристальное внимание. Тест-объектами при этом биологическом анализе являются семена высших растений, как правило, представители сельскохозяйственных культур, в частности, редис бело-розовый *Raphanus sativus*.

Тест-показателями воздействия вод и донных отложений служили гибель рачков, хирономид, трофическая активность, гибель и плодовитость коловраток, коэффициент прироста микроводорослей и метрические (длина корней и стеблей) и биологические (всхожесть, количество ростков) характеристики редиса. Рассчитывали отклонения получаемых значений тест-показателей от контроля. Отклонения со знаком плюс свидетельствуют о стимулирующем действии, со знаком минус – об угнетающем действии исследуемых вод. Воды и донные отложения оценивали как оказывающие/неоказывающие острое (ОТД), подострое (ПОТД), хроническое (ХТД) токсическое действие. В качестве контроля использовали дехлорированную водопроводную воду.

В пределах урбанизированных территорий в течении ряда лет изучали токсичность вод участка реки Дон в черте г. Ростов-на-Дону, озера Голубое, реки Темерник, находящихся под прессингом промышленной и рекреационной нагрузки мегаполиса.

Исследование токсичности вод и донных озера Голубое, испытывающего рекреационную нагрузку, показало результативность оценки токсичности и состояния его экосистемы за девятилетний период только с помощью биотестового анализа. Результаты, биотестирования свидетельствуют о значительном сокращении сроков появления токсического действия, не только вод, но и донных отложений водоемов, используемых в рекреационных целях, произошедшее всего за девять лет [5]. В использованном наборе биотестов и тест-показателей наиболее чувствительным оказался тест-показатель плодовитость коловраток.

Бассейн каждой реки представляет собой уникальную экосистему. Высокая концентрация водоемких отраслей хозяйства и интенсивное использование водных ресурсов в условиях аридного климата являются особенностями территории, на которой расположен бассейн реки Дон. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о сложной экологической ситуации в бассейне р. Дон с начала 60-х годов XX века. Расширение хозяйственной деятельности человека в бассейне реки Дон вызывает изменения качественных и количественных характеристик всех ценозов водных экосистем.

В большинстве обследованных створов Нижнего Дона в 80-90-е годы вода была токсичной для лабораторных культур тест-объектов: дафний, водорослей, парамеций, коловраток. Одна и та же проба воды оказывала различное по интенсивности токсическое действие на различные тест-объекты: острое, хроническое или стимулирующее действие. Так, при биотестировании воды реки Дон на дафниях из одиннадцати проб семь оказались токсичными: в трёх было обнаружено острое токсическое действие, в четырёх – хроническое. В то же время для водорослей вода была токсичной в четырёх из пяти проанализированных проб. Чрезвычайно чувствительными к загрязнению донской воды оказались коловратки: токсичными при биотестировании оказались все пробы воды.

Воды разных участков реки имели разный характер токсического действия. Так, донская вода створов ниже г. Ростова-на-Дону угнетала рост и развитие водорослей, но в то же время часто оказывала стимулирующее действие на размножение коловраток. Токсичность обнаружена в воде десяти из одиннадцати обследованных створов реки Дон. Высокий уровень токсичности обнаружен в черте г. Ростов-на-Дону, особенно в устье притока Дона – р. Темерник. В створе «выше города» вода также была токсичной. В целом доля токсичных проб воды р. Дон с применением набора биотестов в исследуемый период была высокой и составляла более 70%.

Реки Восточного Донбасса, расположенные в западной части Ростовской области, граничат с Украиной. В бассейнах этих рек находятся города Шахты, Новошахтинск, Каменск-Шахтинский, Красный Сулин, Зверево, Белая Калитва и др. Восточный Донбасс сохраняет статус экологически проблемного региона России на протяжении многих лет. Экологическое неблагополучие здесь является следствием интенсивного техногенного воздействия на природный комплекс предприятий угольной промышленности. Начавшаяся в 90-е годы реструктуризация, основу которой составляет ликвидация нерентабельных шахт, заметно усилила негативные явления. Наиболее отрицательно это отразилось на состоянии гидросферы региона.

Предметом исследования служила токсичность вод восемнадцати малых рек бассейна р. Северский Донец и Тузлов. Створы отбора проб были сгруппированы по трём основным участкам рек: верховья, устья и ниже выхода шахтных вод (ш. в.). Кроме того, выбранные створы отражали различные виды антропогенной нагрузки: отсутствие промышленной нагрузки в верховьях рек, воздействие техногенно изменённых шахтных вод в местах ниже их выхода, хозяйственно-бытовая нагрузка населённых пунктов в устьях рек.

Наибольшую чувствительность по отношению к токсичности вод поверхностных водотоков бассейнов рек Тузлов и Северский Донец проявили автотрофные организмы. Так, наибольшее количество токсичных проб воды рек бассейна р. Тузлов выявлено на представителях высших растений - редисе *Raphanus sativus* (рис. 1), наиболее чувствительным показателем оказалась всхожесть семян. Менее чувствительным оказался биотест по приросту численности зеленых микроводорослей *Scenedesmus obliquus*. Общепринятый биотест с тест-показателем гибель ветвистоусых рачков *Daphnia magna* показал себя как наименее чувствительный. Токсичными оказались пробы воды из устьевых створов рек Большой Несветай, Атюхта, Грушевка и створов ниже выхода шахтных вод рек Аюта, Кадамовка, Грушевка.

Воды рек бассейна р. Северский Донец наибольшее токсическое действие оказывали также на автотрофные организмы, однако максимальной чувствительностью характеризовались микроводоросли. Вторым по чувствительности выступил редис, токсическое действие было выявлено по метрическим показателям. Минимально восприимчивыми к токсическому действию поверхностных вод бассейна р. Северский Донец оказались дафнии. Токсичность была выявлена также в устьях рек Быстрая и Большая Гнилуша и местах ниже выхода шахтных вод.

Река Грушевка, являющаяся крупнейшим притоком р. Тузлов, по результатам исследований донных отложений в пределах г. Шахты охарактеризована как наименее благополучная в плане токсичности. Биотестовому анализу подвергли неизмененные донные отложения и их водные вытяжки. Биотестовый набор включал четыре тест-объекта: микроводоросли *Scenedesmus obliquus*, ветвистоусых рачков *Daphnia magna*, коловраток *Brachionus calyciflorus* и личинок комаров-звонцов *Chironomus plumosus*.

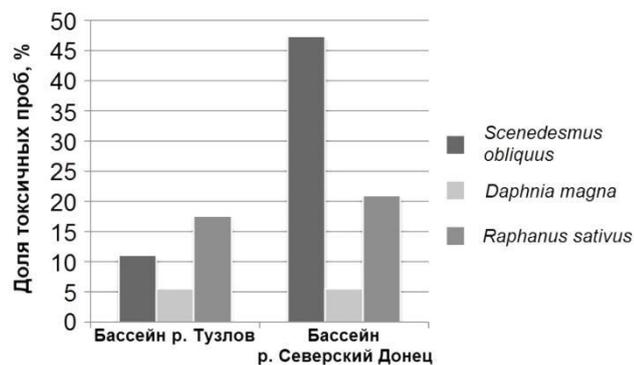


Рис. 1. Количество токсичных проб воды малых рек бассейнов рек Тузов и Северский Донец по набору биотестов.

Анализ данных по приросту численности микроводорослей в водных вытяжках донных отложений показал некоторое угнетение прироста численности (от -0.9 до -27.2 %) во всех пробах на протяжении всего эксперимента (рис.2). Невысокий прирост микроводорослей на фоне значительного превышения плодовитости коловраток от контроля может свидетельствовать более в пользу не органического, а бактериального загрязнения.

Хируномиды – обитатели дна водоемов, наиболее экологически адекватный объект для оценки токсичности донных отложений. Динамика выживаемости хируномид, как и выживаемость дафний, сохранялась на уровне 80–100 %. Такие результаты так же характеризуют отсутствие токсичности донных отложений.

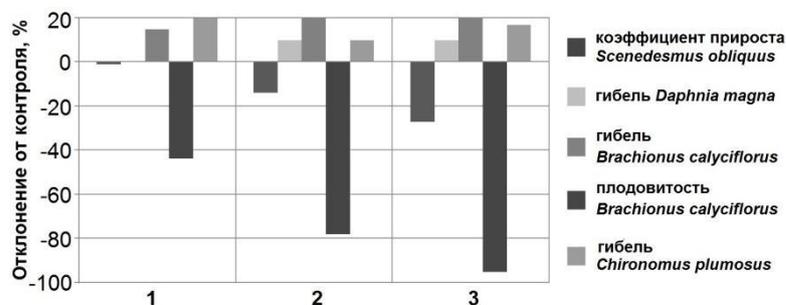


Рис. 2. Токсичность донных отложений различных участков р. Грушевка (1– мост; 2 – середина; 3 – конец) по набору биотестов.

Анализ экспериментальных данных показал неоднозначность результатов биотестирования донных отложений р. Грушевка на использованных тест-объектах. Показатель выживаемости и хируномид, и коловраток, а так же показатель прироста численности микроводорослей показали отсутствие токсического действия исследуемых проб донных отложений. Наиболее экологически соответствующий тест-объект хируномиды по показателю выживаемости во всех трех пробах показал отсутствие токсического действия. Наиболее чувствительным оказался тест-показатель плодовитость коловраток. Значительное угнетение этого показателя свидетельствует о наличии токсического действия.

По набору биотестов было выявлено наличие и усиление токсичности в водной экосистеме Цимлянского водохранилища. Цимлянское водохранилище – одно из крупнейших искусственных водоемов Юга России. Оно создано в 1952-1953 гг. перекрытием плотиной реки Дон в нижнем течении у г. Цимлянска. Это – водохранилище многоцелевого использования и является важнейшим звеном технической водохозяйственной схемы бассейна Нижнего Дона, обеспечивает транзитное судоходство по Волго-Донскому каналу, выработку электроэнергии Новочеркасской ГРЭС и Цимлянской ГЭС, орошение земель в засушливых районах Ростовской области (РО), служит основным рыбохозяйственным фондом Азово-Донского бассейна, используется для рекреации.

Основой для анализа послужили результаты экспедиционных исследований Южного отдела Института водных проблем РАН, проведенных в 2006, 2007, 2011, 2012, 2013 годах. Токсичность вод методом исследования методом биотестирования с использованием 4 тест-объектов (коловратки *Brachionus calyciflorus*, инфузории *Paramecium caudatum*, ветвистоусые рачки *Daphnia magna*, микроводоросли *Scenedesmus obliquus*). Работы выполнялись в соответствии с методиками (РД 52.24.566-94; РД 52.24.662-2004). Наблюдения проводили на вертикалях приплотинной части Цимлянского водохранилища.

Результаты биотестовых исследований вод водохранилища свидетельствуют об их неоднозначном токсическом действии на разных вертикалях и в различные годы. Так, в мае 2007, июне 2013 года вода всех вертикалей оказывала острое токсическое действие. Ответная реакция всех тест-объектов на воздействие проб воды была практически одинаковой и свидетельствовала об остром токсическом действии вод. Однако наибольшему угнетению были подвержены микроводорослевые тест-объекты (показатель коэффициента прироста численности клеток). Воды вертикали 20 только августе 2011 и 2013 гг. оказывали токсическое действие. В то время воды вертикали 19 были токсичны на протяжении всего периода исследований.

Токсичность вод – характеристика очень динамичная, зависящая от многих факторов, и по-разному влияющая на представителей биоты, требует использования набора биотестов. Набор биотестов с тест-объектами разных трофических уровней и систематической принадлежности позволяет получить наиболее объективную информацию о токсичности исследуемых вод. В качестве тест-объектов необходимо использовать автотрофные организмы из представителей как низших (микроводоросли), так и высших растений и гетеротрофные организмы из представителей гидробионтов с коротким жизненным циклом, позволяющим в краткие сроки (3-4 суток) получить данные о плодовитости - наиболее важном показателе сохранения популяции в условиях негативного антропогенного воздействия. Наиболее адекватным является одновременное использование представителей автотрофов и гетеротрофов при анализе токсичности одной пробы воды или донных отложений. Использование набора биотестов дает возможность определять уровень интегральной токсичности вод, следить в динамике за процессами самоочищения и восстановления вод.

Список литературы

1. РД 52.24.566-94. Методы токсикологической оценки загрязнения пресноводных экосистем. М.: ФСР Госкомгидромета, 1994. 129 с.
2. РД 52.24.635-2002 Методические указания. Проведение наблюдений за токсическим загрязнением донных отложений в пресноводных экосистемах на основе биотестирования. М.: Мет. аг-во Росгидромета, 2002. 30 с.
3. РД 52.24.662-2004 Оценка токсического загрязнения природных вод и донных отложений пресноводных экосистем методами биотестирования с использованием коловраток. М.: Мет. аг-во Росгидромета, 2006. 60 с.
4. ГОСТ Р ИСО 22030-2009 Качество почв. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений.
5. Бакаева Е.Н., Никаноров А.М., Игнатова Н.А. Место биотестовых исследований донных отложений в мониторинге водных объектов// Наука Юга России Т. 5 №2. Ростов-на-Дону: Изд. Южн. научн. центра. 2009. С. 84-93.
6. Бакаева Е.Н., Игнатова Н.А. Экоотоксичность вод Цимлянского водохранилища в период цветения синезеленых микроводорослей// Глобальная Ядерная Безопасность № 4 (5) М.: Нац. исслед. ядерный университет "МИФИ". - 2012, С. 14-19.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВКЛАДА В «УГЛЕВОДОРОДНЫЙ ИНДЕКС» ЭНДОГЕННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ ТОРФЯНЫХ ОЗЕР

Е. С. Бродский, А. А. Шелепчиков, Е. Я. Мир-Кадырова., Г. А. Калинкевич

*ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
119071 Москва, Россия, eco-analit@mail.ru*

С помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии проведен анализ битумов, выделенных из донных отложений торфяных озер, загрязненных нефтепродуктами. Для эндогенных углеводородов характерны *n*-алканы с нечетным числом атомов С в молекуле в характеристической области C₂₃-C₃₃, отсутствие характерного для нефтепродуктов «горба» на хроматограмме и «легкие» углеводороды, элюирующиеся в начальной части хроматограммы («легкие» углеводороды обычно теряются при высушивании образца). Картина распределения нечетных *n*-алканов использована для оценки вклада эндогенных углеводородов в «углеводородный индекс» с помощью метода распознавания образов.

Содержание «легких» углеводородов составляло от 50 и 300–400 мг/кг до 3500–5000 мг/кг для ряда образцов и до 26 000 мг/кг в некоторых образцах. Содержание нефтяных углеводородов и гетероатомных соединений варьировало от практически нулевых значений 30–80 мг/кг, до 20000 мг/кг и выше.

Загрязнение нефтепродуктами – один из основных видов загрязнения окружающей среды, встречающиеся как в виде повышенной концентрации нефтепродуктов, так и в виде сплошного фона загрязнения. Установление источников и природы загрязнения требует надежных методов анализа, позволяющих различать эндогенные и техногенные углеводороды.

Надежное определение нефтепродуктов осложняется рядом факторов:

Выделенные экстракты по своему составу являются смесью углеводородных соединений техногенного генезиса, т. е. собственно нефтезагрязнения, и природного генезиса – органического вещества (ОВ) почв. Этот показатель называют «углеводородным индексом», обозначая этим термином суммарное содержание неполярных или слабополярных соединений, растворимых в неполярном растворителе. Обычные методы определения углеводородного индекса, такие как весовой анализ, ИК-спектрометрия, ГХ и др., не дают возможности разделить эндогенные и техногенные углеводороды. Между тем вклад природных углеводородов может быть довольно большим [1] и его нельзя игнорировать.

Природный углеводородный фон обычно содержит маркеры растительной органики. Нативное органическое вещество почв и донных отложений обычно характеризуется наличием соединений, типичных для растительных остатков (*n*-алканы, жирные кислоты, терпеноиды и др.). В торфяных битумах содержатся алканы, терпеновые и ароматические углеводороды, а также кислородсодержащие соединения и спирты, кислоты и эфиры. При анализе такого экстракта методом инфракрасной спектрометрии углеводороды торфяных битумов будут определяться как «нефтепродукты».

Одним из признаков органического вещества современных осадков является резкое преобладание нечетных *n*-алканов ($n\text{-C}_{15} - n\text{-C}_{17}$ и $n\text{-C}_{25} - n\text{-C}_{33}$) [1]. Соотношения различных *n*-алканов, например, $n\text{-C}_{23}/n\text{-C}_{31}$, $n\text{-C}_{23}/n\text{-C}_{29}$, $n\text{-C}_{25}/(n\text{-C}_{25}+n\text{-C}_{29})$, и $n\text{-C}_{31}/n\text{-C}_{29}$, $C_{23}/n\text{-C}_{25}$ и др. использовались для оценки относительного выхода торфов из разных видов растений. Алканы с определенной длиной цепи представительны для разных групп растений, например, C_{23} и C_{25} – для сфагнового торфа, C_{27} и C_{29} – из лесных растений, C_{31} – из трав [2, 3]. Таким образом, существуют определенные аналитические признаки для идентификации составляющих эндогенного загрязнения, которые могут быть использованы и для количественной оценки их вкладов.

Нами был проведен анализ битумов, выделенных из донных отложений торфяных озер Нижневартовского района, загрязненных нефтепродуктами, с помощью информативного метода – газовой хроматографии/масс-спектрометрии, позволяющего детально охарактеризовать состав углеводородов и гетероатомных соединений в сложных смесях [4]. Для сравнения в качестве контрольных образцов анализировали образцы, заведомо не содержащие нефтяного загрязнения, и образцы, представлявшие нефтяное загрязнение.

Пробы донных отложений (5–8 г) после добавления 5 мкл раствора внутреннего стандарта (фенилдекан в метаноле, 7 мг/мл) экстрагировали последовательно 10+5 мл смеси гексан : ацетон (10 : 2) в стеклянной емкости объемом 40 мл с завинчивающейся крышкой в УЗ-ванне в течение 15 мин. Объединенный экстракт сушили сульфатом натрия, пропускали через Al_2O_3 и упаривали до 0.5 мл.

Экстракты анализировали на хромато-масс-спектрометрической системе, включающей газовый хроматограф Finnigan Trace GC Ultra и масс-спектрометр Finnigan PolarisQ. Анализ проводили в режиме без деления потока с началом продувки через 0.1 мин; температура инжектора 240 °С; расход газа-носителя гелия 1 мл/мин. Колонка DB-5ms 25 м–0.25 мм (0.25 мкм). Начальная температура термостата хроматографа 60 °С (2 мин), далее нагрев до 300 °С со скоростью 6 °С/мин и выдержка при этой температуре 6 мин. Температура интерфейса 230 °С. Температура источника ионов масс-спектрометра 220 °С. диапазон масс 41–550 а.е.м. Содержание легких и более тяжелых углеводородов оценивали по общей площади первого и второго «горбов» на хроматограммах по методу внутреннего стандарта в расчете на массу сухой пробы.

Для эндогенных углеводородов характерно преобладание *n*-алканов с нечетным числом атомов С в молекуле в характеристической области $C_{25}\text{--}C_{33}$, отсутствие «горба» на хроматограмме и наличие «легких» углеводородов, элюирующихся в начальной части хроматограммы (рис. 1, 2). Можно отметить также наличие некоторых характерных терпеноидных соединений, таких как скларен, 1-метил-7-изопропилфенантрен, 1-метил-7-изопропил-тетра-гидрофенантрен, но содержание их незначительно.

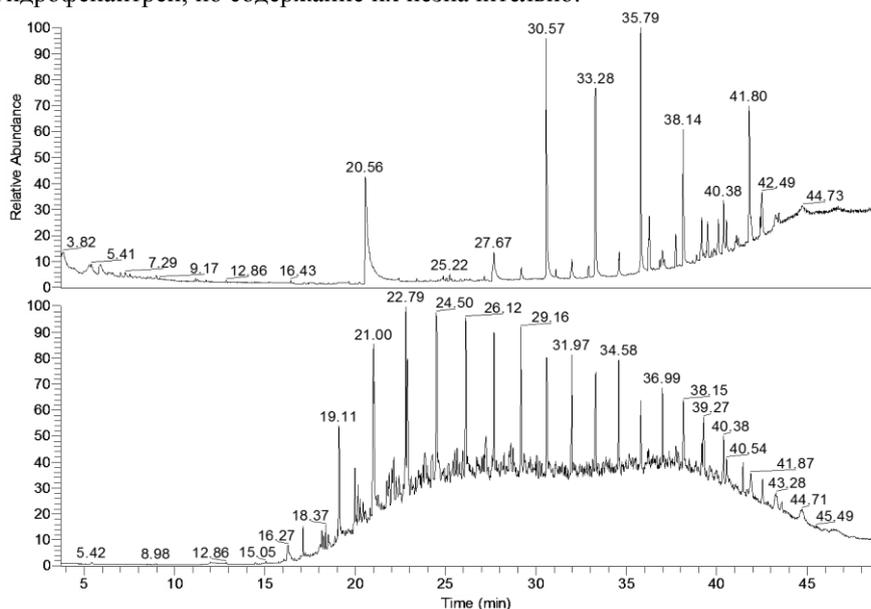


Рис. 1. Масс-хроматограммы по полному ионному току (ПИТ) контрольных образцов эндогенных углеводородов (сверху) и нефтяного загрязнения (снизу).

Для нефтяного загрязнения, напротив, характерно отсутствие легких углеводородов и плавное распределение *n*-алканов по числу атомов С без превалирования соединений с нечетным числом атомов С в интервале $C_{23}\text{--}C_{33}$ (рис. 1, 2).

Профиль *n*-алканов может характеризовать вклад эндогенных углеводородов в органическое вещество донных отложений, но количественная оценка этого вклада затруднительна (рис. 2). Мы применили для оценки вклада эндогенных углеводородов в углеводородный индекс метод распознавания образов. Этот метод основан на двух предположениях: 1) вклад эндогенных углеводородов в углеводородный индекс количественно характеризуется профилем *n*-алканов; 2) вклад эндогенных углеводородов определяется степенью близости распределения *n*-алканов в анализируемом образце к аналогичному распределению в эталонных образцах торфяного битума и нефтяного загрязнения.

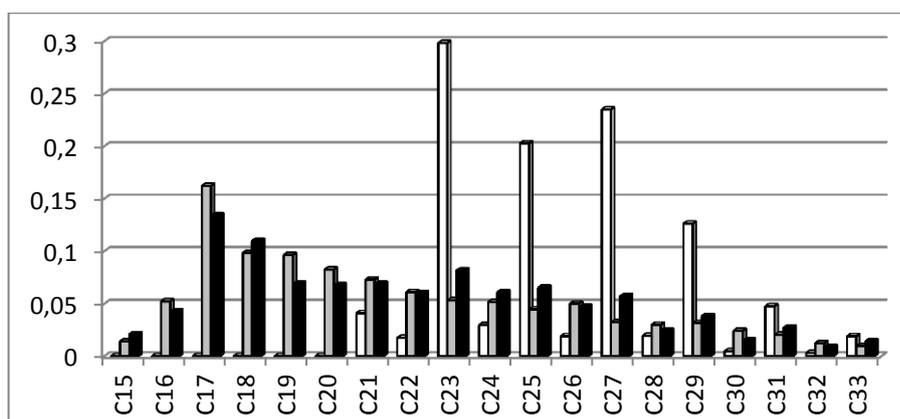


Рис. 2. Распределение *n*-алканов в контрольном образце эндогенных углеводородов (слева), в контрольном образце нефтепродуктов (в центре), одном из образцов донных отложений (справа), ось *y* – относительное содержание к сумме *n*-алканов).

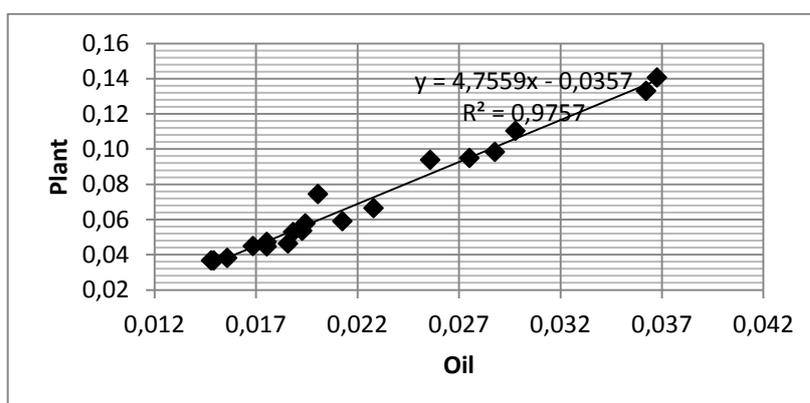


Рис. 3. Скалярные произведения многомерных векторов концентраций *n*-алканов $C_{25} - C_{33}$ на векторы эталонов – нефтяного (ось *x*) и эндогенного (ось *y*) загрязнений.

Таблица. Содержание нефтепродуктов (углеводородный индекс) в донных отложениях

№	CPI	C1	C2	C1 + C2	C3	C1 + C2 + C3
	мг/кг					
1	1.15	5485	4348	9833	17780	27614
2	1.20	364	0	364	6011	6375
3	1.13	313	176	488	4194	4683
4	3.06	4248	192	4440	76	4516
5	1.65	3391	590	3981	1226	5207
6	1.22	635	498	1133	1894	3028
7	2.97	26425	23640	50065	10318	60383
8	1.33	443	2601	3045	6257	9302
9	1.95	3755	313	4068	703	4771
10	1.14	5043	604	5647	832	6479
11	3.40	4320	4282	8602	19507	28110
12	4.46	58	2677	2735	1368	4103
13	2.01	1115	126	1241	34	1275
14	1.21	3842	273	4115	213	4328
15	11.62	4996	11477	16473	59200	75674
16	7.69	1117	1117	2233	0	2233
17	1.14	49	1219	1268	57	1325

Примечания: C1 – «легкие» углеводороды; C2 – эндогенные углеводороды средней летучести; C3 – нефтяные углеводороды, C1+C2 – сумма эндогенных углеводородов, C1+C2+C3 – сумма эндогенных и нефтяных углеводородов.

Содержание «легких» углеводородов составляло от 50 и 300–400 мг/кг до 3500–5000 мг/кг для ряда образцов и возрастало до 26000 мг/кг в некоторых образцах (табл.). Содержание нефтяных углеводородов (и гетероатомных соединений) варьировало от практически нулевых значений 30–80 мг/кг, до 20000 и выше, при этом содержание эндогенных углеводородов средней летучести (характеризуемых распределением *n*-алканов) также было достаточно велико – от 100 до 24000 мг/кг.

В качестве параметра, характеризующего преобладание углеводородов с нечетным числом атомов C, выбрано скалярное произведение многомерного вектора – относительного распределения *n*-алканов в интервале

C₂₀–C₃₅ атомов для данного образца на соответствующий вектор для эндогенных углеводородов или на вектор для нефтяных углеводородов.

Все точки, соответствующие парам скалярных произведений векторов-образов на векторы, отвечающие эндогенным и нефтяным углеводородам, достаточно хорошо укладываются на прямую (рис. 3).

$k = A * (r_i - r_0) / (r_m - r_0)$, где A – общее содержание углеводородов, $r_i - r_0$ – отрезок прямой между точками i-го образца и нефтяных углеводородов, $r_m - r_0$ – отрезок прямой между точками эндогенных и нефтяных углеводородов, соответственно.

Точки в верхней части прямой соответствуют фоновым образцам, точки в нижней части – нефтяным. Некоторый разброс относительно прямой обусловлен вкладом в эндогенные углеводороды разных растений, имеющих разное распределение n-алканов. Одной крайней точке на отрезке прямой приписывается нулевое относительное содержание нефтяных углеводородов в образце, другой – 100 %.

Список литературы

1. Тиссо Б., Вельте Д. Образование и распространение нефти. М.: Мир, 1981. 504 с.
2. Bingham E.M., McClymont E.L., Väiliranta M., Mauquoy D., Roberts Z., Chambers F.M., Pancost, R.D., Evershed R.P. Conservative composition of n-alkane biomarkers in *Sphagnum* species: Implications for palaeoclimate reconstruction in ombrotrophic peat bogs // *Organic Geochemistry*. 2010. V. 41. P. 214–220.
3. Bush R.T., McInerney F.A. Leaf wax n-alkane distributions in and across modern plants: Implications for paleoecology and chemotaxonomy // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2013. V. 117, P. 161–179.
4. Бродский Е.С. Масс-спектрометрический анализ углеводородов и гетероатомных соединений нефти // Методы исследования состава органических соединений нефти и битумоидов. М.: Наука. 1985. С. 57–126.

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ РЫБ РАЗЛИЧНОГО ТРОФИЧЕСКОГО УРОВНЯ В МЕШИНСКОМ ЗАЛИВЕ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

А. Р. Гайсин, Л. В. Новикова, Н. Ю. Степанова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт экологии и природопользования
420008, г. Казань, Россия, ljudmila_88@list.ru

Проведен сравнительный анализ содержания ряда элементов в печени, жабрах и мышцах леща и судака Мешинского залива Куйбышевского водохранилища. Показано большее содержание элементов в тканях и органах леща по сравнению с судаком, что отражает особенности среды обитания и трофического статуса рыб.

В последние десятилетия загрязнение водных экосистем металлами и металлоидами стало приобретать глобальный характер. Урбанизация, индустриализация и интенсивная сельскохозяйственная деятельность еще более усугубляют ситуацию. Тяжелые металлы не подвергаются биологическому разложению и способны к биоаккумуляции и биомагнификации. В низких концентрациях многие из них необходимы для нормального функционирования организма, а в больших приводят к появлению токсических эффектов. Такие элементы как As, Cd, Pb являются токсичными независимо от концентрации [1–2].

Рыбы являются удобным объектом для биомониторинга, что обусловлено средой их обитания, трофическим уровнем, чувствительностью к воздействию, способностью к накоплению загрязняющих веществ. Не маловажен и тот факт, что рыба является незаменимым продуктом питания для человека.

Целью работы была оценка содержания металлов в тканях и органах рыб разного трофического уровня: бентософага леща (*Abramis brama*) и хищника судака (*Sander lucioperca*) в Мешинском заливе Куйбышевского водохранилища.

Таблица 1. Морфологическая характеристика леща и судака

Среднее значение ± SD	Длина, см	Масса, г	Коэффициент упитанности (CF)
Лещ	29 ± 2	544 ± 96	2.13 ± 0.15
Судак	51 ± 3	1843 ± 287	1.42 ± 0.08

Мешинский залив – мелководный залив Волжско-Камского озера площадью до 1868 км², в котором осуществляется промышленный вылов рыбы. В 2016 году нами было выловлено 12 экземпляров леща и 9 экземпляров судака возрастом 6–9 лет. Возраст определялся по чешуе с контролем по спилам плавников [3]. Усредненные данные длины, веса и коэффициент упитанности по Фультону представлены в таблице 1.

Содержание элементов (Fe, Mn, Al, Zn, As, Cu, Cr, Pb, Ni) в мышечной ткани, жабрах и печени определяли атомно-эмиссионным спектральным методом с индуктивно связанной плазмой на приборе ICPE-9000. Пробоподготовка осуществлялась по утвержденной методике [4].

Элементный анализ показал, что наибольшее содержание у обоих видов характерно для макроэлементов Fe, Zn и Al. Ряды накопления металлов по мере уменьшения выглядят следующим образом.

Мышечная ткань: лещ – Fe>Zn>Al>As>Mn>Cu>Cr>Pb>Ni;
судак – Fe>Zn>Al>As>Mn>Cr>Cu>Ni>Pb.
Жабры: лещ – Fe>Mn>Al>Zn>As>Cu>Cr>Pb>Ni;
судак – Fe>Zn>Al>As>Mn>Cu>Cr>(Pb-Ni).
Печень: лещ – Fe>Zn>Al>As>Cu>Mn>Pb>Cr>Cd>Ni;
судак – Fe>As>Zn>Al>Mn>Cr>Cu>(Pb-Ni-Cd).

Наибольшее содержание элементов отмечено для печени, затем по мере уменьшения содержания стоят жабры и в последнюю очередь мышцы, что соответствует физиологической функции печени, ответственной за выведение токсичных соединений из организма, и жабр как первичного барьера при поступлении металлов из воды.

Практически все элементы интенсивнее накапливаются у леща, что может быть обусловлено придонным образом жизни и поступлением металлов не только из воды, с пищей, но и со взвешенными частицами при взмучивании донных отложений. Исключение составляют As и Cr (табл. 2).

Содержание Cr в печени и жабрах, As в печени судака значимо выше (по критерию Краскела-Уоллиса для $p < 0,05$) по сравнению с содержанием в аналогичных тканях и органах леща (рис. 1). Отмечается превышение ПДК содержания мышьяка в мышечной ткани (1.0 мг/кг) у судака.

Как отмечается в литературе [5], преимущественный путь поступления Cr в организм рыбы из воды. Жабры выступают первичным барьером и накопление Cr в печени, по-видимому, указывает на прохождение через этот барьер. Что касается As, то он может образовывать комплексы с органическими веществами [6] и, как следствие, накапливаться в звеньях пищевой цепи. Трофические связи у хищников более сложные, что может привести к большему накоплению As в печени по сравнению с бентософагами. Железо (Fe) в большом количестве содержится в печени, что соответствует его роли в функционировании кроветворных органов (рис. 2). Отмечено, что у леща содержание Fe выше как в печени, так и в жабрах, что может быть связано с тем, что в придонных слоях воды содержание Fe выше за счет высвобождения его из донных отложений при изменении кислородного режима.

Содержание Cu во все органах и тканях леща значимо выше, чем судака, особенно большое различие отмечается для печени (рис. 3а). Mn у леща накапливается в жабрах (рис. 3б), что выявляет доминирующий механизм поступления Mn из воды, где в обычных условиях он содержится в виде труднорастворимых соединений [5]. Сходное накопление Cu и Mn отмечено в работе Д.В. Воробьева [1].

Таблица 2. Содержание элементов в тканях и органах леща и судака

Орган / Элемент	Лещ		Судак		Орган / Элемент	Лещ		Судак	
	(мг/кг)					(мг/кг)			
Мышцы	Al	2.95 ± 0.54	1.48 ± 0.12		Al	12.50 ± 1.46	7.81 ± 1.80		
	As	1.10 ± 0.13	0.49 ± 0.14		As	2.05 ± 0.36	3.19 ± 0.66		
	Cr	0.13 ± 0.03	0.19 ± 0.04		Cr	0.11 ± 0.01	0.20 ± 0.05		
	Cu	0.24 ± 0.02	0.11 ± 0.01		Cu	0.72 ± 0.07	0.34 ± 0.02		
	Fe	6.39 ± 0.56	4.46 ± 0.49		Fe	88.48 ± 7.25	32.92 ± 5.62		
	Mn	0.88 ± 0.11	0.19 ± 0.03		Mn	17.43 ± 1.40	0.90 ± 0.08		
	Ni	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.02		Ni	0.04 ± 0.02	н/п		
	Pb	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01		Pb	0.10 ± 0.03	н/п		
	Zn	3.49 ± 0.12	3.26 ± 0.18		Zn	10.12 ± 0.28	8.54 ± 0.29		
Печень	Al	9.176 ± 2.776	3.15 ± 1.16		Fe	117.08 ± 9.92	33.99 ± 4.55		
	As	6.74 ± 0.80	28.08 ± 3.91		Mn	1.90 ± 0.21	1.86 ± 0.77		
	Cd	0.06 ± 0.02	н/п*		Ni	0.04 ± 0.02	н/п		
	Cr	0.09 ± 0.03	0.34 ± 0.08		Pb	0.41 ± 0.37	н/п		
	Cu	5.17 ± 0.77	0.33 ± 0.07		Zn	17.05 ± 3.2	14.54 ± 1.22		

Примечания: *н/п – ниже порога обнаружения

Микроэлементы – Ni, Pb и Cd – способны выступать в качестве маркеров антропогенной нагрузки на экосистему. Содержание Ni в мышечной ткани судака в 4 раза выше, чем аналогичные показатели у леща. Как отмечается в литературе [5], Ni способен преодолевать межклеточный барьер в виде жирорастворимой формы Ni(CO)₄, что способствует его накоплению по пищевой цепи.

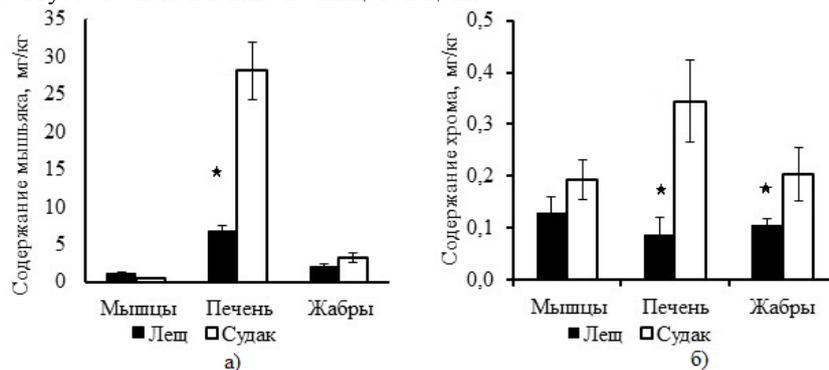


Рис. 1. Содержание элементов в тканях и органах леща и судака (*значимое различие).

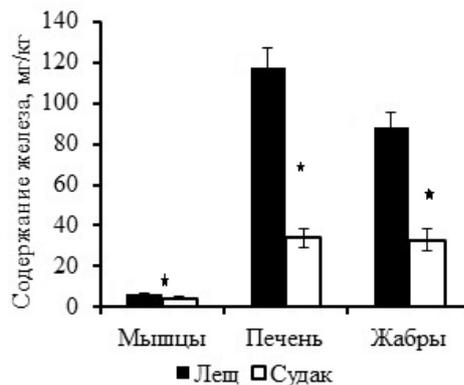


Рис. 2. Содержание железа в тканях и органах леща и судака (*значимое различие).

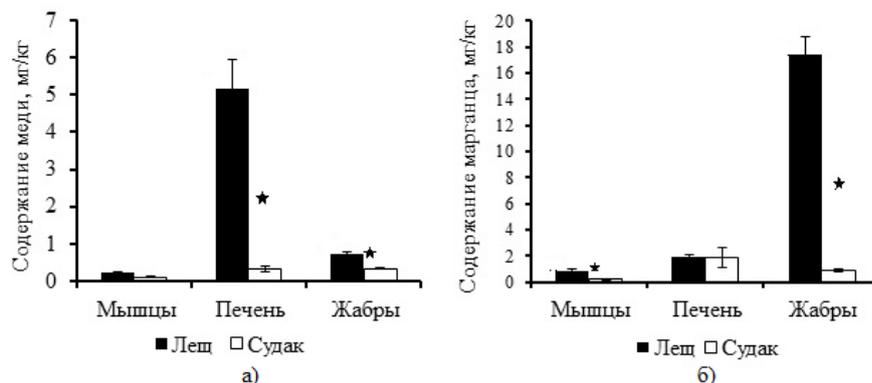


Рис. 3. Содержание элементов в органах и тканях леща и судака (*значимое различие).

Таблица 3. Индекс загрязнения металлами

МРІ	Мышцы	Жабры	Печень
Лещ	0.34	0.72	1.09
Судак	0.29	0.25	0.85

Выводы

1. Наибольшее содержание элементов в рыбе отмечено для печени, затем по мере уменьшения содержания стоят жабры и в последнюю очередь мышцы, что связано с функционированием первичного (жабры) и физиологического (печень) барьеров организма.
2. Все элементы накапливаются интенсивнее в тканях и органах леща, что обусловлено его придонным образом жизни и поступлением металлов не только из воды, с пищей, но и взвешенными частицами при взмучивании донных отложений. Исключение составляют мышьяк и хром, содержание которых в печени и жабрах судака значимо выше по сравнению с содержанием в аналогичных тканях и органах леща.
3. Индекс загрязнения металлами указывает на то, что наибольшее воздействие испытывают печень и жабры.

Список литературы

1. Воробьев Д.В. Функциональные особенности метаболизма металлов у рыб в современных биогеохимических условиях дельты р. Волги: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.13. Защищена 16.11.08; 04.200.8 16402. Астрахань, 2008. 160 с.
2. Pandey M., Pandeyb A.K., Mishraa A., Tripathic B.D. Assessment of metal bioaccumulation in *Mastacembelus armatus* (eel) and exposure evaluation in human // Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management. 2017. № 7. P. 103–109.
3. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. Л.: Изд-во ЛГУ, 1939. 245 с.:
4. МУК 4.1.985-00 Определение содержания токсичных элементов в пищевых продуктах и продовольственном сырье. Методика автоклавной пробоподготовки. Введ. 01.01.2001. М.: Федеральный центр гос-санэпиднадзора Минздрава России, 2000. 19 с.
5. Давыдова О.А., Климов Е.С., Ваганова Е.С., Ваганов А.С. Влияние физико-химических факторов на содержание тяжелых металлов в водных системах. Ульяновск: УлГТУ, 2014. 167с.
6. Мур Дж. В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах: Контроль и оценка влияния. М.: Мир, 1987. 288 с.

ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА РАКООБРАЗНЫХ *CERIODAPHNIA AFFINIS (DUBIA)* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ВНЕСЕНИЯ

Д. М. Гершкович

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119234, Москва, Россия, rapirus451@yandex.ru

В работе сопоставлены эффекты непрерывного и интермиттирующего воздействия $K_2Cr_2O_7$ на *Ceriodaphnia affinis (dubia)* при пожизненном наблюдении. Показано, что при интермиттирующем воздействии эффекты снижения выживаемости и плодовитости становятся менее выраженными, чем при непрерывном воздействии токсиканта.

Загрязнение водной среды пестицидами и тяжелыми металлами зачастую носит эпизодический или периодический характер, что связано с режимом обработки сельскохозяйственных земель и выпадения осадков, после которых загрязняющие вещества попадают в водные объекты со стоками ливневой канализации и смывами с полей [7]. Методические рекомендации в сфере нормирования и контроля загрязнений водной среды предполагают работу с постоянными концентрациями, что не всегда может полностью отразить процессы, происходящие в естественной среде [3].

В подавляющем большинстве исследований сообщается о постоянной действующей концентрации, несмотря на то, что поддерживать и контролировать ее в течение эксперимента весьма сложно. В водной среде действующая концентрация может быть постоянной, переменной (изменяющейся во времени) и прерывающейся (интермиттирующее, от англ. *intermittent* – прерывистый, периодический, скачкообразный). Зачастую, экспериментатор в процессе испытания имеет дело с изменяющимися, а иногда и с прерывистыми концентрациями. В результате при указании концентраций, при которых проводилось испытание, чаще всего имеют в виду исходную концентрацию токсиканта [5]. Исследование эффектов химических веществ при различных режимах воздействия способствует раскрытию закономерностей динамики токсического действия.

Бихромат калия – референтный токсикант, часто используемый при исследовании влияния условий проведения экспериментов, действия физиологических нагрузок и прочих факторов внешней среды на ракообразных и других гидробионтов. Металлы не подвержены быстрому видоизменению в водной среде, что позволяет говорить о большей стабильности их концентрации в течение эксперимента по сравнению с химическими веществами другой природы. Показано, что бихромат калия способен вызывать значимые эффекты на выживаемость, плодовитость и качество потомства у ракообразных даже при кратковременных воздействиях [2]. Исходя из вышесказанного, в качестве модельного токсиканта в данном исследовании был выбран $K_2Cr_2O_7$. Цериодафнии в классических опытах на генерациях проявляли большую чувствительность к бихромату калия, чем дафнии [4]. Также они характеризуются меньшей продолжительностью жизни по сравнению с дафниями, что немаловажно при проведении пожизненных наблюдений.

В связи с этим целью приведенного исследования стало сопоставление эффектов воздействия бихромата калия на ракообразных *Ceriodaphnia affinis (dubia)* при постоянном и интермиттирующем воздействии.

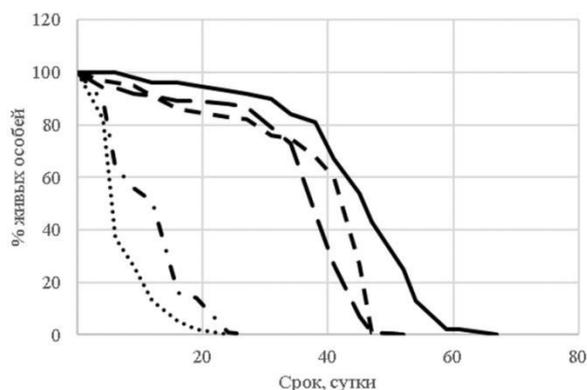


Рисунок. Изменение выживаемости ракообразных *Ceriodaphnia affinis (dubia)* при воздействии бихромата калия в постоянном и интермиттирующем режимах.

– контроль; - - - 0.5 мг/л (периодическое воздействие); — — 0.5 мг/л (постоянное воздействие); — • — 1 мг/л (периодическое воздействие); ••••• 1 мг/л (постоянное воздействие).

Исследования проводили в соответствии со стандартными методическими указаниями [3]. Молодь цериодафний помещали в стеклянные стаканы с контрольной водой или раствором токсиканта объемом 100 мл по 10 особей. Повторность опытов 10-кратная для каждого варианта воздействия. Температуру поддерживали в диапазоне 23-24°C. Кормление производили через день суспензией водорослей *Chlorella sp.*, выращенных на среде Тамия. Исходно все особи, кроме контрольных, были помещены в растворы бихромата калия в концентрациях 0.5 и 1.0 мг/л. После 4 суток инкубации часть особей была перенесена в чистую среду, в дальнейшем

режим интермиттирующего воздействия для этих выборок соответствовал 4:7 суток (4 суток в растворе токсиканта, 7 суток в чистой воде). При этом растворы при всех вариантах воздействия заменялись на свежие одно- временно, каждые 3–4 суток. Наблюдения продолжали до момента гибели всех исходных особей, учитывали выживаемость и количество принесенного потомства. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel, значимость отличий оценивали с использованием критерия Стьюдента.

Бихромат калия в исследованных концентрациях вызывал ускоренную гибель ракообразных при обоих режимах воздействия по сравнению с контрольной выборкой (рис.). При интермиттирующем воздействии эффект снижения выживаемости был менее выраженным, чем при непрерывном воздействии бихромата калия в той же концентрации. В частности, время гибели 50% наблюдаемой выборки (LT_{50}) при воздействии токсиканта в концентрации 0.5 мг/л при непрерывном воздействии составило 38 суток, при интермиттирующем – 42 дня. При более высокой концентрации 1.0 мг/л LT_{50} составило 5 и 12 суток соответственно. Таким образом, значения LT_{50} при воздействии бихромата калия снижаются по сравнению с контрольным (46 суток), при непрерывном воздействии эффект снижения данного показателя выражен сильнее.

Средняя продолжительность жизни ракообразных также снижалась при воздействии бихромата калия (табл. 1). Как видно из таблицы, снижение продолжительности жизни по сравнению с контролем было статистически значимым при всех вариантах воздействия. При интермиттирующем воздействии продолжительность жизни снижалась в меньшей степени (на 17 и 78%), чем при непрерывном (на 22 и 87% соответственно). Различия в продолжительности жизни цериодафний при непрерывном и интермиттирующем воздействии бихромата калия в равных концентрациях статистически значимы.

Снижение средней суммарной плодовитости, рассчитанной на 1 самку, также значительно снижаются при воздействии бихромата калия по сравнению с контролем. Различия в эффекте интермиттирующего и постоянного воздействия на репродукцию цериодафний более выражены, чем на показатели продолжительности жизни. Так, при воздействии концентрации 0.5 мг/л снижение количества произведенной молодежи снижалось на 59% при непрерывном воздействии и на 39% при интермиттирующем. При воздействии концентрации 1.0 мг/л выход молодежи составил менее 1 особи на самку за весь период наблюдений, в то время, как при интермиттирующем воздействии показатель плодовитости был выше, чем при непрерывном.

Таблица 1. Изменение продолжительности жизни и средней суммарной плодовитости ракообразных *Ceriodaphnia affinis (dubia)* при воздействии бихромата калия в постоянном и периодическом режимах

Режим внесения $K_2Cr_2O_7$	Продолжительность жизни, сутки			Плодовитость за срок полной продолжительности жизни, особей (на 1 самку)		
	$M \pm m$	% от контроля	T_{st}	$M \pm m$	% от контроля	T_{st}
Контроль	42.0 ± 1.1			45.1 ± 1.1		
	0.5 мг/л					
интермиттирующее воздействие	34.9 ± 1.3	83.2	4.1	33.0 ± 2.2	60.7	7.4
постоянное воздействие	32.7 ± 1.1	78.0	5.8	18.7 ± 0.9	40.9	17.3
	1 мг/л					
интермиттирующее воздействие	9.3 ± 0.6	22.1	25.9	0.8 ± 0.2	2.2	33.9
постоянное воздействие	5.6 ± 0.4	13.4	30.4	0.1 ± 0.0	0.2	35.1

Таким образом, интермиттирующее воздействие бихромата калия в режиме 4:7 суток вызывало менее выраженное угнетение репродуктивной функции и снижение продолжительности жизни, чем непрерывное.

О снижении токсических эффектов металлов и пестицидов на рыб и беспозвоночных при кратковременном и интермиттирующем воздействии по сравнению с непрерывным сообщается и в литературных публикациях. В частности, показано увеличение LT_{50} для молодежи рыб *Rasbora heteromorpha* при воздействии промышленных сточных вод в переменной режиме (5:5 ч) и для молодежи радужной форели *Oncorhynchus mykiss* при воздействии серной кислоты (4:4 ч) по сравнению с непрерывным воздействием.

В то же время есть сведения о снижении полулетальных концентраций LC_{50} аммиака, серной кислоты, кадмия, цинка и алюминия для радужно форели американской палии *Salvelinus fontinalis* в 1.5–3 раза при переходе от постоянного к интермиттирующему воздействию в различных режимах (6:6 ч; 12:12 ч; 24:24 ч; 2:4 суток) [цит. по 6]. При воздействии солей кадмия и меди на цериодафний также показано снижение гибели ракообразных при интермиттирующем воздействии сублетальных концентраций [7]. Сообщается также, что при действии окислов азота, окиси углерода, некоторых углеводородов интермиттирующее действие вызывало более выраженный токсический эффект, чем непрерывное, что может быть обусловлено нарушением процессов адаптации при колебании содержания токсиканта в тканях [1].

Главную роль при интермиттирующем действии ядов в таких случаях может играть сам факт колебаний концентраций в тканях, а не накопление веществ. На примере воздействия ртути на молодь форели было показано, что накопление токсиканта в тканях при интермиттирующем воздействии было ниже, чем при воздействии постоянной концентрации. Экскреции ртути из тканей рыб в периоды пребывания в чистой среде не происходило, что исключает повторное воздействие на биологические мембраны при падении концентрации токсиканта в окружающей среде [6]. Однако, исчезновение из окружающей среды токсиканта и убывание его содержания в тканях гидробионтов также должно вызывать переход системы на новый уровень в соответствии со снижением уровня токсической нагрузки. Такое снижение способно вызывать запаздывающее во времени, но упреждающее по интенсивности снижение уровня функционирования системы. В результате может создаваться ситуация, при которой преобладает уровень деструктивных процессов, способных вызвать временное обострение токсикологических проявлений, по абсолютной величине приближающееся к уровню первичных нарушений. В условиях прерывистых воздействий, когда уровень концентрации в среде и в тканях быстро изменяется, может происходить кумуляция эффектов даже от незначительных переходов системы с одного уровня на другой. При этом, как и для стабильных концентраций, могут выявляться диапазоны стимулирующих и угнетающих воздействий (амплитуды изменения концентраций, скорости их возрастания и убывания) [5].

Таким образом, интермиттирующее воздействие по сравнению с непрерывным может вызывать как более выраженные токсические эффекты, что может быть обусловлено влиянием переменной концентрации на процессы адаптации организма, так и менее выраженные, что обусловлено снижением суммарного времени воздействия токсиканта при равной концентрации (величина эффекта $E=t \cdot C$ снижается при снижении времени воздействия t и постоянной концентрации $C=const$) [5]. В описанном исследовании влияния бихромата калия на биологические показатели цериодафний при различных режимах переменное воздействие приводило к снижению величины эффекта токсиканта по сравнению с непрерывным режимом. В продолжении работы предполагается исследовать воздействие токсических веществ иной природы на цериодафний в интермиттирующем режиме, а также другие варианты частоты изменения концентраций токсикантов.

Список литературы

1. Батян А.Н., Фрумин Г.Т., Базылев В.Н. Основы общей и экологической токсикологии. Учебное пособие. СПб: Специальная литература. 2009. С. 124–125.
2. Исакова Е.Ф., Коломенская Е.Е. Морфологические отклонения у *Daphnia magna* Straus в поколениях при кратковременном воздействии бихромата калия // Экологические системы и приборы. 2002. № 7. С. 31–34.
3. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО. 1998. 147 с.
4. Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф., Черномордина А.В. Особенности действия бихромата калия на генерации и модельные популяции низших ракообразных // Актуальные проблемы водной токсикологии: сб. науч. трудов. Борок, 2004. С. 176–195.
5. Филенко О.Ф., Михеева И.В. Основы водной токсикологии: учебное пособие для ВУЗов. М.: Колос. 2007. С. 70–87.
6. Handy R.D. Intermittent exposure to aquatic pollutants: assessment, toxicity and sublethal responses in fish and invertebrates // Comp. Biochem. and Physiol. Part C: Pharmacol., Toxicol. and Endocrinol. 1994. Vol. 107(2). P. 171–184.
7. Turner P.K. Effects on survival, reproduction and growth of *Ceriodaphnia dubia* following single episodic exposure to copper or cadmium: Dissertation prepared for the degree of Doctor of Philosophy. University of North Texas, 2005. 175 p.

МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРЫ ФИТОПЛАНКТОНА ШЕРШНЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

О. В. Гладкова¹, Н. И. Ходоровская¹, Т. В. Еремкина²

¹ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454021, г. Челябинск, Россия, gladkovaolechka@mail.ru

²Уральский филиал ФГБНУ «Госрыбцентр», 620086, г. Екатеринбург, Россия, tver60@mail.ru

В работе представлены данные по анализу многолетней динамики структуры фитопланктона Шершневского водохранилища (Южный Урал, Челябинская область), дана эколого-географическая характеристика альгофлоры и оценка качества воды по фитопланктону.

Шершневское водохранилище – единственный источник питьевого водоснабжения г. Челябинска и целого ряда населенных пунктов, расположенных в его окрестностях. Развитие жилой застройки в прибрежной зоне и, как следствие, увеличение антропогенной нагрузки, является причиной ухудшения экологического состояния водоема. Изучение состояния и развития альгоценозов, в значительной степени определяющих функционирование водной экосистемы в целом, приобретает приоритетное значение для познания процессов самоочищения и решения вопросов рациональной эксплуатации водоема.

Видовой состав и количественные показатели фитопланктона позволяют не только оценить трофический статус водных объектов, но и выявить направление происходящих в них сукцессионных процессов [1, 2]. В настоящей работе анализируются данные по изучению видового состава фитопланктона Шершневского водохранилища за 2003–2004, 2008–2009, 2014–2015 гг. На базе лаборатории биомониторинга УНИЦБТ ФГБОУ ВО «ЧелГУ» обработано 246 проб, отобранных в районе водозабора очистных водопроводных сооружений МУП ПОВВ

г. Челябинска. Отбор проб и определение видового состава проводили стандартными методами [3] с использованием отечественных определителей. Эколого-географический анализ проведен с использованием литературных данных [2].

За исследуемый период в фитопланктоне Шершневого водохранилища идентифицировано 222 таксона из 7 отделов, 15 классов, 18 порядков, 42 семейств, 90 родов (табл. 1), что свидетельствует о богатстве и высоком уровне таксономического разнообразия флоры водорослей исследуемого водоема. Наибольшее видовое разнообразие наблюдалось в 2008–2009 гг., минимальное – в 2014–2015 гг.

Таблица 1. Динамика таксономической структуры фитопланктона Шершневого водохранилища

Отдел	Класс			Порядок			Семейство			Род			Виды, разновидности и формы		
	I	II	III	I	II	III									
Суанопхита	2	2	2	3	3	3	7	7	8	8	9	11	13	23	20
Euglenophyta	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	3	3	10	11	5
Dinophyta	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	2	3	5	2
Chrysophyta	1	1	1	2	2	1	3	3	1	4	6	4	4	14	6
Bacillariophyta	2	3	3	3	4	4	6	9	8	17	22	19	22	35	27
Xanthophyta	2	2	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
Chlorophyta	4	5	3	5	5	4	15	17	12	27	35	27	61	76	49
Всего	13	15	12	17	18	15	36	40	32	65	79	67	116	166	110

Примечания: I – данные за 2003–2004 гг., II – 2008–2009 гг., III – 2014–2015 гг.

Основу видового богатства фитопланктона составили представители отделов Chlorophyta, Bacillariophyta и Суанопхита, формируя в 2003–2004 гг. 82.7 % от общего таксономического разнообразия, в 2008–2009 гг. – 80.7 %, в 2014–2015 гг. – 87.3%. Значение индекса Chlorophyta / Суанопхита, характеризующего трофический статус водоема, было максимальным в 2003–2004 гг. – 4.69 ед., постепенно снижаясь в 2008–2009 гг. (3.30 ед.) и 2014–2015 гг. (2.45 ед.). Особенностью таксономической структуры альгоценоза в 2008–2009 гг. является резкое увеличение разнообразия представителей отдела Chrysophyta (8.4 %), которым уступили Euglenophyta (6.6 %), до этого времени стабильно занимавшие четвертую позицию в таксономической структуре фитопланктона. Вклад представителей отделов Dinophyta и Xanthophyta менее значителен (не более 3.0 %). За период исследований наблюдалось снижение вклада зеленых водорослей в структуру видового разнообразия сообщества с 52.59% в 2003–2004 гг. до 45.78% в 2008–2009 гг. и 44.54% – 2014–2015 гг. и увеличение доли Суанопхита с 11.20% в 2003–2004 гг. до 13.86% в 2008–2009 гг. и 18.18% – 2014–2015 гг.

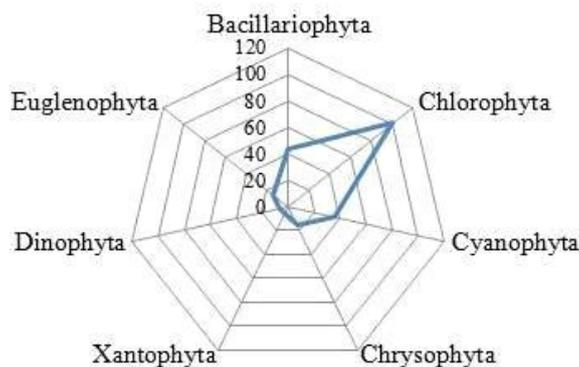


Рисунок. Таксономическая структура фитопланктона Шершневого водохранилища в 2003–2015 гг.

Сравнение с данными более ранних исследований [4] показало, что характерные для альгофлоры водохранилища индивидуальные черты сохранились (рис.). Роль Chlorophyta по-прежнему более существенна, чем отдела Bacillariophyta, форма звездчатой диаграммы не изменилась.

Наибольшим видовым богатством, как и ранее, характеризуются Euglenophyta, однако родовой коэффициент по сравнению с предыдущим периодом исследований [4] снизился с 5.3 до 3.5. Второе место принадлежит Суанопхита с коэффициентом 2.8, на третьем – Chlorophyta и Chrysophyta – 2.7. Как и ранее, весьма существенна доля маловидовых (1–2 вида) родов – 61.0 %, что является характерным признаком бореальной флоры и альгофлоры водоемов Челябинской области [5].

В целом за период исследований в составе Chlorophyta было идентифицировано 17 семейств. Отделы Суанопхита и Bacillariophyta представлены 9 и 8 семействами соответственно.

Спектры ведущих семейств и родов, характеризующих индивидуальные особенности водных экосистем, отражают и уровень антропогенной нагрузки на водоемы. Основной вклад в формирование структуры фитопланктона Шершневого водохранилища в исследуемый период внесли представители семейств Scenedesmaceae и Euglenaceae (таб. 2), что свидетельствует о сохранении Шершневым водохранилищем высокого трофического статуса. Вклад одновидовых семейств в структуру фитопланктона в исследуемый период составил 23.8 %.

Таблица 2. Спектр ведущих семейств альгофлоры Шершневого водохранилища в исследуемый период

Ранг	Семейство	Доля от общего таксономического разнообразия, %
1	<i>Scenedesmaceae</i>	12.6
2	<i>Euglenaceae</i>	6.3
3	<i>Selenastraceae</i>	5.4
4–5	<i>Anabaenaceae</i>	5.0
	<i>Fragilariaceae</i>	5.0
	<i>Chlorellaceae</i>	4.1
6–9	<i>Desmidiaceae</i>	4.1
	<i>Naviculaceae</i>	4.1
	<i>Oocystaceae</i>	4.1
10–11	<i>Achnanthaceae</i>	3.6
	<i>Euchromulinaceae</i>	3.6
	Всего	57.9

Видовое разнообразие внутри крупных таксономических групп варьирует в разные годы, что наиболее показательно для Суанорphyta. В 2003–2004 гг. видовым богатством выделялось семейство Gomphosphaeriaceae. Начиная с 2008 г. ведущее положение, как и в 1984–2010 гг., занимало семейство Anabaenaceae. В 2014–2015 гг. наиболее разнообразны были представители Anabaenaceae и Oscillatoriaceae. Кроме того, по сравнению с предыдущими периодами исследований в 2014–2015 гг. увеличилось видовое разнообразие семейства Microcystidaceae. Увеличение числа видов и появление новых представителей Суанорphyta является показателем повышения трофического уровня водохранилища. Таксономическая структура фитопланктонного сообщества других отделов не подвергалась столь значительным изменениям.

Родовой спектр альгофлоры Шершневого водохранилища остается весьма специфичным как по сравнению с таковым альгофлоры водоемов Челябинской области [5], так и периодом более ранних исследований (табл. 3).

Таблица 3. Родовой спектр альгофлоры Шершневого водохранилища

2003–2015 гг.			1984–2010 гг. по [4]		
Ранг	Род	Доля от общего количества таксонов, %	Ранг	Род	Доля от общего количества таксонов, %
1	<i>Anabaena</i>	5.0	1–2	<i>Anabaena</i>	3.7
				<i>Navicula</i>	3.7
2–3	<i>Scenedesmus</i>	3.6	3	<i>Trachelomonas</i>	3.5
	<i>Trachelomonas</i>	3.6			
4	<i>Tetraedron</i>	3.2	4–5	<i>Nitzschia</i>	2.7
				<i>Closterium</i>	2.7
5	<i>Tetrastrum</i>	2.7	6–7	<i>Desmodesmus</i>	2.4
				<i>Euglena</i>	2.4
	<i>Crucigenia</i>	2.3	8	<i>Cosmarium</i>	2.2
	<i>Microcystis</i>	2.3			
6–10	<i>Monoraphidium</i>	2.3	9–10	<i>Oscillatoria</i>	2.1
	<i>Oocystis</i>	2.3		<i>Oocystis</i>	2.1
	<i>Pediastrum</i>	2.3			

Ведущее место по-прежнему занимает *Anabaena*, в то время как диатомовые уступили свое позиции в родовом спектре зеленым и синезеленым водорослям. Вклад ведущих родов во флору водохранилища увеличился незначительно (2.1 %) и достиг 29.6 %. Разнообразие Euglenophyta увеличилось за счет представителей рода *Trachelomonas* Ehr., *Chrysophyta* – за счет увеличения насыщенности видами родов *Kephyrion* Pasch. и *Dinobryon* Ehr.

Эколого-географический анализ альгофлоры является методом интегральной оценки суммарного воздействия природных и антропогенных факторов, определяющих формирование фитопланктона в конкретной водной экосистеме как среде обитания. Результаты распределения видов и внутривидовых таксонов по эколого-географическим группам обобщены в табл. 4. Среди таксонов с известным географическим распределением в исследуемый период преобладали космополиты (от 93.2 до 96.4 %), бореальные и аркто-альпийские виды представлены единично. По типу местообитания преобладали планктонные формы (69.6–84.2 %). С 2008 г. увели-

чивается разнообразие бентосных водорослей. По отношению к степени минерализации воды основную часть (от 76.7 до 82.8 %) составляли индифференты, при этом доля галофилов достигала 11.7–15.5 %.

По отношению к рН среды наиболее многочисленна группа индифферентов (от 61.3 до 67.9 %) и значительна доля алкалифилов (21.4 – 32.0 %). Ацидофилы и алкалибионты представлены единично.

Большая часть видов-индикаторов сапробности (от 72.6 до 83.6 %) – β -, α - β - и β - α -мезосапробы. При этом их вклад последовательно снижается и достигает минимального значения в 2014–2015 гг. Доля χ - (обитателей очень чистых вод) и олигосапробов, предпочитающих невысокое содержание легкоокисляемой органики, наоборот, увеличивается с 2003–2004 г. (9.1 %) и достигает максимума в 2014–2015 гг. (16.1 %). Одновременно возрастает и значение видов-индикаторов загрязненных вод от 7.3 % в 2003–2004 гг. до 8.4 % в 2008–2009 гг. и 11.3 % от общего списка – в 2014–2015 гг.

Таблица 4. Эколого-географическая характеристика фитопланктона Шершневого водохранилища

Группа		Период		
		2003–2004 гг.	2008–2009 гг.	2014–2015 гг.
Географическая приуроченность	Космополиты	54	69	55
	Бореальные	1	3	4
	Аркто-альпийские	1	1	0
	Всего	56	73	59
Приуроченность к местообитанию	Бентосные	3	11	12
	Планктонно-бентосные	6	7	5
	Планктонные	48	53	39
	Всего	57	71	56
Галобность	Олигогалоб	0	3	2
	Галофил	9	9	9
	Индифферент	48	62	48
	Галофоб	1	3	2
	Мезогалоб	0	0	0
	Всего	58	77	61
Отношение к рН	Ацидофил	3	1	2
	Индифферент	19	19	19
	Алкалифил	6	10	8
	Алкалибионт	0	1	2
	Всего	28	31	31
Сапробность	χ , χ - α , α - χ , χ - β - и олигосапробы	5	8	10
	α - β , β - α , β - мезосапробы	46	57	45
	α , β - α , α - β , α - α , α - α – мезосапробы	4	5	6
	ρ -сапробы	0	1	1
	Всего	55	71	62

Индекс сапробности, рассчитанный по методу Пантле-Бука в модификации Сладечека [1, 3], варьировал незначительно (1.79 – 1.92) ед. и не выходил за пределы диапазона многолетних наблюдений (1.4 – 2.3) ед. По классификации, предложенной С. С. Бариновой с соавт. [2], воду в Шершневском водохранилище в исследуемый период можно отнести к III классу 3а разряда, что соответствует α -мезосапробной зоне самоочищения. На этом этапе изменения в экосистеме имеют обратимый характер и снятие антропогенного трофического стресса еще возможно, хотя и находится под угрозой. Установленные биоиндикационным методом классы согласуются с данными гидрохимического анализа [6].

Список литературы

1. Садчиков А.П. Методы изучения пресноводного фитопланктона. Методическое руководство. М.: Университет и школа, 2003. 157 с.
2. Баринова С.С., Медведева О.В., Анисимова О.В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив, 2006. 498 с.
3. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Гидрометеоиздат, 1983. 239 с.
4. Ходоровская Н.И., Еремкина Т.В., Антипова В.А. Современное состояние Шершневого водохранилища в условиях антропогенного эвтрофирования // Матер. IV Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова, «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы» и школы-семинара «Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки»: (Борок, 24-29 сентября 2011 г.). Ч. 2. Борок. 2011. С. 177–181.
5. Ярушина М. И., Танаева Г. В., Еремкина Т. В. Флора водорослей водоемов Челябинской области. Екатеринбург, УрО РАН, 2004. 308 с.
6. Ходоровская Н.И., Дерябина Л.В., Крайнева С.В., Утопленникова А.Ю. Оценка экологического состояния Шершневого водохранилища в современных условиях // Вест. Челяб. гос. ун-та. 2013. № 7(298). Биология. Вып. 2. С. 165–167.

ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИХ ПЕСТИЦИДОВ НА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЕ ГЛИКОЗИДАЗЫ МОЛОДИ РЫБ

И. Л. Голованова, А. И. Аминов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН
152742, Борок, Россия, golovanova5353@mail.ru

В экспериментах *in vitro* на примере гербицида Раундап показано влияние глифосатсодержащих пестицидов на гликозидазы кишечника молоди пресноводных рыб. Установлено, что сила и направленность эффекта зависят от вида рыб и концентрации гербицида. При этом сверхмалые концентрации гербицида ($< 1 \cdot 10^{-5}$ мкг/л по глифосату) и концентрации, отличающиеся на 2–17 порядков, могут вызывать равный эффект.

Высокотехнологичный системный гербицид широкого спектра действия глифосат ($C_3H_8NO_5P$) используется в мире с середины 70-х годов прошлого века. Впервые гербицидные свойства этого вещества были обнаружены в 1970 г. Джоном Францем, работавшим в американской компании «Монсанто». В 2000 г. истёк патент «Монсанто» на молекулу глифосата, что привело к появлению на рынке конкурентов, производящих аналоги торговой марки Roundup: Accord, Escoba, Herbolex, Rodeo, Vision, Вулкан, Глифос, Граунд, Смерш, Торнадо, Ураган, Факел и др. Они производятся более чем в 100 странах мира и различаются по количественному содержанию активного ингредиента и наличию вспомогательных веществ. За период с 1974 по 2014 гг. мировое использование глифосата возросло почти в 15 раз и составило 8.6 млрд. кг [1].

Раундап – один из самых известных гербицидов, созданных на основе изопропиламиновой соли глифосата. США, Бразилия, Аргентина, Индия и Китай являются пятью ведущими странами, использующими Раундап при выращивании сои, риса и кукурузы. В России и странах СНГ он широко используется для уничтожения сорной растительности на полях, а также в коллекторно-дренажных каналах, оросительных системах и прудах. Период полураспада глифосата в почве составляет от 30 до 90 дней, в воде 7–14 дней [2]. Он может разноситься по течению на большие расстояния благодаря высокой способности абсорбироваться на взвешенных частицах и, оседая в донных отложениях, длительно сохраняет свою активность. Попадая с водой и кормовыми объектами в пищеварительный тракт рыб, Раундап может изменять активность ферментов, влияя на скорость гидролиза основных компонентов пищи.

Цель исследования – на примере Раундапа изучить влияние глифосатсодержащих гербицидов на активность пищеварительных гликозидаз молоди рыб.

Исследована молодь 6 видов пресноводных костистых рыб, относящихся к четырем семействам: сем. Clupeidae – тюлька *Clupeonella cultriventris* (Nord.); сем. Esocidae – щука *Esox lucius* L.; сем. Cyprinidae – лещ *Abramis brama* (L.), плотва *Rutilus rutilus* (L.), карп *Cyprinus carpio* (L.); сем. Percidae – речной окунь *Perca fluviatilis* L. Масса тела сеголетков тюльки составила 0.55 ± 0.03 г, плотвы – 0.25 ± 0.01 г, окуня – 0.63 ± 0.05 г, двухлетков карпа – 17.0 ± 2.2 г, плотвы – 5.3 ± 0.1 г и щуки – 9.60 ± 0.92 г.

В гомогенатах слизистой оболочки и химуса медиального отдела кишечника определяли амилолитическую активность (АА), отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал (α -амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20), а также активность сахаразы КФ 3.2.1.48 модифицированным методом Нельсона [3]. Активность мальтазы определяли глюкозо-оксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия). Для получения достаточного количества гомогенатов использовали суммарные пробы от 2–10 экз. одного вида и считали их за одну биологическую повторность (n). Для приготовления растворов гербицида использовали коммерческий препарат «Раундап» (произведен ЗАО фирма «Август» Россия по лицензии фирмы «Монсанто Европа С. А.» Бельгия). Средство представляет собой 36% водный раствор глифосата, возможные инертные ингредиенты, усиливающие действие активного элемента или облегчающие использование гербицида в аннотации не указаны.

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$). При сравнении результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA, LSD-тест или Dunnett-тест) с оценкой значимости различий при помощи критерия Фишера (F). Различия показателей считали статистически значимыми при уровне значимости $p \leq 0.05$.

На примере гликозидаз слизистой оболочки кишечника двухлетков плотвы установлено, что Раундап в широком диапазоне концентраций (от сверхнизких $1 \cdot 10^{-13}$ мкг/л до высоких 1 г/л) оказывает разнонаправленное действие на активность ферментов, гидролизующих ди- и полисахариды. Статистически значимое снижение АА в присутствии Раундапа отмечено во всем диапазоне исследованных концентраций, исключая ряд значений ниже 0.01 мкг/л (рис.). В диапазоне концентраций Раундапа 0.01–50 мкг/л АА была ниже контроля на 17–22%, в диапазоне от 1 мг/л до 1 г/л на 30%–80%. При этом концентрации, различающиеся на 2–17 порядков вызывали равные по силе эффекты. Снижение АА на 29–30% выявлено при концентрациях гербицида $1 \cdot 10^{-13}$, $1 \cdot 10^{-11}$ мкг/л и 1 мг/л, на 16–17% от контроля при концентрациях $1 \cdot 10^{-8}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-3}$, 10 и 50 мкг/л.

Активность мальтазы в присутствии Раундапа статистически значимо изменяется лишь при концентрациях выше 0.01 мкг/л (рис.). При этом концентрации гербицида, различающиеся на 2–4 порядка, вызывают равный эффект. Повышение активности мальтазы на 58–66% отмечено в диапазоне концентраций Раундапа 0.01–1 мкг/л, на 73–76 в диапазоне 10–100 мг/л (исключая 1 мг/л), на 80 и 92 от контроля при концентрациях 1 мг/л и 1 г/л. В дальнейшей работе использованы концентрации Раундапа 0.1, 1, 10, 25 и 50 мкг/л (по глифосату), которые часто встречаются в компонентах природных экосистем. При этом самая низкая из исследованных концентраций в 10 раз меньше, а самая высокая – в 50 раз больше значений ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов [3].

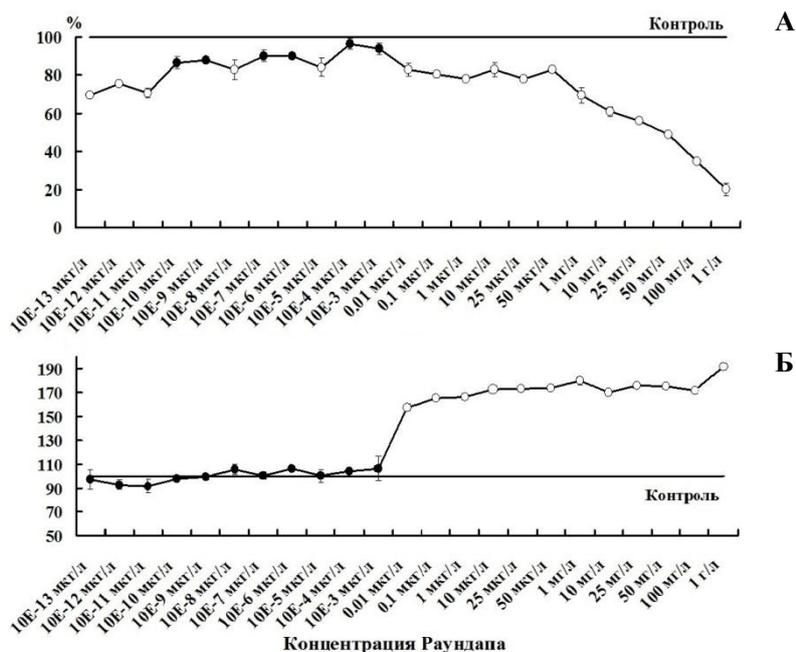


Рисунок. Активность гликозидаз в кишечнике 2-х летков плотвы в широком диапазоне концентраций Раундапа *in vitro*.

А – амилазная активность, Б – активность мальтазы; ○ – различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем; ● – различия показателей не отличаются от контроля, (ANOVA, Dunnett-test), $p < 0.05$, $n = 5$.

Изучение АА при стандартных значениях температуры и рН (20°C, рН 7.4) у молоди ряда видов рыб показало, что наибольший уровень ферментативной активности, как в слизистой оболочке кишечника, так и в химусе отмечен у карпа (1+) и плотвы (0+), более низкий у окуня (0+) и тюльки (0+), минимальный – у щуки (1+). Раундап в диапазоне исследованных концентраций снижает АА в слизистой оболочке кишечника у исследованных видов рыб на 11–28% от контроля (табл.). Торможение АА у карпа составило 15–27%, у тюльки 12–22%, у щуки 11–17% во всем диапазоне концентраций Раундапа.

Снижение АА на 17 и 26% отмечено у плотвы лишь при наибольших концентрациях, у окуня на 28% при концентрации 50 мкг/л. Зависимость эффекта от концентрации наиболее ярко выражена у карпа на фоне высокой ферментативной активности. АА в кишечнике двухлеток плотвы (1+) в присутствии Раундапа снижается на 17–22%, активность мальтазы, напротив, повышается на 65–73% во всем диапазоне концентраций (рис.). Активность мальтазы при наиболее высоких концентрациях Раундапа у карпа выше на 13–18%, у окуня – на 24 и 60%, чем в контроле, у тюльки изменения отсутствуют (табл.). Активность сахаразы в слизистой оболочке кишечника плотвы повышается на 55–62% при наиболее высоких концентрациях Раундапа, у окуня – на 39–93% в более широком диапазоне концентраций. У тюльки и карпа изменений нет.

Активность гликозидаз в химусе в присутствии Раундапа изменяется лишь у карпа. АА снижается на 14–26% (сила тормозящего эффекта растёт по мере увеличения концентрации гербицида), в то время как активность сахаразы возрастает на 16% от контроля в концентрации 50 мкг/л. Активность мальтазы повышается на 10% лишь при концентрации 10 мкг/л. У других исследованных видов рыб статистически значимые эффекты отсутствуют. На примере взрослых рыб ранее было установлено, что гликозидазы, гидролизующие полисахарид крахмал, в слизистой оболочке кишечника типичных и факультативных хищников менее, а рыб-бентофагов – более чувствительны к действию Раундапа в широком диапазоне концентраций [5]. Сравнительный анализ показал, что реакция пищеварительных гликозидаз на действие Раундапа зависит от возраста и особенностей экологии рыб. При стандартных значениях температуры и рН Раундап снижает АА в слизистой оболочке кишечника молоди и взрослых рыб бенто- и планктофагов, у взрослых ихтиофагов эффекты отсутствуют [5]. Активность мальтазы и сахаразы в присутствии Раундапа, как правило, повышается у молоди и снижается у взрослых рыб. Концентрационная зависимость эффекта не выявлена, свидетельствуя об отсутствии прямого действия гербицида на активный центр ферментов. Вероятно, компоненты Раундапа могут действовать как на субстрат ферментативной реакции, так и на процессы взаимодействия субстрата и фермента.

Кроме того установлено, что действие некоторых экологических факторов может изменять чувствительность гликозидаз молоди рыб к *in vitro* действию Раундапа [6, 7]. Действие магнитной бури (в диапазоне частот 0–5 Гц) в период раннего эмбриогенеза (48–72 ч после оплодотворения) усиливает чувствительность гликозидаз кишечника сеголетков плотвы к действию Раундапа [6].

Если уровень АА у рыб контрольной группы снижался на 10–12%, то у рыб, подвергнутых действию магнитной бури – на 27–36% во всем диапазоне концентраций. Активность мальтазы, напротив, повышалась на 34–69% у рыб контрольной группы и на 61–69% у рыб опытной группы. При этом прямая зависимость эффекта от концентрации гербицида отсутствует. Такой разнонаправленный эффект связан, главным образом, с типом

фермента, на который оказывает влияние Раундап. Усиление чувствительности гликозидаз к действию Раундапа *in vitro* может быть связано с влиянием магнитной бури в период раннего эмбриогенеза на процессы синтеза панкреатических и мембранных ферментов. Поскольку существует несколько изоформ α -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы, нельзя исключить и молекулярную разнокачественность гликозидаз, функционирующих в кишечнике сеголетков плотвы контрольной и опытных групп [6]. В то же время при хроническом 30-и суточном действии Раундапа в концентрации 2 мкг/л (2 ПДК) выявлено снижение чувствительности гликозидаз, гидролизующих крахмал, к действию Раундапа *in vitro* [7]. Так, торможение АА в кишечнике ротана *Perccottus glenii* (Dyb) контрольной группы в присутствии Раундапа в концентрации 0.1–50 мкг/л составило 47–64, а у рыб опытной группы (после экспозиции в растворе гербицида) – лишь 13–21%. Более низкая чувствительность гликозидаз к *in vitro* действию Раундапа после экспозиции к этому гербициду может свидетельствовать о включении механизмов детоксикации и повышении устойчивости рыб, находившихся в условиях хронического загрязнения.

Таблица. Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника молоди рыб (0+ – 1+) в присутствии Раундапа *in vitro* (n = 5)

Вид (экз.)	Концентрация Раундапа, мкг/л					
	0	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность						
Тюлька (50)	11.7 ± 0.3 ^a	10.3 ± 0.3 ^b	10.3 ± 0.5 ^b	9.51 ± 0.6 ^b	9.20 ± 0.5 ^b	9.10 ± 0.3 ^b
		-12	-12	-19	-21	-22
Карп (12)	228.8 ± 2.0 ^a	193.6 ± 3.9 ^b	179.2 ± 4.8 ^{бв}	176.8 ± 8.6 ^{бв}	173.6 ± 7.9 ^Б	166.4 ± 4.7 ^Б
		-15	-22	-23	-24	-27
Плотва (50)	57.2 ± 1.6 ^a	56.4 ± 3.5 ^a	52.4 ± 3.2 ^{аб}	52.9 ± 1.1 ^{аб}	47.2 ± 1.5 ^{бв}	42.1 ± 1.9 ^Б
					-17	-26
Окунь (50)	34.4 ± 1.2 ^{аб}	37.6 ± 2.1 ^a	32.5 ± 2.6 ^{аб}	31.2 ± 3.0 ^{абв}	28.4 ± 3.1 ^{бв}	24.8 ± 2.1 ^Б
						-28
Щука (12)	0.89 ± 0.02 ^a	0.79 ± 0.02 ^b	0.78 ± 0.02 ^b	0.77 ± 0.03 ^b	0.74 ± 0.03 ^b	0.74 ± 0.01 ^b
		-11	-12	-13	-17	-17
Активность сахаразы						
Тюлька (50)	0.64 ± 0.01 ^a	0.68 ± 0.07 ^a	0.63 ± 0.01 ^a	0.67 ± 0.01 ^a	0.66 ± 0.01 ^a	0.67 ± 0.01 ^a
Карп (12)	1.24 ± 0.09 ^a	1.25 ± 0.11 ^a	1.27 ± 0.04 ^a	1.29 ± 0.05 ^a	1.36 ± 0.13 ^a	1.36 ± 0.10 ^a
Плотва (50)	1.16 ± 0.11 ^a	1.09 ± 0.1 ^a	1.24 ± 0.10 ^a	1.66 ± 0.17 ^{аб}	1.80 ± 0.10 ^a	1.88 ± 0.06 ^a
					+55	+62
Окунь (50)	0.59 ± 0.04 ^a	0.51 ± 0.03 ^a	0.82 ± 0.03 ^b	0.93 ± 0.02 ^b	1.06 ± 0.04 ^Б	1.14 ± 0.00 ^Б
			+39	+58	+80	+93
Активность мальтазы						
Тюлька (50)	4.48 ± 0.08 ^{аб}	–	–	–	4.18 ± 0.19 ^a	4.85 ± 0.08 ^b
						+8
Карп (12)	5.13 ± 0.15 ^a	5.48 ± 0.29 ^{аб}	5.35 ± 0.14 ^{аб}	5.53 ± 0.09 ^{аб}	5.82 ± 0.20 ^{бв}	6.04 ± 0.21 ^Б
					+13	+18
Окунь (50)	1.44 ± 0.05 ^a	–	1.37 ± 0.14 ^a	1.79 ± 0.08 ^b	1.28 ± 0.05 ^a	2.30 ± 0.07 ^Б
				+24		+60

Примечания: над чертой – активность гликозидаз ($M \pm m$), под чертой – сила эффекта в % от контроля; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в строке (ANOVA, LSD-тест), $p < 0.05$; в скобках указано количество рыб (экз.), использованных для приготовления гомогенатов; n = 5; «–» данные отсутствуют.

Таким образом, на примере Раундапа показано влияние глифосатсодержащих гербицидов на активность гликозидаз молоди пресноводных костистых рыб. В большинстве случаев гербицид оказывает тормозящий эффект на АА и стимулирующий на активность дисахаридаз (мальтазы и сахаразы). Наибольший эффект Раундапа отмечен в слизистой оболочке кишечника по сравнению с химусом. Зависимость эффекта от принадлежности к экологической группе у молоди рыб не выявлена.

Список литературы

1. Benbrook C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // Environ. Sci. Eur. 2016. Vol. 28. №3. P. 1–15.
2. Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2000. Vol. 167. P. 35–120.
3. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.
4. Перечень рыбохозяйственных нормативов, предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение // Москва: ВНИРО, 1999. 304 с.

5. Голованова И.Л., Аминов А.И. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз в кишечнике рыб разных экологических групп // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. ИБВВ РАН. Труды. вып. 77 (80). Ярославль: Филигрань, 2017. С. 9–19.
6. Голованова И.Л., Аминов А.И. Влияние некоторых экологических факторов на чувствительность гликозидаз рыб к *in vitro* действию гербицида Раундап // Труды Кар НЦ РАН, серия Экологические исследования. 2016. № 12. С. 96–105.
7. Голованова И.Л., Аминов А.И., Капшай Д.С., Голованов В.К. Физиолого–биохимические и температурные характеристики сеголетков ротана при хроническом действии Раундапа // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2013. № 3. С. 98–103.

ВОПРОСЫ, ВОЗНИКАЮЩИЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Ю. С. Григорьев, Г. Р. Величко, Н. К. Артына

*Сибирский федеральный университет, Институт экологии и географии
660041, г. Красноярск, Россия, gr2897@gmail.com*

Рассмотрены проблемные вопросы, касающиеся использования биотестов при определении токсичности различных видов отходов. В очередной раз поднята нерешенная проблема, какие конкретные виды тест-организмов и в каком количестве применять при установлении опасности отходов. Высказаны соображения о биотестировании высокоминерализованных отходов. Указано на трудности определения токсичности сложных по составу и окрашенных буровых шламов. Предложены пути решения указанных проблем.

Биологические методы оценки состояния окружающей среды при их использовании в экологическом мониторинге наряду с традиционными приемами химического анализа позволяют более комплексно характеризовать качество этой среды.

В Российской Федерации методы биотестирования получили наиболее широкое применение при установлении класса опасности отходов производства и потребления. В соответствии с вышедшим в 2001 году приказом №511 Министерства природных ресурсов и экологии РФ (документ переиздан в 2014 под № 536) для подтверждения отнесения отходов к 5-ому классу опасности, установленному расчетным методом, из них делается водная вытяжка, которая подвергается биотестированию на токсичность. Для этого рекомендовано использовать не менее двух тест-объектов из разных систематических групп. Указано, что за окончательный результат принимается класс опасности, выявленный на тест-объекте, проявившем более высокую чувствительность к анализируемому отходу.

Соглашаясь с последним тезисом данного документа, большие сомнения вызывает тот факт, что не регламентировано положение о выборе этих двух тест-организмов. Ясно, что нет такого организма, который бы одинаково реагировал на все поллютанты и тем более на уровне ПДК. Поэтому в зависимости от выбранной пары тест-объектов результат биотестирования токсичности отхода и, следовательно, заключение о его классе опасности будут различными. С любой точки зрения это не допустимый факт. Более того, такой результат анализа компрометирует само использование биотестирования, как наиболее адекватного методического приема при определении возможного вреда отхода для окружающей среды и установлении его класса опасности.

Нам представляется, что проводить биотестирование отходов следует на трех тест-организмах из трех экологических групп, различающихся по способу питания и организации. В первую группу входят дафнии и цериодафнии, во вторую – водоросли хлорелла и сценедесмус и в третью – парамеции и бактерии. Выбор трех тест-организмов по одному из каждой группы позволит более точно устанавливать класс опасности отходов за счет выявления токсичности основных его компонентов и обеспечит лучшую сходимость результатов анализов, выполненных в лабораториях, работающих с разными тест-организмами.

В том же приказе указывается, что «при исследовании водных вытяжек из отходов с повышенным содержанием (содержание сухого остатка в исследуемой водной вытяжке более 6 г/дм^3) применяется не менее двух тест-объектов, устойчивых к повышенному содержанию из разных систематических групп». В этой связи считаем, что солоноводные организмы следует использовать для контроля тех отходов, которые представляют угрозу прямого загрязнения морей или солоноводных водоемов. В случаях возможного влияния содержащих отходов на пресные водные объекты и организмы в местах хранения (на полигонах, амбарах с буровыми растворами, шламохранилищах и др.), биотестирование должно проводиться на пресноводных тест-объектах. Это обусловлено тем, что повышенное содержание солей может само представлять угрозу для пресноводных экосистем.

Отдельно хочется сказать об определении токсичности буровых растворов, а точнее буровых шламов с целью установления их класса опасности. Состав используемых при бурении скважин буровых растворов очень сильно различается. Не все из них включают в себе солевые компоненты, такие как NaCl , KCl , MgCl_2 и др. В большинстве случаев в буровые растворы добавляются смазывающие жидкости, в качестве которых чаще всего используют отдельные виды нефтепродуктов. Кроме того, в их состав входят водные растворы высокомолекулярных веществ (акрилатов и полисахаридов), И наконец, получаемые после бурения шламы содержат вещества из геологических пород, через которое проходит скважина глубиной до нескольких тысяч метров. Эти отходы даже после удаления твердой фазы в большинстве своем имеют темную окраску, очень мутные и характеризуются сильным запахом нефтепродуктов.

Все перечисленное не позволяет однозначно сказать, какие тест-организмы следует использовать для оценки токсичности этих отходов. Их выбор будет состоять не только в том на солоноводных или пресноводных организмах выполнять биотесты. Плотная окраска буровых шламов делает практически невозможным использовать микроводоросли и рачки для анализа токсичности исходных, неразбавленных вытяжек из них. А это значит, что изначально не будет основания для подтверждения пятого класса опасности таких отходов.

Нам представляется, что токсикологические эксперименты с буровыми шламами следует проводить на фитотестах с семенами растений, определяя процент их прорастания и длину корней. Кроме того, весьма перспективным тест-организмом для выполнения биотестирования этих отходов является водное растение ряска малая. Плавающая на поверхности тестируемых растворов, она не создает трудности в определении токсичности окрашенных проб.

В докладе будут представлены результаты токсикологических экспериментов на солоноводных и пресноводных тест-организмах, а также фитотестах при работе с буровыми растворами и шламами.

СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ВОДЕ ВОДОХРАНИЛИЩ ВЕРХНЕЙ ВОЛГИ

И. Л. Григорьева, Л. И. Хрусталева

*Иваньковская НИС – филиал Института водных проблем РАН
171252, г. Конаково-2, Россия, irina_grigorieva@list.ru*

Приведены концентрации микроэлементов (железо общее, марганец, цинк, медь, свинец) в воде Иваньковского и Угличского водохранилищ. Для Иваньковского водохранилища проведен сравнительный анализ полученных в 2015–2016 гг. данных с результатами более ранних исследований.

При исследовании химического состава природных вод кроме макрокомпонентного состава изучается также и содержание микроэлементов, поскольку повышенные концентрации последних могут оказывать негативное, а порой и токсическое действие, и ухудшать качественные характеристики воды.

Объектами наших исследований были Иваньковское и Угличское водохранилища – первая и вторая ступень Волжского-Камского каскада водохранилищ. Оба водохранилища являются источниками питьевого водоснабжения, поэтому к качеству воды в них предъявляются особые требования.

Иваньковское водохранилище расположено в Европейской части России, на р. Волге. Создано в 1937 г. плотинной Иваньковской ГЭС высотой 22 м у с. Иваньково. Полный объем – 1.12 км³, полезный – 0.81 км³, площадь водного зеркала – 327 км², длина – 134 км, максимальная глубина у плотины – 19 м, средняя – 3.4 м, средняя ширина – 2.2 км, максимальная ширина – 8 км. Длина береговой линии составляет – 520 км, из них берегов, подверженных размыву – 50 км, в том числе интенсивному – 25 км. Водохранилище является самым мелководным из крупных водохранилищ Российской Федерации федерального значения; доля мелководий (акватории с глубинами менее 2 м) составляет 48% площади водного зеркала при нормальном подпорном уровне (НПУ=124 м). Средняя протяженность ледостава 150 суток, максимальная – 163 суток. Водохранилище осуществляет сезонное регулирование стока.

Угличское водохранилище создано в 1939 г. плотинной Угличской ГЭС у г. Углич на р. Волге. Расположено в пределах Угличского района Ярославской области и Кимрского, Калязинского и Кашинского районов Тверской области. По его берегам расположены города: Дубна, Кимры, Калязин. Углич. Полный объем – 1.25 км³, полезный – 0.674 км³, площадь водного зеркала – 249 км², длина – 146 км, максимальная глубина у плотины – 23 м, средняя – 5.0 м, средняя ширина – 2.2 км, максимальная ширина – 5 км.

Химический состав воды водохранилищ в настоящее время довольно хорошо изучен по таким показателям, как солевой состав, биогены, органическое вещество. Меньше данных имеется по содержанию в воде токсических загрязнителей, в частности тяжелых металлов. Чтобы восполнить этот пробел в 2015–2016 г. авторами были произведены исследования на данных водохранилищах с отбором проб воды, в которых были определены концентрации растворенных форм некоторых металлов: железо общее, марганец, цинк, свинец, медь. Определение металлов производилось на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-6800F (производитель Корпорация SHIMADZU, Япония) в аттестованной химической лаборатории Иваньковской НИС – филиал Института водных проблем РАН (аттестат аккредитации № RA.RU.21АН96, выдан 21 ноября 2016 г.).

Железо один из самых распространенных в земной коре металлов (второе место после алюминия), практически все время присутствует в поверхностных водах. В природных поверхностных водах его концентрации не превышают десятые доли миллиграмма в 1 дм³. Наибольшие концентрации (до нескольких десятков и сотен миллиграмма в 1 дм³) наблюдаются в подземных водах с низкими значениями pH. Повышенные концентрации отмечаются в болотных водах, где оно находится в виде комплексов с солями гуминовых кислот – гуматами [1].

Марганец в природные воды поступает, в основном, в результате выщелачивания железомарганцевых руд и других минералов, содержащих марганец, а также со сточными водами марганцевых обогатительных фабрик, металлургических заводов, предприятий химической промышленности и с шахтными водами. Значительные его количества могут поступать в процессе разложения остатков водных животных и растительных организмов. Основным источником поступления меди в природные воды являются сточные воды предприятий химической и металлургической промышленности.

Цинк попадает в результате протекающих в природе процессов разрушения и растворения горных пород и минералов, а также со сточными водами рудообогатительных фабрик и гальванических цехов, производств пергаметной бумаги, минеральных красок, искусственного волокна и др.

Свинец – это рассеянный элемент, содержащийся во всех компонентах окружающей среды: в горных породах, почвах, природных водах, атмосфере, живых организмах. Естественными источниками поступления свинца в поверхностные воды являются процессы растворения эндогенных (галенит) и экзогенных (англезит, церуссит и др.) минералов. Из антропогенных факторов следует отметить сжигание угля, применение (до 2000-х годов) тетраэтилсвинца в качестве антидетонатора в моторном топливе, вынос в водные объекты со сточными водами металлургических заводов, химических производств и т.д. [1].

В незагрязненных поверхностных водах отмечаются следующие концентрации микроэлементов (табл. 1). Результаты определений микроэлементов в, отобранных нами, пробах воды в некоторых створах наблюдений Ивановского и Угличского водохранилищ представлены в таблицах 2–5. В таблице 6 представлены данные авторов [2].

Таблица 1. Концентрации микроэлементов (мкг/дм³) в природных поверхностных водах по [1]

Железо общее	Марганец	Медь	Цинк	Свинец
10–90	1–160	2–30	3–120	0.1–1

Таблица 2. Концентрации растворенных форм металлов (мг/дм³) в замыкающем створе Ивановского водохранилища в различные месяцы 2015 г.

Дата отбора	Железо общее	Марганец	Цинк	Свинец	Медь
14.04	0.13	0.04	0.012	–	0.004
07.05	0.24	0.09	0.023	0.005	0.008
05.08	0.09	0.02	0.047	0.007	0.026
16.09	0.10	0.01	0.015	0.004	0.005
28.10	0.11	0.01	0.016	0.007	0.004
21.12	0.11	0.06	0.015	0.006	0.004

Таблица 3. Концентрации растворенных форм металлов (мг/дм³) в створах Ивановского водохранилища в различные месяцы 2016 г.

Дата отбора	Точка отбора	Железо общее	Марганец	Цинк	Свинец	Медь
16.02	Безбородово	0.18	0.14	0.1174	0.0181	0.0063
30.03	Дубна, ВБ Ивановской ГЭС	0.26	0.11	0.0119	0.0159	0.005
12.05	Безбородово	0.19	0.03	0.0130	0.0208	0.0032
07.06	Дубна, ВБ Ивановской ГЭС	0.10	0.031	0.0698	0.0194	0.0072
09.08	Дубна, ВБ Ивановской ГЭС	0.05	0.02	0.0210	0.0078	0.0052
16.08	Безбородово	0.16	0.03	0.0251	0.0062	0.0069

Таблица 4. Концентрации растворенных форм металлов (мг/дм³) во входном и замыкающем створах Угличского водохранилища в различные месяцы 2015 г.

Дата отбора	Точка отбора	Железо общее	Марганец	Цинк	Свинец	Медь
07.05	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.18	0.08	0.021	0.0036	0.008
01.07	г. Углич, ВБ Угличской ГЭС	0.16	0.02	0.041	0.0120	0.011
16.09	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.10	0.01	0.017	0.0055	0.004
28.10	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.12	0.03	0.107	0.0036	0.004
21.12	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.10	0.05	0.010	0.0071	0.003

Таблица 5. Концентрации растворенных форм металлов (мг/дм³) во входном и замыкающем створах Угличского водохранилища в различные месяцы 2016 г.

Дата отбора	Точка отбора	Железо общее	Марганец	Цинк	Свинец	Медь
30.03	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.47	0.12	0.0121	0.0125	0.0044
07.06	г. Дубна, НБ Ивановской ГЭС	0.16	0.005	0.0459	0.0066	0.0102
28.06	г. Углич, ВБ Угличской ГЭС	0.06	0.005	0.0175	0.0063	0.0034
05.10	г. Углич, ВБ Угличской ГЭС	0.12	0.02	0.0158	0.0066	0.0059

Таблица 6. Содержание микроэлементов в воде замыкающего створа Ивановского водохранилища в 1977 г., по [2]

Сезон	Железо общее	Марганец	Медь	Цинк
Зима	0.225	0.081	0.007	0.0465
Весна	0.275	0.070	0.007	0.0215
Лето	0.220	0.085	0.008	0.0195
Осень	0.240	0.045	0.007	0.034

Анализ полученных результатов показал, что наибольшие концентрации железа общего и марганца в воде Ивановского водохранилища отмечаются весной, когда происходит наполнение водохранилища после сработки уровня и поступают болотные воды с водосбора. Максимальные концентрации цинка, свинца, меди в замыкающем створе отмечены летом, в створе Безбородово – зимой и летом.

В воде Углицкого водохранилища наибольшие концентрации железа общего и марганца отмечаются в конце марта, в период наибольшей сработки уровня воды.

По сравнению с 1977 г. (табл. 6) диапазон изменения концентраций железа общего, марганца и меди в воде Ивановского водохранилища остался прежним, что свидетельствует о том, что на содержание этих микроэлементов в воде влияют, в основном, природные факторы. В последние годы в воде Ивановского водохранилища, по сравнению с концом 70-х, возросли концентрации цинка.

В воде Углицкого водохранилища, по сравнению с Ивановским, в отдельные периоды отмечены более высокие концентрации меди и свинца.

Полученные концентрации во всех створах наблюдений не превышали региональных значений. Аномальных зон загрязнения воды водохранилища тяжелыми металлами выявлено не было.

Список литературы.

1. Зенин А.А., Белоусова Н.В. Гидрохимический словарь. Л.: Гидрометеиздат, 1988. 239 с.
2. Кадукин А.И., Красинцева В.В., Романова Г.И., Тарасенко Л.В., Турунина Н.В. Баланс органического вещества, биогенных элементов и микроэлементов в Ивановском водохранилище // Водные ресурсы. №4. 1980. С. 120–131.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РУЧЬЯ МАРГАНЦОВЫЙ В ЗОНЕ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЗАО «ЗОЛОТО СЕВЕРНОГО УРАЛА» ПО КОМПЛЕКСУ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Т. В. Еремкина, Н. Б. Климова, Н. В. Чечулина

Уральский филиал ФГБНУ «Госрыбцентр», 620086, г. Екатеринбург, Россия, tver60@mail.ru

В работе обобщены результаты гидробиологических (фитопланктон, зоопланктон, макрозообентос) и токсикологических исследований, проведенных впервые в 2016 г. на ручье Марганцовый (Свердловская область) в зоне деятельности ЗАО «Золото Северного Урала».

Воронцовское золоторудное месторождение, разрабатываемое ЗАО «Золото Северного Урала», расположено в 12 км к югу от г. Краснотурьинск Свердловской области вблизи пос. Воронцовка, в бассейне р. Каква (восточный склон Северного Урала), левобережным притоком которой является ручей Марганцовый. Река Каква относится к разряду малых рек (общая длина реки 174 км, площадь водосбора – 1970 км²), ручей Марганцовый – к очень малым водотокам (общая длина водотока – 5 км, площадь водосбора – 12.8 км²).

На исследуемом участке водосбора южнее пос. Воронцовка с середины XIX в. производилась добыча железных руд и рассыпного золота, в результате которой местность вокруг поселка и верховья долины ручья Марганцовый значительно трансформированы. В результате продолжительной антропогенной деятельности в верхней части бассейна ручья произошло осушение заболоченных лесных массивов, снизился уровень подземных вод, что вызвало прекращение стока в русле водотока практически на всем его протяжении большую часть года. В настоящее время ручей Марганцовый является приемником сточных вод (карьерных, подотвальных, очищенных хозяйственно-бытовых, ливневых) трех выпусков ЗАО «Золото Северного Урала». При этом водоотведение карьерных и дренажных вод в верховья русла ручья позволяет сохранить его водность в течение всего года.

Анализ результатов мониторинговых исследований поверхностных вод рек Каква и ручья Марганцовый в створах по течению выше и ниже местоположения предприятия показал, что основными загрязняющими воду компонентами являются ионы тяжелых металлов (Pb, Cu, Co, Cd, Fe) и мышьяк (As), фиксируется изменение pH вод, что приводит к нарушению естественного гидрохимического режима водотоков [1]. Основным источником загрязнения поверхностных вод являются подземные воды, загрязненные в результате инфильтрационных процессов, и поверхностный сток с площади водосбора. В подземных водах, подстилающих рудные штабели кучного выщелачивания, происходит формирование гидрогеохимических потоков загрязнения площадью до 5 км². Использование замкнутой системы промышленного водоснабжения на Воронцовском месторождении исключает прямое воздействие промышленных стоков на поверхностные воды.

Отбор проб для гидробиологического и токсикологического анализа, их транспортировку, хранение и обработку проводили по стандартным методикам [2, 3] на 4 постоянных станциях в ручье Марганцовый, а также выше и ниже впадения ручья в р. Каква, в течение вегетационного сезона (апрель–сентябрь). Острую и хроническую токсичность оценивали с использованием тест-объекта *Daphnia magna* Straus. Изучение фито-, зоопланктона и макрозообентоса, определение токсичности вод в ручье Марганцовый проводилось впервые.

За исследуемый период в фитопланктоне ручья Марганцовый выявлено 65 видов, разновидностей и форм водорослей из 6 отделов (см. рисунок), что свидетельствует о низком уровне таксономического разнообразия. Лидирующие позиции в таксономической структуре сообщества занимают диатомовые водоросли (66 % от общего разнообразия), цианопрокариоты и эвгленовые водоросли находятся на равных позициях (по 9 %), несколько меньше разнообразие зеленых водорослей (8 %). Динофитовые и золотистые водоросли представле-

ны единично. В р. Каква, принимающей воды ручья, таксономическая структура фитопланктона несколько иная. В составе фитопланктона идентифицировано 66 видов, разновидностей и форм водорослей из 4 отделов. Основу видового богатства формировали диатомовые водоросли (68 %), второе место занимали зеленые (24 %), разнообразие цианопрокариот и эвгленовых водорослей было значительно ниже (5 и 3 % соответственно). Представители других отделов не выявлены.

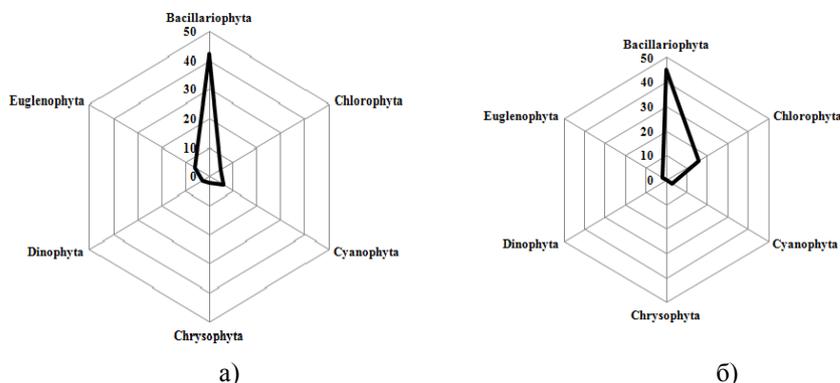


Рис. Таксономическая структура фитопланктона ручья Марганцовый (а) и р. Каква (б).

В ручье Марганцовый максимальное видовое разнообразие наблюдалось в среднем течении водотока (22 таксона), минимальное – в верховьях (10), ниже выпуска карьерных вод. В р. Каква видовое разнообразие водорослей до впадения ручья Марганцовый было выше такового после его впадения (40 и 25 таксонов соответственно). Весенний и осенний фитопланктон в обоих водотоках был менее разнообразен, чем летний.

Основу фитопланктона как ручья Марганцовый, так и исследуемого участка р. Каква формировали широко распространенные виды: *Stephanodiscus hantzschii* Grun. in Cl., *Diatoma vulgare* Bory, *Meridion circulare* (Greg.) Ag., *Synedra acus* Kütz., *Synedra ulna* (Nitzsch.) Ehr., *Chlamydomonas incerta* Pasch., *Nitzschia sigmoidea* (Nitzsch.) W. Sm. и др. По отношению к минерализации и рН воды преобладали индифференты.

В ручье Марганцовый численность фитопланктона варьировала от 0.01 до 9.03 млн. кл/л, биомасса – от 0.03 до 37.77 г/м³. В верховьях ручья, ниже выпуска карьерных вод фитопланктон отсутствовал в апреле и июле. В р. Каква фитопланктон в апреле отсутствовал, в последующие периоды степень его развития была существенно ниже, чем в ручье: численность составила 1.44–2.82 млн. кл/л, биомасса – от 0.76 до 12.56 г/м³. Максимальная численность и биомасса фитопланктона наблюдалась в верховьях ручья Марганцовый (на фоновой станции) в апреле за счет массового развития представителей рода *Chlamydomonas*. Основу численности и биомассы сообщества в весенний период на всех других станциях наблюдений в ручье также формировали зеленые водоросли рода *Chlamydomonas* (до 89 и 99 % соответственно). В начале лета и осенью на большинстве станций господствовали диатомовые водоросли (90–95 %). В июне в среднем течении ручья и ниже выпуска хозяйственно-бытовых и ливневых сточных вод, а в сентябре – в верховьях водотока ниже сброса карьерных вод по численности доминировала *Jaaginema subtilissimum* (Kütz.) Anagn. et Komarek 1988 (= *Oscillatoria subtilissima* Kütz. 1847), формируя от 40 до 96 % от общей численности сообщества. В р. Каква практически весь сезон доминировали диатомовые водоросли, достигая 91 % численности и 98 % биомассы. В июне выше впадения ручья лидирующее положение по численности (66.8 %) занимала *J. subtilissimum*.

Индекс сапробности, рассчитанный по методу Пантле-Бука в модификации Сладечека [3], достигал (1.52–2.30) ед. для ручья Марганцовый и (1.45–2.15) ед. для исследуемого участка р. Каква. По классификации, предложенной С.С. Бариновой с соавт. [4], воды обоих водотоков в исследуемый период можно охарактеризовать как β-мезосапробные, III класса качества.

Первые данные по таксономическому составу и развитию водорослевых сообществ в ручье Марганцовый свидетельствуют о влиянии совокупности природных и антропогенных факторов на формирование локальных альгоценозов. Общее состояние сообщества фитопланктона можно охарактеризовать как неустойчивое равновесие.

Видовой состав зоопланктона ручья Марганцовый в 2016 г. был беден, выявлено всего 8 видов из 3 отделов, из них 1 вид – веслоногие ракообразные, 6 видов ветвистоусых и 1 вид коловраток. Подавляющее большинство из них – эвритермные виды. Зоопланктон реки Каква был представлен 5 видами из 2 отделов: 2 вида – веслоногие ракообразные, 3 – ветвистоусые, коловраток не обнаружено. Наиболее разнообразен был зоопланктон в верховьях ручья ниже выпуска карьерных вод. Там было идентифицировано 6 видов, на остальных станциях их количество в течение всего сезона не превышало 3. В апреле и июле зоопланктон развивался только в верховьях водотока на фоновой станции и в среднем течении ручья, на остальных станциях наблюдений гидробионты не обнаружены. В сентябре зоопланктона не было в верховьях ниже сброса карьерных вод и в среднем течении ручья. На всех станциях наблюдений в ручье Марганцовый присутствие зоопланктона было отмечено только в июне. В р. Каква видовое разнообразие зоопланктона было максимальным в летние месяцы.

Максимальная численность (332 экз./м³) и биомасса (1.62 мг/м³) зоопланктона (средняя за сезон) в ручье Марганцовый отмечена в верховьях ниже выпуска карьерных вод. Основу численности здесь формировали *Diaphanosoma brachyurum* Lievin, 1848, *Cyclops vicinus* Uljanin, 1875 и *Bosmina kessleri* Uljanin, 1874 (90.4 %), биомассы – *D. brachyurum* и *C. vicinus* (89.5 %). Минимальными показателями развития зоопланктона с численностью 27 экз./м³ и биомассой 0.08 мг/м³ выделялось нижнее течение водотока после выпуска хозяйственно-

бытовых и ливневых сточных вод. На этом участке ведущие позиции в структуре сообщества занимал β -мезосапроб *B. kessleri*. Среднесезонная численность и биомасса организмов в реке Каква до впадения ручья Марганцовый (347 экз./м³ и 0,94 мг/м³) была выше, чем после (113 экз./м³ и 0,31 мг/м³). Основу численности (34,6 – 82,3) % и биомассы (29,8 – 71,0) % на обеих станциях формировал *Chydorus sphaericus* O.F. Muller, 1785. Зоопланктон ручья Марганцовый и р. Каква в 2016 г. имел кладоцерный характер. Из-за низких значений численности и биомассы условия для развития кормовой базы для ихтиофауны в исследуемых водотоках можно охарактеризовать как неблагоприятные.

В составе макрозообентоса ручья Марганцовый выявлено 17 видов из 8 групп (хируномиды, олигохеты, веснянки, поденки, комары-долгоножки, мухи, ручейники, клещи), на исследуемом участке р. Каква – 4 вида из 3 групп (хируномиды, поденки, комары-долгоножки). В ручье Марганцовый бентос наиболее разнообразен был в верховьях водотока на фоновой станции (8 видов), минимальное число видов идентифицировано в нижнем течении водотока после выпуска хозяйственно-бытовых и ливневых сточных вод (2 вида). В р. Каква зообентос отмечен только ниже впадения ручья Марганцовый. На станции выше впадения ручья донная фауна отсутствовала на протяжении всего периода наблюдений.

Следует отметить массовое развитие клещей рода *Hydrachna* Müller, 1776 в апреле в верховьях ручья на фоновой станции. Видовой состав зообентоса ручья Марганцовый отличает присутствие полисапробных и политоксобоных видов (*Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri*), способных выдерживать высокий уровень органического загрязнения и пониженное содержание кислорода в воде, и преимущественное развитие эврибионтов (*Nemurella pictetii*, *Procladius ferrugineus*, *Ablabesmyia gr. lentiginosa* и др.).

Для сезонной динамики численности и биомассы бентоса исследуемых водотоков является повышенное значение этих показателей в весенний сезон относительно осени, и их увеличение в период вегетации, что характерно для малых рек и ручьев Урала [5, 6]. Максимальная численность и биомасса (средняя за сезон) зообентоса в ручье Марганцовый отмечена в среднем течении (547 экз./м² и 1,8 мг/м² соответственно). Средняя за сезон численность донной фауны в ручье составила 307 экз./м², биомасса – 1,0 мг/м².

В ручье Марганцовый в фоновом створе наблюдений в состав доминирующего комплекса входили хируномиды *P. ferrugineus* и *Procladius olivacea*, формируя от 48 до 83 % численности и (50–54) % общей биомассы. В верховьях ручья ниже выпуска карьерных вод максимальной численности в весенний период достигали личинки веснянок *N. pictetii* (44 %), биомассы - малощетинковые черви *Eiseniella tetraedra* (62,5 %). Особи этого вида дождевых червей нередко встречаются в пресных водоемах у берегов. В среднем течении водотока основу численности (77,4 %) и биомассы (46,8 %) в летний период составляли олигохеты *T. tubifex*.

В р. Каква ниже впадения ручья в начале лета бентофауны формировали реофильные формы личинок хируномид *Eukiefferiella sp.* (50 % от общей численности) и поденки *Ephemeroptera sp.* (50 % численности и 94,1 % биомассы). В июле на этой станции в незначительном количестве попадались только личинки комаров-долгоножек *Dicranota bimaculata*, осенью – личинки хируномид *Procladius ferrugineus*. Средняя за сезон плотность зообентоса р. Каква ниже устья ручья Марганцовый составила 67 экз./м², биомасса – 0,49 мг/м².

В целом, для макрозообентоса ручья Марганцовый и исследуемого участка р. Каква характерны обедненный видовой состав и невысокие биомассы. В сообществе донных организмов отмечено доминирование полисапробов и эврибионтов, способных выдерживать высокий уровень органического загрязнения, и отсутствие видов, ценных в пищевом отношении.

В ходе эксперимента по оценке острой токсичности вод ручья Марганцовый и р. Каква установлено отсутствие острой токсичности в апреле и сентябре, смертность тест-организмов не превышала 10 %. В июне острой токсичностью в ручье Марганцовый обладала вода в верховьях водотока ниже выпуска карьерных вод и в нижнем течении после выпуска хозяйственно-бытовых и ливневых сточных вод. Выживаемость тест-организмов составила 73,4 и 83,4 % соответственно. В р. Каква острая токсичность при выживаемости тест-организмов 60 % в это же время наблюдалась выше впадения ручья. В июле качество воды в обоих водотоках было наихудшим. Практически на всех станциях наблюдений, за исключением верховьев ручья после выпуска карьерных вод, где выживаемость дафний составила 100 %, вода обладала острой токсичностью. Смертность тест-организмов варьировала от 30 до 40 %.

По результатам хронического эксперимента отсутствие хронической токсичности было установлено в ручье Марганцовый в апреле – в среднем и нижнем течении после выпуска хозяйственно-бытовых и ливневых сточных вод, в июне – в среднем течении, в июле - в верховьях ручья после выпуска карьерных вод. В остальных случаях выявлено наличие хронической токсичности при гибели 50 % и более тест-организмов.

По сравнению с контролем у тест-организмов наблюдалось угнетение репродуктивной способности, проявляющееся в отсутствии молоди. Присутствие токсичных соединений в воде ручья Марганцовый и р. Каква проявилось в следующих реакциях тест-организмов:

- молодь в опытных вариантах на отдельных станциях наблюдений появлялась только при разбавлении воды в 2 раза;
- увеличился период созревания рачков: если в контроле дафнии давали 1-й помет на 8–10 сутки, то у большинства самок в испытуемых пробах он появлялся только на 22–25 сутки;
- количество пометов в опытах в 2 раза ниже, чем в контроле, т.к. после рождения молоди самки погибали;
- родившиеся рачки погибали в течение первых 4 – 10 суток (до 75% всей молоди);
- у выживших молодых рачков наблюдались нарушения линьки. Если первая линька проходила без каких-либо затруднений, то вторая характеризовалась явными нарушениями: рачки не могли освободиться от старого карапакса и погибали;
- у взрослых дафний наблюдались бактериальные обрастания карапакса.

Результаты биотестирования существенно различались как по станциям наблюдений, так и в сезонном аспекте, что свидетельствует о нестабильности экологических условий в речном континууме и является следствием комплексного воздействия на биоту различных загрязнений, в том числе и токсичных соединений.

Таким образом, первые результаты гидробиологических и токсикологических исследований ручья Марганцовый свидетельствуют о том, что в условиях длительного антропогенного воздействия на площадь водосбора в исследуемом водном объекте сформировались сообщества гидробионтов с невысоким видовым разнообразием. Для всех групп гидробионтов характерны низкие значения численности и биомассы, доминирование видов, способных выдерживать высокий уровень загрязнения, и отсутствие видов, ценных в пищевом отношении. Нестабильное состояние экосистемы ручья Марганцовый и исследуемого участка р. Каква обусловлено присутствием комплекса токсикантов, оказывающих хроническое, а в отдельных случаях и острое, токсическое действие на биоту водотока.

Список литературы

1. Акименко Д.О. Снижение экологической опасности рудных штабелей кучного выщелачивания золотоносных руд. Автореф. дисс... канд. техн. наук: ФГБОУ ВПО Нац. минер.-сыр. ун-т «Горный». 2014. 183 с.
2. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М. 1975. 240 с.
3. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л. 1983. 239 с.
4. Барина С.С., Медведева О. В., Анисимова О. В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив. 2006. 498 с.
5. Шубина В.Н. Бентос лососевых рек Урала и Тимана. СПб: Наука, 2006. 416 с.
6. Еремкина Т.В., Климова Н.Б., Симонова В.Г., Трифонов А.Е., Чечулина Н.В. Структура и функционирование экосистем малых рек Среднего Урала в условиях интенсивной хозяйственной деятельности // Экосистемы малых рек: биоразнообразие, экология, охрана. Матер. II-й Всеросс. школы-конференции, 18–22 ноября 2014 г. ИБВВ РАН. Ярославль: Филигрань, 2014. Т. II. С. 130–132.

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО ИНТЕГРАЛЬНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ С УЧЕТОМ РЕГИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ (НА ПРИМЕРЕ НОВОСИБИРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА)

Н. И. Ермолаева, С. Я. Двуреченская

*Институт водных и экологических проблем СО РАН, Новосибирский филиал
630090, г. Новосибирск, Россия, hope413@mail.ru*

В работе обсуждается необходимость учета региональных особенностей для оценки экологического состояния водоемов и водотоков. Для гидробиологических показателей необходимо использовать региональные индексы индикаторной значимости. Для гидрохимических – учитывать региональный фон и вычленять антропогенную составляющую.

Ранее нами на примере серии расчетов индикаторных валентностей видов зоопланктона на основе частот встречаемости гидробионтов в водоемах разного типа показана необходимость определения индикаторной значимости зоопланктонных организмов с учетом региональных особенностей водоемов Западной Сибири [1].

Наиболее используемым методом определения степени органического загрязнения воды по показателям зоопланктона является индекс Пантле и Букк в модификации Сладечека. Как правило, величины индикаторной значимости и индикаторный вес вида-индикатора зоопланктона находят по опубликованным таблицам, рассчитанным для условий Западной Европы. Однако этот метод в климатических условиях разных регионов должен применяться с поправками. Кроме того, необходимо учитывать различия фауны средневропейских и сибирских водоемов. Важно не только зоогеографическое, но и геохимическое районирование, поскольку фоновые концентрации ряда веществ, как биогенных, так и токсичных, в разных регионах могут значительно различаться. Изучение элементного химического состава почв, растений и вод показало, что Западная Сибирь представляет сложный в биогеохимическом отношении регион [1]. Известно, что содержание различных химических элементов в ландшафтных компонентах экосистем европейской части России и Западной Сибири существенно различаются. Для водных объектов Верхней Оби характерно повышенное содержание растворенного железа, меди и марганца. При этом варьирование в течение года может быть связано как с природными факторами, так и с антропогенным воздействием.

Цель данной работы – выработка подходов определения экологического состояния водоемов и водотоков с учетом региональных особенностей.

По результатам изучения экологического состояния водоемов и водотоков Западной Сибири (в том числе Новосибирского водохранилища) неоднократно отмечалось, что при подсчете индекса Пантле и Букк по значениям индикаторной значимости зоопланктонных организмов, приведенным для европейских водных объектов, индекс сапробности оказывается завышенным по сравнению с реальным состоянием водоема или его участка. Ошибка может варьировать в широких пределах, в зависимости от видового состава зоопланктоценоза и от доли представленности видов-индикаторов. При сопоставлении полученных индексов сапробности с классами качества воды по гидрохимическим показателям обнаруживается несоответствие [1]. По гидрохимическим показателям водоем попадает в один класс качества, а по гидробиологическим – в другой, как правило, худший. Сравнение данных, полученных нами и взятых из литературных источников, показало, что определенные виды зоопланктона, например такие, как *Alonella nana* (Baird), *Keratella hyemalis* Carl., *Cyclops strenuus* Fisch. и др.

отличаются по индикаторным свойствам, обитая в разных географических районах, например, на юге Западной Сибири и в Европе. При этом по индексу сапробной валентности они попадают совсем в другой класс качества вод. Поэтому для условий юга Западной Сибири и водоемов Алтайского края предпочтительно использовать региональные значения индикаторной значимости видов зоопланктона.

Определение экологического статуса водоема исключительно по гидрохимическим показателям с использованием традиционных методов [2] также не является абсолютно адекватным. На примере Новосибирского водохранилища показана необходимость учета *региональных* фоновых концентраций химических веществ при определении класса качества воды. Аналогом фоновых концентраций в определенной степени могут служить целевые показатели качества воды (ЦПКВ), определяемые для конкретных речных бассейнов [3]. Для расчетов в качестве региональных фоновых были взяты значения целевых показателей качества воды для хозяйственных участков в бассейне р. Оби (по данным за 2009 г. из утвержденного Приказом Нижне-Обского бассейнового управления №285 от 25.08.2014 г. СКИОВО (Схема комплексного использования и охраны водного объекта) бассейна р. Обь) [4], и значения концентраций химических ингредиентов также за 2009 г., полученные непосредственно в результате мониторинга качества воды Новосибирского водохранилища. Использование ЦПКВ позволяет (в отличие от применяющейся до сих пор системы, опирающейся на ПДК_{рх} практически для всех водных объектов России) учитывать существующие особенности формирования качества воды конкретного водного объекта. Для бассейна р. Обь установлены долгосрочные целевые показатели качества воды в водных объектах (ЦПКВ). Они учитывают природные и неустраняемые антропогенные факторы формирования качества воды.

Весьма распространённая оценка качества воды бассейна р. Обь по методике ГХИ («грязная» и «очень загрязнённая») свидетельствует о напряжённой экологической обстановке [5]. Однако едва ли не основными причинами, по которым расчетные гидрохимические показатели дают такую характеристику, является высокое (по отношению к ПДК_{рх}) содержание отдельных химических ингредиентов, например: азота нитритного, железа, марганца и меди. При этом совершенно не рассматривается происхождение (природное или антропогенное) того или иного вещества. Это может приводить к грубым ошибкам в определении класса качества воды. Следует отметить, что даже один химический ингредиент может приводить к ухудшению класса качества воды в целом. Однако существенная часть загрязняющих веществ, которые попадают в водные объекты, имеют природное происхождение. Такие загрязняющие вещества в больших количествах поступают в водные объекты с водосборной территории, как от природных, так и от антропогенных источников, которые не поддаются непосредственному регулированию и даже учету. В рамках СКИОВО [4] показано, что в некоторых частях бассейна многократные превышения концентраций отдельных химических веществ над ПДК могут быть вызваны исключительно природными факторами формирования качества воды. Сопоставление наблюдаемых концентраций качества воды со значениями, которые в соответствии с терминологией СКИОВО характеризуют «природное загрязнение», даёт более реальную картину влияния антропогенной составляющей на качество воды в водных объектах.

Нами для сравнения были проведены расчеты классов качества воды Новосибирского водохранилища разными способами: сравнением полученных при мониторинге концентраций химических веществ с ПДК_{рх}, с ЦПКВ и сравнением с ПДК_{рх} величины, представляющей собой разность концентраций, полученных при мониторинге и ЦПКВ [3]. Последнее представляет, по нашему мнению, как раз аналог антропогенной составляющей. Если принять ЦПКВ в качестве условно «природного загрязнения» или природного фона, то тогда антропогенное загрязнение определяется превышением значений ЦПКВ.

Для Новосибирского водохранилища в районе выклинивания подпора (створ у г. Камень-на-Оби) получены следующие результаты: при сопоставлении концентраций химических ингредиентов с ПДК_{рх} класс качества воды соответствовал градации «очень загрязнённая», а при сопоставлении с фоновыми показателями – «загрязнённая». Таким образом, класс качества воды сдвигался в более «чистую» область. Для других створов водохранилища при таком подходе класс качества воды хоть и оставался без изменения, но численные значения интегральных показателей качества воды свидетельствовали об улучшении качества воды.

Таким образом, «вычленение» природной составляющей приводит к более точному определению антропогенного загрязнения.

Для более полной оценки качества воды особое значение имеет оценка привнесения загрязняющих веществ в водные объекты от точечных и диффузных источников. Антропогенная составляющая формирования качества поверхностных вод часто уже соизмерима с природной составляющей, что представляет угрозу устойчивому водопользованию. Все усиливающееся техногенное воздействие на экосистему часто превосходит влияние процессов самоочищения и снижает самоочищающую способность водохранилищ. Особую тревогу вызывает чрезмерное привнесение биогенных веществ, что в условиях замедленного водообмена вызывает массовое развитие сине-зеленых водорослей. "Цветение" воды значительно ухудшает её качество, снижает рекреационный и рыбохозяйственный потенциал водохранилищ.

Кроме того, весьма существенным для определения экологического состояния водоема являются условия отбора проб: гидрологические условия, инсоляция, степень ветроволнового перемешивания, температура и даже время суток, в которое производится отбор проб. При изучении суточных колебаний гидрохимических и гидробиологических показателей выявлено, что размах колебаний ряда характеристик может быть сравним с межсезонными колебаниями. Так, показатели рН в течение суток в одной и той же точке могут изменяться более, чем на 1. В зависимости от степени прогрева воды изменяются показатели БПК₅, кислородный режим и пр. Соответственно, изменяются и биотические показатели. Так, численность фито- и зоопланктона, как и соотношение групп в сообществе, могут изменяться на порядки [6]. Таким образом, при проведении долгосрочного мони-

торинга необходимо проводить наблюдения не только в одних и тех же репрезентативных пунктах отбора, но и в сходных условиях.

При использовании количественных показателей зоопланктона для оценки качества воды необходимо учитывать, что различные систематические группы дают различный отклик на изменения условий среды, в том числе гидрохимических характеристик. Анализ корреляции отдельных групп зоопланктона с факторами среды в условиях Новосибирского водохранилища показал, что динамика численности коловраток не зависела от температуры и гидрохимических показателей, а динамика численности веслоногих рачков была связана обратной зависимостью с концентрацией кислорода, с температурой, с рН и с БПК₅ [6]. При этом численность ветвистых наоборот была в прямой зависимости от этих параметров. При рассмотрении сообщества в целом эти корреляционные связи не прослеживаются, поскольку корреляция с рассмотренными показателями в разных группах зоопланктона имеет разные знаки.

Таким образом, оценка качества воды водохранилищ по принятым в настоящее время комплексным интегральным показателям не отражает истинную картину загрязненности воды, т.е. отнесение воды к определенному классу качества следует считать условным, т.к. эти показатели не дают возможности разделить вклад природной и антропогенной составляющих. Более корректно сопоставление концентраций химических веществ с региональными фоновыми значениями, что дает возможность вычленивать вклад антропогенного загрязнения.

При оценке качества воды необходим интегральный подход, включающий как гидрохимические, так и гидробиологические индикаторные показатели при обязательном учете воздействия региональных факторов. Для гидробиологических показателей необходимо использовать региональные индексы индикаторной значимости. Для гидрохимических – учитывать региональный фон и вычленивать антропогенную составляющую. Мониторинговые исследования необходимо проводить в одних и тех же точках в максимально сходных условиях.

Список литературы

1. Ermolaeva N.I., Dvurechenskaya S.Ya Regional Indices of the Indicator Significance of Zooplanktonic Organisms in Water Bodies of Southern Western Siberia // Russ. J. of Ecol. 2013. V.44. № 6. P. 526–530.
2. РД 52.24.643-2002. Методические указания. Метод комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям. СПб.: Гидрометеоздат, 2003. 49 с.
3. Двуреченская, С.Я., Булычева, Т.М. К вопросу о методических подходах к определению качества воды по интегральным показателям (на примере Новосибирского водохранилища) // Вода: химия и экология. 2015. №10. С. 32–37.
4. Приказ Нижне-Обского бассейнового управления № 285 от 25.08.2014г. СКИОВО бассейна р. Обь, <http://www.nobwu.ru/docs/ndviskiovo/order-skiovo-ob.jpg>
5. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Новосибирской области в 2013 году». Новосибирск: Департ. природн. Ресурс. и охраны окруж. среды Новосибирской обл., 2014. 220 с.
6. Ермолаева Н.И., Зарубина Е.Ю., Двуреченская С.Я. Суточная динамика гидрохимических показателей и зоопланктона в литорали Новосибирского водохранилища // Поволжский экологический журнал. 2016. №2. С. 155–166.

ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУННОЙ И ГЕРМИНАТИВНОЙ СИСТЕМ ГОЛОВЕШКИ-РОТАНА *PERCCOTTUS GLENNI* ПОД ВЛИЯНИЕМ СУБЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЕРБИЦИДА РАУНДАП®

Е. А. Заботкина, И. Л. Голованова, В. К. Голованов

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742, Борок, zabel@ibiw.yaroslavl.ru*

Исследовано хроническое действие гербицида Раундап в концентрации 2 мкг/л на структуру ткани и клеток почек, селезенки, печени и гонад головешки-ротана. Впервые показано, что Раундап вызывает изменение структуры тканей и клеток иммунокомпетентных органов и органов герминативной системы.

Раундап (Roundup) является одним из наиболее широко применяемых в мире, в том числе в России, системных неселективных гербицидов. В дозе 2–4 л/га он рекомендован для уничтожения однолетних и многолетних сорняков зерновых и бахчевых культур, картофеля, сои и др., особенно генно-модифицированных растений [1], а 8–10 л/га – для уничтожения растительности оросительных каналов [2]. Действующим веществом пестицида является глифосат (N-(фосфометил)-глицин, C₃H₈NO₅P), который в России также выпускается под торговыми марками «Раундап», «Глифор», «Торнадо» и «Ураган», [2]. Период полураспада глифосата в почве составляет от 6 до 90 сут, в воде – 7–14 сут, в донных отложениях водоемов – до 120 сут [3]. Токсическое действие глифосата обусловлено ингибированием 5-еноил-пирувил-шикимат-3-фосфат-синтазы (EPSPS[2], КФ 2.5.1.19) растений, которая является компонентом шикиматного пути биосинтеза бензоидных ароматических соединений – предшественников фенилаланина, тирозина и триптофана, пара-аминобензоата, терпеноидных хинонов, ряда других важных метаболитов, лигнинов и др. Глифосат занимает в активном центре фермента место фосфоенолпирувата и блокирует его активность [2]. Животные не имеют ферментной системы шикиматного пути и получают эти аминокислоты и прочие компоненты с пищей. Долгое время глифосат считали малотоксичным для животных гербицидом, что подтверждается его высокой полураспадающей дозой (LD₅₀) – более 5000 мг/кг веса при внутреннем употреблении в экспериментах на крысах, более 10000 мг/кг для мышей. Для гидробионтов указанные дозы значительно ниже – значения LC₅₀ (96 ч) для рыб варьируют от 2 до 55 мг/л в зависимости от вида, стадии жизненного цикла и условий эксперимента [3].

У рыб Раундап и его действующее вещество – глифосат – вызывают повреждение митохондрий в клетках органов, окислительный стресс в тканях, гиалиновую дистрофию почек, повреждение генетического аппарата клеток, в том числе половых, увеличение уровня гематокрита, количества клеток красной и белой крови [4, 5]. В острых опытах по влиянию различных концентраций Раундапа показано увеличение гематокрита и угнетение иммунных функций, в том числе фагоцитоза, повреждение структуры гепатоцитов, увеличение меланомакрофагальных центров [6].

Головешка-ротан *Percottus glenii* Дуб является видом-вселенцем для водоемов бассейна Верхней Волги. Его природный ареал расположен на Дальнем Востоке, в Китае и Северной Корее, в настоящее время он широко распространен в водоемах Северной Евразии. Ротан хорошо адаптируется к действию природных и антропогенных факторов, угнетая популяции аборигенных видов рыб. Отметим, что хроническое действие Раундапа и последующего теплового шока на гематологические характеристики ротана-головешки ранее не исследовалось.

Цель работы – изучить хроническое действие сублетальной концентрации гербицида Раундап и последующего нагрева на некоторые характеристики клеток красной и белой крови молоди головешки-ротана.

Молодь ротана (масса 3.12 ± 0.17 г, длина тела – 5.44 ± 0.10 см) отловлена в конце сентября в одном из прудов Ярославской области (Россия) при температуре воды 16°C . Для акклимации рыб в течение 3 недель содержали в 200 л стеклянных аквариумах с дехлорированной водопроводной водой при постоянной аэрации и температуре воды $15.5 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7.5–7.6, кислород 8.0–9.7 мг/л при естественном фотопериоде. В период акклимации и эксперимента рыб кормили 1 раз в сутки личинками хирономид *Chironomus* sp. из расчёта 4% от общей массы тела.

После акклимации рыбы были распределены в четыре 135 л стеклянных аквариума по 25 экз. в каждом. Рыб контрольной группы поместили в 2 аквариума без добавления гербицида, рыб опытной группы – в 2 аквариума с водой, содержащей Раундап в концентрации 2 мкг/л (по глифосату). Использовали коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название «Раундап» (ЗАО «Август», Россия, по лицензии «Монсанто Европа С.А.», Бельгия). Смену воды и раствора гербицида проводили 1 раз в 3 дня без отсадки рыб. Через 30 сут экспозиции у 6 рыб из каждой группы после механического оглушения отбирали кусочки туловищного отдела почек, селезенки, печени и гонад для последующей фиксации и подготовки материала для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии. В качестве фиксатора использовали 2.5% глутаральдегид на 0,1 М фосфатном буфере с pH 7.2 и 1% четырехокись осмия (OsO_4) на том же буфере. Затем образцы обезвоживали в спиртах возрастающих концентраций и ацетона, и заливали в смесь эпоксидных смол Аралдит-Эпон по стандартной методике. Из заливок приготавливали ультратонкие срезы на ультратоме Leica EM, которые контрастировали 1% водными растворами уранилацетата и цитрата свинца и срезы просматривали под трансмиссионным микроскопом Jem 1011 (Япония).

Результаты исследования показали, что хроническое действие сублетальной концентрации гербицида Раундап вызвало гисто- и цитопатологические изменения как в иммунокомпетентных органах, так и гонадах рыб. Во всех типах клеток отмечено повреждение митохондрий, выраженное в их набухании, просветлении матрикса, частичном или полном растворении ламелл внутренней мембраны (Рис. 1).

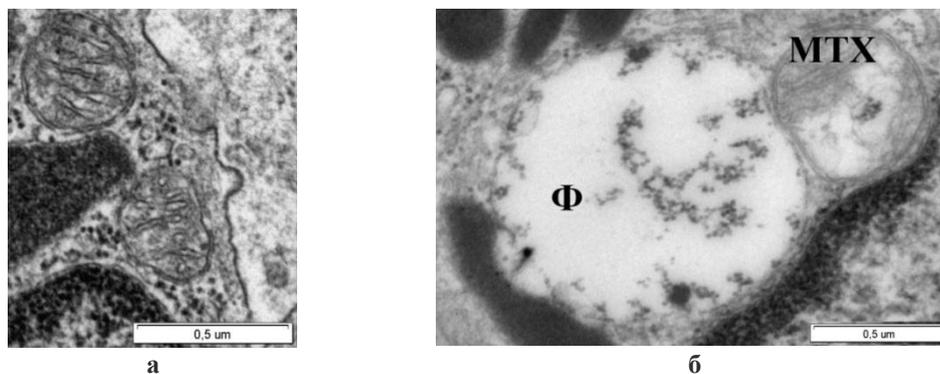


Рис. 1. Структура митохондрий лейкоцитов головешки-ротана в контроле (а) и после воздействия Раундапа (б). МТХ – митохондрия, Ф – фагосома.

Почки. Туловищный отдел почки у головешки-ротана имеет строение, характерное для других видов костистых рыб. Ренальная ткань представлена нефронами, состоящими из Боуеновой капсулы с сосудистым клубочком (рис. 2а) и проксимального, промежуточного и дистального каналов, собирающихся в мочевыводящие канальцы. Между нефронами расположены кровеносные синусы и клетки лимфо-миелоидной ткани. Длительная экспозиция рыб в сублетальной концентрации Раундапа вызвала изменение структуры лейкоцитов [6], выраженное в увеличении количества и размеров специфических гранул нейтрофилов и эозинофилов, появлении фагосом в цитоплазме клеток, изменении структуры плазматических клеток.

Выявлено изменение структуры клеток нефрона. Отмечено уплотнение базальной мембраны Боуеновой капсулы и сужение просвета капилляров сосудистого клубочка (рис. 2б), появление макрофагов в эпителиальной выстилке проксимального и дистального каналов, слущивание эпителия дистальных каналов, образование ламеллярных телец в базальных участках клеток, усиление синтетической активности эпителиоцитов дистальных каналов.

Селезенка. Для селезенки головешки-ротана характерно четкое разделение ткани на красную и белую пульпу (рис. 3а), подчеркнутое развитой мембраной. Под действием Раундапа отмечены изменения структуры лейкоцитов, подобные описанным в почке рыб. Помимо этого зафиксировано увеличение содержания гранул меланина в мелано-макрофагальных центрах и гранул гликогена в нейтрофилах (рис. 3 б, в).

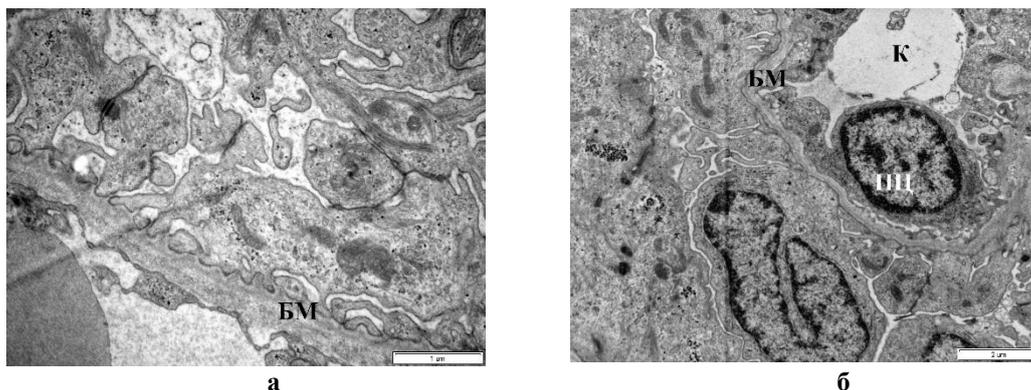


Рис. 2. Боуменова капсула туловищной почки головешки-ротана в норме (а) и при действии Раундапа (б). БМ – базальная мембрана, К – капилляр, ПЦ – подоцит.

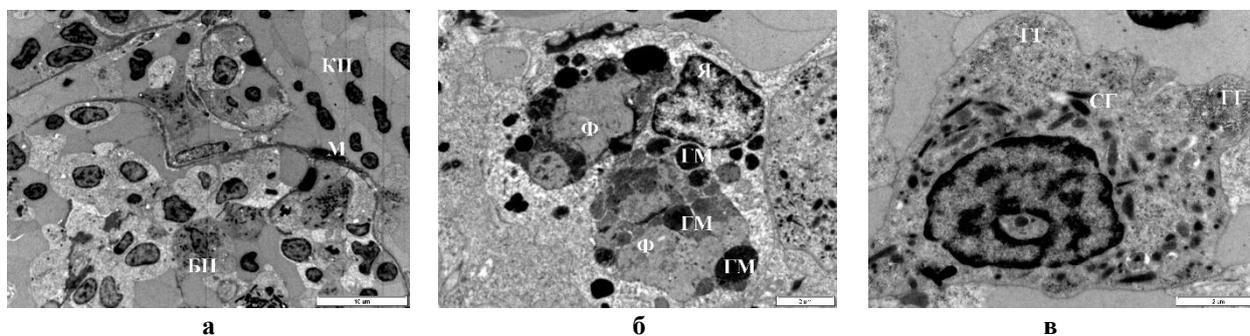


Рис. 3. Структура ткани и клеток селезенки головешки-ротана в норме (а) и после воздействия Раундапа (б, в). А – красная и белая пульпа, б – макрофаг в составе мелано-макрофагального центра, в – нейтрофил. БП – белая пульпа, ГГ – гранулы гликогена, ГМ – гранулы меланина, КП – красная пульпа, М - мембрана, СГ – специфичные гранулы, Ф – фагосома, Я – ядро.

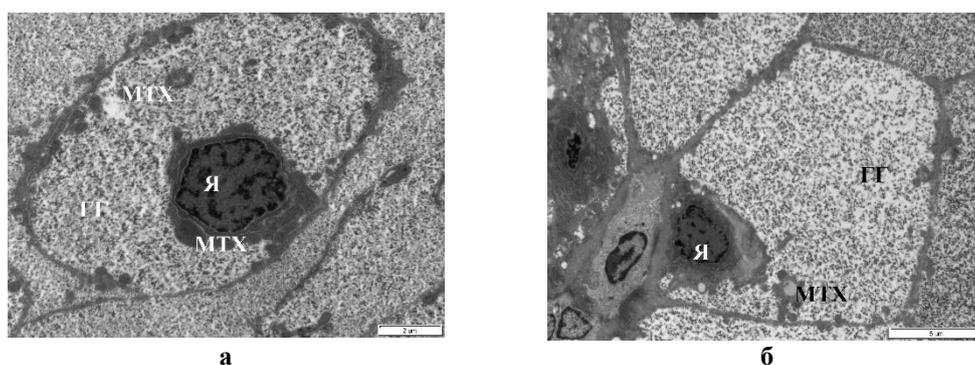


Рис. 4. Структура гепатоцитов головешки-ротана в норме (а) и при действии Раундапа (б). ГГ – гранулы гликогена, МТХ – митохондрии, Я – ядро.

Печень. Печень головешки-ротана правильнее называть гепатопанкреасом, так как она содержит островки ткани поджелудочной железы вокруг крупных кровеносных сосудов. Гепатоциты составляют подавляющее большинство клеток печени головешки ротана. По сравнению с таковыми других видов костистых рыб гепатоциты головешки-ротана характеризуются сравнительно небольшим перинуклеарным участком цитоплазмы с митохондриями и каналами шероховатого эндоплазматического ретикулума. Большая часть цитоплазмы заполнена гранулами гликогена (рис. 4а). Через 30 сут экспозиции в сублетальной концентрации Раундапа в гепатоцитах наблюдается существенное разрежение гранул гликогена, появление липидных капель (рис. 4 б).

Гонады. Патологические изменения отмечены только в клетках семенников. В первую очередь это связано с уменьшением количества созревающих сперматид, а также с нарушением структуры половых клеток (рис. 5). Как и в клетках иммунокомпетентных органов, наблюдается повреждение митохондрий в половых клетках на всех стадиях зрелости, а также изменения в структуре гетерохроматина ядер формирующихся сперматид и сперматозоидов, неоднородность в формировании клеток, разрушение слоя трофобластов.

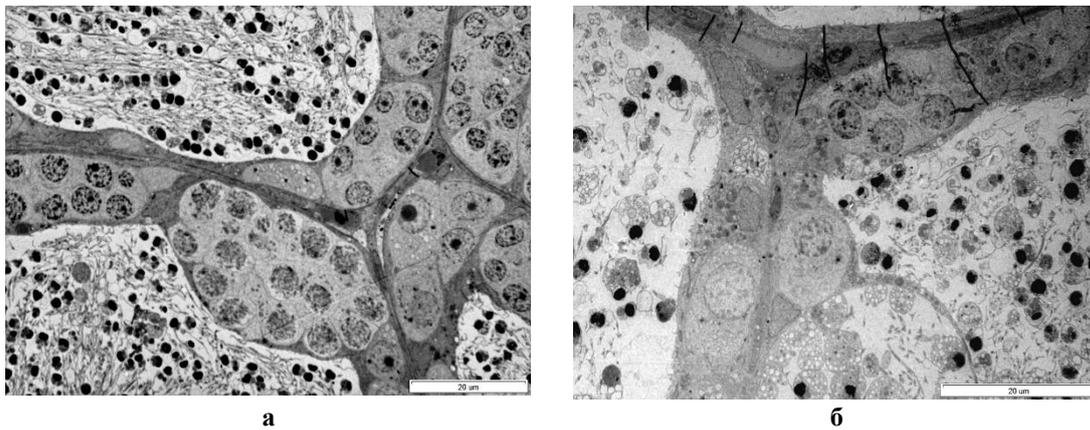


Рис. 5. Структура семенников головешки-ротана в норме (а) и при действии Раундапа (б).

Таким образом, экспозиция в течение 30 сут головешки-ротана в сублетальной концентрации Раундапа вызвала гистопатологические изменения в тканях всех исследованных органов.

Обнаруженное повреждение структуры митохондрий свидетельствуют о нарушении процессов окислительного фосфорилирования, связанное с ингибированием дыхательных ферментов и окислительного потенциала мембран клеток. Одновременное с повреждением митохондрий уменьшение запасов гликогена в цитоплазме гепатоцитов может быть вызвано переходом клеток на гликолитический путь метаболизма, который предполагает снижение синтеза АТФ или повышенные энергозатрат на ее производство, а также вызывать клеточную гипоксию. Это предположение подтверждается данными С. Браз-Мота с соавторами [5] о повышении уровня гематокрита и концентрации гемоглобина в клетке без увеличения количества эритроцитов в крови, которое авторы считают компенсаторной реакцией на развивающуюся тканевую гипоксию. Парадоксальным на этом фоне выглядит накопление гранул гликогена по периферии нейтрофильных гранулоцитов. Вместе с тем, подобное явление наблюдалось нами ранее при иммунизации рыб, и может быть связано с накоплением запасных питательных веществ при тратах на фагоцитоз. Выявленное при этом увеличение количества и размеров специфических гранул, как в нейтрофилах, так и эозинофилах, а также появление в них фагосом свидетельствует об усилении защитных реакций неспецифического иммунитета на действие токсиканта. Появление фагосом в цитоплазме нейтрофилов свидетельствует об активизации процессов фагоцитоза поврежденных элементов клеток и тканей, что отмечается также при действии других токсикантов у многих видов рыб.

Нарушение структуры элементов нефрона свидетельствует о нарушении процессов фильтрации мочи, которые затрудняются увеличением размеров базальной мембраны и повреждением структуры клеток проксимального и дистального канальцев. Накопление гранул меланина в мелано-макрофагальных центрах селезенки головешки-ротана при действии Раундапа свидетельствует о развитии оксидативного стресса в тканях. Этот пигмент синтезируется меланоцитами и поглощается макрофагами а при их разрушении, накапливается в лизосомах или непосредственно в цитоплазме клетки. Считается, что меланин в местах воспаления поглощает свободные радикалы, образующихся при окислении липидов или оксидативном стрессе. Изменение структуры клеток печени после экспозиции рыб в Раундапе свидетельствует об изменении энергетического обмена в организме рыб и начальной стадии жировой дистрофии органа.

В целом, изменение структуры тканей и клеток иммунокомпетентных органов головешки-ротана свидетельствует об ухудшении общего физиологического состояния рыб, ослаблении защитных функций, развитии защитных неспецифических реакций иммунитета, направленных на компенсацию токсического действия Раундапа. Вместе с тем, обнаружено значительное влияние гербицида на репродуктивную систему головешки-ротана, которое вызывает нарушение формирования зрелых сперматозоидов и может оказывать существенное влияние как на количество, так и качество потомства в последующих поколениях.

Авторы выражают искреннюю признательность сотрудникам ЦКП «Электронная микроскопия» Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН за помощь в обработке материалов.

Список литературы

1. Спиридонов Ю.Я., Ларина Г.Е., Протасова Л.Д. и др. Многолетнее применение общеистребительного гербицида Раундап в Центральном регионе Нечерноземья // *Агрохимия*. 2010. № 2. С. 29–36.
2. Брежнев В.И. Механизированный способ борьбы с сорной растительностью на открытых мелиоративных каналах гербицидом Раундап. Автореф. дисс.... уч. степ. к.т.н. Новочеркасск, 2004. 24 с.
3. Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 2000. V. 167. P. 35–120.
4. Moreno N.C., Sofia S.H., Martinez C.B.R. Genotoxic effects of the herbicide Roundup Transorb® and its active ingredient glyphosate on the fish *Prochilodus lineatus* // *Environ. Toxicol. and Pharm.* 2014. V. 37, I. 1. P. 448–454.
5. Braz-Mota S., Sadauskas-Henrique H., Duarte R.M., Val A.L., Almeida-Val V.M.F. Roundup® exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum* // *Chemosphere*. 2015. V. 135. P. 53–60.
6. Murussi C.R., Costa M.D., Leitemperger J.W., Guerra L., Rodrigues C.C.R., Menezes C.C., Severo E.S., Flores-Lopes F., Salbego J., Vania L.L. Exposure to different glyphosate formulations on the oxidative and histological status of *Rhamdia quelen* // *Fish Physiol Biochem.* 2016. 42:445–455.

7. Заботкина Е.А., Голованов В.К., Голованова И.Л. Изменение ультраструктуры иммунокомпетентных клеток в почках, селезенке и печени головешки-ротана *Percottus glenii* под влиянием пестицида раундап // Труды ВНИРО. 2016. Т. 162. С. 74–82.

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНИЗМЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АМФИБИОНТНЫХ И НАЗЕМНЫХ ДВУКРЫЛЫХ (DIPTERA) НЕКОТОРЫХ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. С. Иванова¹, Л. А. Тузова¹, В.Т. Комов²

¹Череповецкий государственный университет

162600, г.Череповец, Россия, StepinaElena@yandex.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
152742, Борок, vkotov@ibiw.yaroslavl.ru

В работе исследуются различия накопления ртути представителями Diptera, жизненный цикл которых включает или не включает приуроченность к водоемам и водотокам. Установлена отрицательная корреляционная связь между содержанием ртути и размером (массой) тела гетеротопных насекомых. Концентрации ртути выше в организме насекомых, отловленных в западных районах области, где болота, переувлажненные леса и озера составляют неотъемлемый компонент природно-ландшафтных комплексов, по сравнению с восточными районами, где водные объекты представлены преимущественно реками.

Ртуть – широко и повсеместно распространенный элемент, которому свойственна легкость переноса в окружающей среде (атмосфере и гидросфере) и высокая биологическая активность [1]. Важнейшее свойство ртути – способность образовывать в водной среде стойкие металлорганические соединения, которые интенсивно аккумулируются биотой [2].

Высокие концентрации ртути в мышцах рыб и в органах некоторых представителей сем. куньи неоднократно регистрировались в Вологодской области [3]. Другие звенья экосистем исследованы фрагментарно. Вместе с тем, оценка влияния на биоту соединений ртути, невозможна без анализа потоков металла из водных экосистем в наземные и уровней содержания его в организме животных относящихся к разным трофическим группам.

Насекомые, благодаря своей многочисленности и разнообразию играют важнейшую роль в пищевых сетях, как консументы различных порядков среднего трофического уровня насекомые способны накапливать соединения ртути и являются важным звеном в ее миграции [4].

Двукрылые насекомые (Diptera) – один из наиболее многочисленных отрядов энтомофауны Вологодской области [6]. Двукрылые удобны при оценке ртутного загрязнения, так как имеют относительно короткую продолжительность жизни, не мигрируют на большие расстояния, что обеспечивает возможность решения временного и пространственного мониторинга распределения металлов в различных биотопах.

Сбор материала для исследования осуществлялся летом – осенью 2015 г на территории Кичменгско-Городецкого, расположенного на востоке, а также Череповецкого и Бабаевского районов, расположенных на западе Вологодской области. Отлов насекомых проводился стандартными методами в биотопах с различной степенью увлажненности: на поле в местах выпаса животных и вдоль застойных болот.

После определения вида, измерения массы и длины тела особи насекомые высушивались до постоянного веса при температуре 37–39 °С. Содержание ртути в насекомых определяли на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (Люмэкс) атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки (нижний предел обнаружения ртути в образцах 0.001 мг/кг). Диапазон измерений более трех порядков, верхняя его граница – 5 мг/кг. Для этого анализатора, использующего прямое сжигание, образцы не требовали какой-либо обработки или разложения, пробы биологических объектов массой 4–50 мг помещали на кварцевый дозатор и переносили в ячейку термолиты для определения общего содержания ртути. Сжигание проб проводилось при температуре 300 °С в течение 1–2 мин.

За период исследования на содержание ртути проанализировано 774 особи 7 видов двукрылых насекомых: осовидка пятнистая (*Xylomyia maculata* Meigen, 1804) *n* 21; пчеловидка обыкновенная (*Eristalis tenax* Linnaeus, 1758) *n* 26; комнатная муха (*Musca domestica* Linnaeus, 1758) *n* 29; дождевка обыкновенная (*Haematopota pluvialis* Linnaeus, 1758) *n* 267; пестряк обыкновенный (*Chrysops relictus* Meigen, 1820) *n* 54; слепень серый большой (*Tobanus bromius* Linnaeus, 1758); *n* 296; слепень бычий (*Tobanus bovinus* Linnaeus, 1758) *n* 56.

Результаты представляли в виде средних значений и их ошибок ($x \pm mx$). Достоверность различий оценивали, используя метод дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при уровне значимости $p \leq 0.05$. Для определения корреляционной зависимости между количеством металла в разных видах насекомых семейства слепни от их массы, а также зависимости количества металла от степени заболоченности района их обитания использовали непараметрический коэффициент Спирмена ($r_s, p \leq 0.05$).

Содержание ртути в исследованных видах двукрылых насекомых Кичменгско-Городецкого района Вологодской области варьирует в пределах – от менее чем 0.001 до 1.3 мг/кг сухой массы (табл. 1). Минимальные концентрации ртути (мг/кг сухой массы) отмечены у видов семейства журчалки (0.006 ± 0.0007): осовидка пятнистая, пчеловидка обыкновенная; максимальные – у видов семейства слепни (0.083 ± 0.005) – слепень серый большой, дождевка обыкновенная и пестряк обыкновенный; промежуточные значения количества ртути характерны для вида муха черная (0.021 ± 0.005), семейства настоящие мухи.

Кроме того у исследованных видов насекомых семейства слепни количество металла в тканях достоверно отличалось. Средние значения содержания ртути в дождевках и серых слепнях в 2–3 раза ниже, чем у пестряка обыкновенного (табл. 1).

Таблица 1. Содержание ртути в двукрылых насекомых Кичменгско-Городецкого района Вологодской области

Вид	n	Hg мг/кг, сухой массы
Семейство журчалки (Syrphidae)		
<i>осовидка пятнистая</i>	21	0.005 ± 0.001^a 0.001–0.016
<i>пчеловидка обыкновенная</i>	26	0.008 ± 0.001^a 0.001–0.035
Семейство настоящие мухи (Muscidae)		
комнатная муха	29	0.021 ± 0.003^{ab} 0.001–0.006
Семейство слепни (Tabanidae)		
слепень серый большой	220	0.050 ± 0.07^b 0.002–1.284
дождевка обыкновенная	198	0.072 ± 0.007^c 0.001–0.691
пестряк обыкновенный	37	0.141 ± 0.0184^d 0.035–0.693

Примечания: над чертой средние значения и их ошибки ($x \pm tx$), под чертой – минимальные и максимальные значения показателя; n – количество; a,b,c,d – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются между отдельными видами насекомых (в столбце), при уровне значимости $p \leq 0.05$ (ANOVA-тест).

Содержание ртути в разных отделах тела насекомых устанавливали на примере бычьего слепня (*Tabanus bavinus*), самого крупного среди исследованных видов двукрылых. Отмечено, что содержание ртути (мг/кг сухой массы) в грудной части и в брюшке в 4–5 раз выше, чем в голове (0.191 ± 0.121 ; 0.248 ± 0.309 ; 0.047 ± 0.012 соответственно).

Установлены статистически достоверные различия между показателями количества ртути в насекомых с разной кормовой специализацией. Содержание ртути в исследованных видах насекомых семейства слепни (0.083 ± 0.005), имаго которых питаются кровью, а личинки хищные, в 5–6 раз выше, чем содержание металла в растительноядных журчалках и черных мухах, личинки которых являются детритофагами (0.01 ± 0.001 мг/кг сухой массы) (рис. 1).

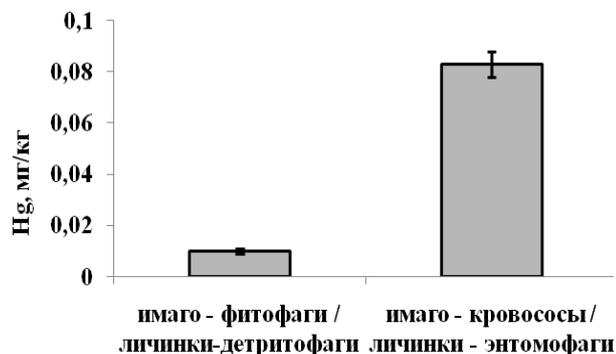


Рис. 1. Содержание ртути в насекомых с разной кормовой специализацией.

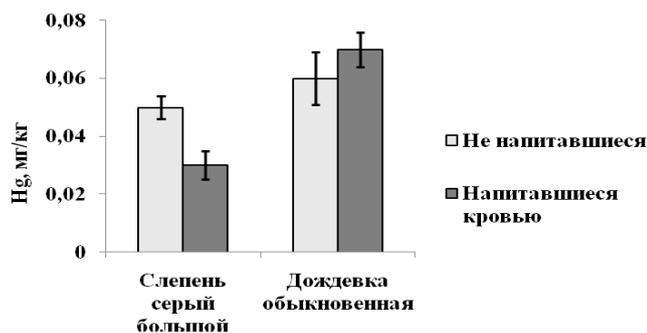


Рис. 2. Содержание ртути в напивавшихся и не напивавшихся кровью насекомых семейства слепни (Tabanidae).

Достоверных различий содержания ртути в тканях насекомых семейства слепни между особями, напитавшимися и не напитавшимися кровью не установлено (рис. 2).

Для всех исследованных видов слепней выявлена статистически значимая отрицательная корреляционная зависимость содержания металла в имаго от их массы тела (табл. 2). В среднем зависимость количества металла в тканях исследованных видов слепней от массы составила $r_s = -0.40$, при $p < 0.00$.

Таблица 2. Корреляционная зависимость содержания ртути в насекомых сем. Tabanidea от массы их тела

Вид	Корреляционная зависимость
дождевка обыкновенная	$r_s = -0.50$, при $p < 0.00$
слепень серый	$r_s = -0.31$, при $p < 0.00$
пестряк обыкновенный	$r_s = -0.38$, при $p < 0.041$

Зависимость количества ртути в насекомых от их длины тела устанавливали на примере дождевки обыкновенной. В выборке данного вида было достаточное для статистического анализа количество особей отличающихся по данному морфометрическому признаку. Содержание ртути в имаго дождевок достоверно выше у особей с длиной тела 8–10 мм (0.065 ± 0.019), по сравнению с насекомыми с длиной тела 11–12 мм (0.02 ± 0.0032).

В настоящее время общепризнано, что трофическая передача ртути вдоль пищевых сетей является основным путем ее накопления в живых организмах, занимающих более высокое трофическое положение. Несмотря на то, что у исследованных видов-кровососов содержание ртути выше, чем у фитофагов, достоверных различий содержания ртути в тканях насекомых семейства слепни между напитавшимися и ненапитавшимися кровью особями одного вида не установлено. Полученные данные позволяют предположить, что ртуть в организм исследованных видов слепней поступает преимущественно с объектами питания их хищных личинок, при этом на стадии имаго аккумуляция металла незначительна. Кроме того, на накопление ртути в насекомых Tabanidea на личиночной стадии жизненного цикла указывает установленная значимая отрицательная корреляционная зависимость содержания металла в тканях имаго слепней от массы и длины их тела. Снижение концентрации металла на единицу массы с увеличением размеров тела имаго подтверждает накопление металла насекомыми на стадии личинки.

Таблица 3. Содержание ртути (мг/кг сухой массы) в тканях насекомых сем. Tabanidea из разных биотопов

Вид	Биотоп	
	Поле	Сфагновое болото
слепень серый	0.034 ± 0.006 (40) 0.005–0.255	0.056 ± 0.024 (33) 0.009–0.387
дождевка обыкновенная	0.048 ± 0.008 (30) 0.003–0.191	0.077 ± 0.022 (58) 0.005–0.691

Примечания: над чертой приведены средние значения и их ошибки ($x \pm tx$), под чертой – минимальные и максимальные значения показателя; (n) – количество исследованных особей.

При сравнении содержания ртути в насекомых семейства Tabanidae отловленных на разных по степени увлажненности биотопах отмечено, что абсолютные значения содержания металла в слепнях собранных на сфагновом болоте выше, чем в двукрылых собранных на пашенном поле (табл. 3). Неравномерность распределения ртути в насекомых из разных биотопов может быть связана с неоднородностью распределения неорганических и ртутьорганических соединений ртути на территории района исследования, особенностями аккумуляции разных форм Hg живыми организмами [7].

Содержание ртути в насекомых из разных районов Вологодской области не одинаково. Количество металла в тканях насекомых из Кичменгско-Городецкого района достоверно ниже количества ртути в насекомых из промышленно-развитого Череповецкого района. При этом максимальные значения содержания металла установлены в насекомых, отловленных в Бабаевском районе, которые достоверно выше, чем в насекомых из Кичменгско-Городецкого и промышленного Череповецкого района (табл. 4).

Таблица 4. Содержание ртути в насекомых семейства слепни из разных районов Вологодской области

Район	Вид	
	слепень серый	дождевка обыкновенная
Кичменгско-Городецкий	0.051 ± 0.007^a (198) 0.002–1.284	0.072 ± 0.007^a (220) 0.001–0.691
Череповецкий	0.212 ± 0.022^b (46) 0.016–0.854	0.128 ± 0.016^b (56) 0.002–0.645
Бабаевский	0.391 ± 0.096 (30) 0.011–1.862	0.341 ± 0.103^c (13) 0.007–1.0

Примечания: данные ; a,b,c – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются по насекомым между отдельными районами (в столбцах), при уровне значимости $p < 0.05$ (ANOVA-тест).

Установлена достоверная корреляционная зависимость ($r_s = 0.46$, при $p < 0.001$) содержания ртути в насекомых семейства слепни от степени заболоченности района их обитания. Вероятно, наличие водно-болотных угодий в районе обитания животных способствует более интенсивному накоплению ртути в органах и тканях насекомых, так как в воде присутствуют условия для метилирования ртути.

Список литературы

1. Arctic Pollution (AMAP). Oslo. 2002. 212 p.
2. Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish A. Scheuhammer // AM-BIO. 2007. Vol. 36. P. 12–18.
3. Степанова И.К., Комов В.Т. Роль трофической структуры экосистемы водоемов Северо-Запада России в накоплении ртути в рыбе // Гидробиологический журнал. 2004. Т. 40. № 2. С. 87–96.
4. Zhang Z. S., Lu X. G., Wang Q. C., Zheng D. M. Mercury, Cadmium and Lead Biogeochemistry in the Soil-Plant-Insect System in Huludao City // Bull Environ Contam. Toxicol. 2009. №83. P. 255–259. DOI 10.1007/s00128-009-9688-6.
5. Разнообразие насекомых Вологодской области. Вологда: Коперник. 2008. 368 с.
6. Олсуфьев Н.Г. Насекомые двукрылые. Слепни (Сем. Tabanidea). Фауна СССР. Л.: Наука, 1977. 465 с.
7. Ulfvarson U. Transportation of Mercury in Animals. Stockholm, Sweden: Arbets medicinska institutet. 1970. Vol. 21. № 4. P. 40–51.

БИОМАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ У ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ СЕМ. DREISSENIDAE

Я. С. Климова, Г. М. Чуйко

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742, Борок, Россия, уна.klim@mail.ru

В мягких тканях *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis* исследованы биомаркеры окислительного стресса: активность каталазы (КАТ), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионредуктазы (ГР), содержание восстановленного глутатиона (ГЛТ), малонового диальдегида (МДА), а также содержание каротиноидов (КАР). Установлено, что у *Dreissena polymorpha* активность КАТ и GST и содержание МДА ниже, а содержание каротиноидов выше, чем у *Dreissena bugensis*. Остальные показатели не имели статистически значимых видовых различий. Половых и размерно-возрастных различий в изученный период также не обнаружено. Выявленные особенности исследованных биохимических показателей следует учитывать при их использовании в качестве биомаркеров при экотоксикологических исследованиях.

На современном этапе развития промышленности и урбанизации антропогенное влияние стало существенным экологическим фактором. В связи с этим, живым организмам приходится адаптироваться к меняющимся под действием человека условиям среды. Поэтому необходимо изучать и контролировать антропогенное воздействие (химическое, тепловое загрязнение и т.д.) на отдельные живые организмы, их сообщества и экосистемы в целом.

Использование биомаркеров – перспективный и информативный подход для анализа влияния антропогенной нагрузки на гидробионтов, отражающий токсическое действие загрязнения на суборганизменном уровне.

В качестве биомаркеров успешно применяются показатели окислительного стресса, к которым, относятся параметры системы антиоксидантной защиты (АОЗ) и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ). Негативное действие различных факторов среды индуцирует образование в клетке высокорекреационных активных форм кислорода (АФК), которые стимулируют процессы перекисного окисления основных биологических молекул (липидов, белков, нуклеиновых кислот и углеводов), лежащие в основе многих патологических процессов в организме. Система клеточной АОЗ нейтрализует негативное действие АФК, являясь ключевым звеном адаптационных процессов и универсальным откликом на действие экологических факторов как естественных, так и антропогенных [1].

В экотоксикологических исследованиях водных объектов успешно применяются двустворчатые моллюски, так как они ведут прикрепленный образ жизни, являются активными фильтраторами и биоаккумуляторами различных загрязняющих веществ [2]. Для пресноводных экосистем с конца 70-х годов прошлого века в качестве модельного организма используется *Dreissena polymorpha*. Данный моллюск имеет широкое распространение и обладает высокой скоростью фильтрации воды (до 0.5 л/ч), что способствует биоаккумуляции из окружающей среды растворенных и адсорбированных на взвешенных частицах загрязняющих веществ. При этом другой представитель этого семейства *Dreissena bugensis* обладает еще более высокой скоростью фильтрации и так же широко распространен, а при совместном поселении *D. bugensis* вытесняет *Dreissena polymorpha* [3]. Однако, в отличие от *D. polymorpha* работы по исследованию показателей оксидативного стресса и содержания каротиноидов у *Dreissena bugensis* в литературе единичны.

Для практического использования биомаркеров и корректной интерпретации получаемых данных, прежде всего, необходимо знать норму реакции или гомеостатический диапазон для каждого из них, включая видо-вые, половые и размерно-возрастные особенности. Это позволяет идентифицировать состояние моллюсков в

нормальных природных условиях и отличать его от адаптивных и патологических ответов организма на действие неблагоприятных факторов, включая токсические загрязняющие вещества [4].

Исходя из выше изложенного, цель работы – изучить биологическую вариабельность (видовые, половые и размерно-возрастных характеристики) показателей окислительного стресса и содержание каротиноидов у двух видов двусторчатых моллюсков: *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis*.

Моллюсков для исследования отлавливали драгой в Волжском плесе Рыбинского водохранилища (58°24" с.ш., 38°17'43" в.д.) в июне 2015 года. Сразу после отлова их замораживали в жидком азоте. Перед анализом моллюсков разделяли на две группы по размеру и визуально под микроскопом по полу. Выделяли две размерные группы: с длиной раковины 15–24.9 и 25–35 мм, что соответствует возрасту животных 3–4 и 5–7 лет.

В мягких тканях определяли активность ферментов системы АОЗ – каталазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы, содержание восстановленного глутатиона, продукта процесса ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) и каротиноидов (КАР) [5, 6]. Все показатели определялись одновременно в каждой пробе. В зависимости от размера животных в одну пробу входило от 6 до 20 экземпляров. Всего было исследовано по 10 проб каждого вида.

Все измерения проводились дважды. Результаты представлены в виде средних и их стандартных ошибок ($x \pm SE$). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при $p = 0.05$.

Установлено, что *D. polymorpha* и *D. bugensis* имеют существенные видовые различия в исследованных показателях (табл.).

Таблица. Показатели окислительного стресса и содержание каротиноидов у *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis*

Показатель/пол	<i>D. polymorpha</i>		<i>D. bugensis</i>		
	1	2	1	2	
<i>нмоль/мкг белка/мин</i>					
каталаза (КАТ)	♂	108.21 ± 2.78	95.92 ± 5.92	245.3 ± 21.80*	293.00 ± 25.45*
	♀	111.75 ± 5.14	108.87 ± 6.21	234.55 ± 8.78*	270.62 ± 13.78*
глутатион-S-трансфераза (ГСТ)	♂	2.78 ± 0.42	3.04 ± 0.36	11.20 ± 2.14*	9.03 ± 1.72*
	♀	3.40 ± 0.54	3.25 ± 0.51	8.19 ± 1.84*	9.43 ± 2.24*
глутатионредуктаза (ГР)	♂	1.53 ± 0.17	1.37 ± 0.20	1.74 ± 0.33	1.88 ± 0.39
	♀	1.61 ± 0.24	2.86 ± 1.84	2.86 ± 0.79	1.39 ± 0.29
<i>пкмоль/мкг белка</i>					
глутатион (ГЛТ)	♂	2.15 ± 0.50	1.65 ± 0.26	1.51 ± 0.32	1.34 ± 0.21
	♀	2.23 ± 0.27	1.85 ± 0.49	1.35 ± 0.18	1.96 ± 0.23
<i>пкмоль/мкг белка</i>					
малоновый диальдегид (МДА)	♂	2.84 ± 0.34	2.78 ± 0.16	3.18 ± 0.32	5.03 ± 1.06*
	♀	2.38 ± 0.32	2.40 ± 0.25	5.86 ± 0.98*	4.09 ± 0.90*
<i>мг/г сырой массы</i>					
каротиноиды (КАР)	♂	7.61 ± 0.56	7.60 ± 0.94	5.27 ± 0.98	4.76 ± 0.20*
	♀	7.73 ± 1.51	9.84 ± 0.80	6.08 ± 1.32	6.61 ± 1.16

Примечания: результаты представлены в виде средних и их стандартных ошибок ($x \pm SE$); 1 – моллюски с длиной раковины 15–24.9; 2 – 25–35 мм; * – статистически значимые различия для каждого показателя между видами (U-критерий Манна-Уитни, $p = 0.05$).

Показано, что внутри каждого вида отсутствуют половые и размерно-возрастные различия для всех исследованных биомаркеров. Вместе с тем, по ряду показателей обнаружены межвидовые различия. Так у *D. polymorpha* выявлены статистически значимые более низкие, чем у *Dreissena bugensis* значения следующих биомаркеров: активность КАТ у самцов и самок обеих размерных групп – в 2 раза, активность ГСТ у самцов и самок меньшего размера – в 4 и 2.4 раза соответственно и у моллюсков большего размера обоих полов – в 2.9 раза, содержание МДА у самок меньшего размера – в 4.4 раза, у самцов и самок большего размера – в 1.7 раза. С другой стороны, самцы большей размерной группы у *Dreissena polymorpha* содержали в 3 раза больше каротиноидов, чем у *D. bugensis*. Наряду с этим, такие показатели как активность ГР и содержание ГЛТ не различались между видами.

Обнаруженные различия, в параметрах системы АОЗ и процессах ПОЛ дрейссенид возможно связаны с более высоким окислительно-восстановительным метаболизмом *D. bugensis*. На это указывают полученные ранее данные о том, что в нормальных условиях потребление кислорода у *D. bugensis* в 1.2 раза выше, чем у *Dreissena polymorpha* [7].

Полученные нами данные демонстрируют, что при использовании показателей окислительного стресса и содержания каротиноидов в качестве биомаркеров при оценке функционального состояния дрейссенид и качества водной среды необходимо учитывать их видовые особенности. При этом в летней период *D. polymorpha* и *Dreissena bugensis* можно не разделять по размеру и полу, что может быть важным аргументом для их более широкого внедрения в практику экотоксикологических исследований.

Таким образом, установлено, что у *Dreissena polymorpha* параметры окислительного стресса – активность КАТ, ГСТ и содержание МДА – ниже, а содержание каротиноидов выше, чем у *Dreissena bugensis*. Однако все исследованные показатели у обоих видов моллюсков не зависят от пола и размерно-возрастных характе-

ристик в размерном диапазоне 15–35 мм. Предполагается, что выявленные различия обусловлены более интенсивным окислительно-восстановительным метаболизмом у *Dreissena bugensis*. Выявленные особенности исследованных биохимических показателей следует учитывать при их использовании в качестве биомаркеров при экотоксикологических исследованиях.

Список литературы

1. Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // *Mar. Pollut. Bull.* 2001. V. 42. № 8. P. 656–666.
2. Binelli C., Della Torre S., Magni M., Parolini M. Does zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review // *Environ. Pollut.* 2015. V. 196. P. 386–403.
3. Farr M.D., Payne B.S. Environmental Habitat Conditions Associated with Freshwater Dreissenids. Engineer Research and Development Center, 2010. 32 p.
4. Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкотоксикологии: принципы, методы и методология, практика использования // *Экологический мониторинг*. Нижний Новгород: Изд-во Нижегород. гос-та, 2014. С. 310–326.
5. Карнаухов В.Н. Функции каротиноидов в клетках животных. М.: Наука, 1973. 104 с.
6. Климова Я.С., Чуйко Г.М. Антиоксидантный статус пресноводных двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis* (Dreissenidae, Bivalvia) из Волжского плёса Рыбинского водохранилища // *Поволжский экологический журнал*. 2015. № 1. С. 33–41.
7. Шкорбатов Г.Л., Карпевич А.Ф., Антонов П.И. Экологическая физиология. М.: Наука, 1994. С. 67–107.

ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS* (PALLAS, 1814) ИЗ ЮГО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ АЗОВСКОГО МОРЯ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА

Т. Б. Ковыршина

ФГБУН Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН
299011, Севастополь, Россия, mtk.fam@mail.ru

Изучали активность антиоксидантных ферментов и содержание окисленных форм белков сыворотки крови самок и самцов бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) из юго-западной части Азовского моря в разные периоды репродуктивного цикла. Установлены изменения исследуемых биомаркеров крови у рыб обоих полов, что необходимо учитывать при проведении биоиндикационных исследований.

Годовой цикл большинства видов рыб принято разделять на преднерестовый период (нагул), нерест, посленерестовый нагул и зимовку. Эти периоды связаны с изменением не только поведенческих, но и метаболических реакций в организме рыб [1], что отражается на работе систем поддержания гомеостаза, в том числе показателей, применяемых в качестве биомаркеров для оценки качества среды их обитания. В связи с этим биоиндикационные исследования предполагают предварительное изучение пределов естественных вариаций биомаркеров в популяциях биомониторного вида для исключения влияния физиологического состояния особей на тестируемые показатели. В настоящее время для оценки экологического состояния водной среды и последствий хронического антропогенного прессинга на биоту широко применяют показатели окислительного стресса, такие как активность ферментов первой и второй фаз детоксикации, антиоксидантной системы (АОС) и содержание окисленных форм белков [2].

На этом основании целью данной работы явилось изучение активности антиоксидантных (АО) ферментов и уровня окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) из юго-западной части Азовского моря в разные периоды репродуктивного цикла.

Рыб отлавливали в юго-западной части Азовского моря (Арабатский залив) в 2003 году. В эритроцитах крови бычка-кругляка определяли активность каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-S-трансферазы (ГТ) спектрофотометрическими методами. В сыворотке крови анализировали уровень ОМБ по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитро-фенилгидрозином. Методы исследования описаны нами ранее [3]. Сравнение данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$ [4].

Активность АО ферментов эритроцитов крови бычка-кругляка в разные периоды репродуктивного цикла представлена в таблице 1.

У самок бычка-кругляка отмечена высокая активность большинства АО ферментов в преднерестовый и нерестовый периоды, тогда как после нереста активность СОД ($p \leq 0.05$), ПЕР ($p \leq 0.001$) и ГТ ($p \leq 0.05$) достоверно снижалась.

У самцов рыб активность КАТ, СОД и ГТ значительно выше во время нереста ($p \leq 0.001$; 0.05; 0.01 соответственно) и после него ($p \leq 0.001$; 0.01; 0.05 соответственно) по сравнению с преднерестовым периодом. Для

ПЕР отмечена противоположная зависимость, активность фермента достоверно снижена ($p \leq 0.05$) в посленерестовый период по сравнению с преднерестовым.

Таблица 1. Активность антиоксидантных ферментов (на мг гемоглобина/мин, $M \pm m$) эритроцитов крови самок и самцов бычка-кругляка из юго-западной части Азовского моря в разные периоды репродуктивного цикла

Фермент	Стадия репродуктивного цикла		
	преднерестовая	нерест	посленерестовая
самки			
	n=8	n=105	n=8
КАТ, мг H_2O_2	1.01 ± 0.10	0.83 ± 0.03	0.80 ± 0.05
СОД, усл. ед.	418.9 ± 178.3	490.08 ± 74.40	240.00 ± 48.53 [■]
ПЕР, опт. ед.	7.17 ± 2.45	6.78 ± 0.49	3.59 ± 0.64 [■]
ГР, нмоль НАДФН	5.76 ± 2.63	7.88 ± 1.14	7.42 ± 1.4
ГТ, нмоль конъюгата	37.92 ± 8.87	48.78 ± 7.11	27.61 ± 7.72 [■]
самцы			
	n=6	n=27	n=16
КАТ, мг H_2O_2	0.53 ± 0.05	0.99 ± 0.07[•]	0.97 ± 0.12 [•]
СОД, усл. ед.	106.63 ± 57.96	559.46 ± 150.10 [•]	486.84 ± 105.59[•]
ПЕР, опт. ед.	6.04 ± 1.10	4.80 ± 0.76	3.34 ± 0.60 [•]
ГР, нмоль НАДФН	4.36 ± 1.24	8.02 ± 1.69	7.12 ± 2.53
ГТ, нмоль конъюгата	3.48 ± 0.43	53.77 ± 15.73 [•]	19.02 ± 5.91 ^{■•}

Примечания: * – достоверность различий ($p \leq 0.05$) с периодом покоя; [•] – с преднерестовым; [■] – с нерестовым; жирным шрифтом обозначены достоверные межполовые различия ($p \leq 0.05$).

Сравнительный анализ активности АО ферментов эритроцитов крови самок и самцов бычка-кругляка в соответствующий период репродуктивного цикла позволил установить, что активность КАТ ($p \leq 0.001$) и ГТ ($p \leq 0.05$) достоверно выше у самок рыб в преднерестовый период. Во время нереста активность КАТ ($p \leq 0.05$) выше у самцов, а ПЕР ($p \leq 0.05$) у самок. В посленерестовый период активность СОД достоверно ниже у самок бычка-кругляка.

Содержание окисленных форм белков сыворотки крови самок и самцов бычка-кругляка из Арабатского залива Азовского моря в разные периоды репродуктивной активности представлено в таблице 2.

Таблица 2. Содержание продуктов окисления белков (опт. ед./мл сыворотки, $M \pm m$) в сыворотке крови самок и самцов бычка-кругляка из юго-западной части Азовского моря в разные периоды репродуктивного цикла

Стадия репродуктивного цикла	Продукты нейтрального характера		Продукты основного характера		ПО ОМБ
	альдегидные 346 нм	кетонные 370 нм	альдегидные 430 нм	кетонные 530 нм	
самки					
преднерестовая, n=2	3.75 ± 0.82	4.72 ± 0.92	3.0 ± 1.0	0.23 ± 0.04	11.7
нерест, n=30	3.18 ± 0.19	4.26 ± 0.29	2.46 ± 0.16	0.25 ± 0.03	10.15
посленерестовая, n=6	3.79 ± 0.63	5.33 ± 0.86	3.05 ± 0.65	0.32 ± 0.06	12.49
самцы					
преднерестовая, n=3	2.87 ± 1.40	3.41 ± 1.4	2.93 ± 1.10	0.61 ± 0.11	9.82
нерест, n=15	3.32 ± 0.37	4.27 ± 0.43	3.02 ± 0.32	0.72 ± 0.22	11.33
посленерестовая, n=4	4.0 ± 1.2	5.41 ± 1.4	2.91 ± 0.97	0.46 ± 0.14	12.78

Примечания: * – достоверность различий ($p \leq 0.05$) с периодом покоя; [•] – с преднерестовым; [■] – с нерестовым; жирным шрифтом обозначены достоверные межполовые различия ($p \leq 0.05$). ПО ОМБ – сумма окисленных форм белков, полученных при всех длинах волн.

Уровень ОМБ сыворотки крови бычка-кругляка в разные периоды репродуктивного цикла не имел достоверных отличий, однако максимальное содержание продуктов окисления сывороточных белков (ПО ОМБ) в крови самок и самцов данного вида приходится на посленерестовый период (табл. 2).

В то же время отмечено достоверное увеличение содержания кетопроизводных основного характера в сыворотке крови самцов рыб в нерестовый и преднерестовый периоды по сравнению с соответствующим показателем у самок ($p \leq 0.05$).

Таким образом, результаты исследований позволили установить изменение исследуемых показателей у самок и самцов бычка-кругляка в разные периоды годового цикла, что может быть связано с участием ферментов АОС в метаболизме физиологически активных веществ, а также с сезонными изменениями гидролого-гидрохимических характеристик морской среды и уровня ее загрязнения.

Активность КАТ и ГТ эритроцитов крови самок бычка-кругляка достоверно выше в период созревания гонад (табл. 1) по сравнению с соответствующими показателями самцов рыб. Вероятно, уровень обменных процессов и роль ферментов АОС в метаболизме физиологически активных веществ в преднерестовый период выше у самок. Высокая активность ГТ и КАТ в печени полосатой камбалы *Liopsetta pinnifasciata* [5] и ГТ в печени бельдюги *Zoarces viviparous* [6] была отмечена в период созревания половых желез.

В то же время максимальные значения активности АО ферментов крови самок и самцов бычка-кругляка были установлены во время нереста, что может быть связано как с изменением гидролого-гидрохимических характеристик, таких как температура воды, так и с изменением уровня загрязнения морской среды.

После окончания нереста активность СОД, ПЕР и ГТ достоверно снижалась у самок рыб, тогда как у самцов эта зависимость отмечена только для ГТ (табл. 1). Снижение активности ГП и ГР в 1.6 и 1.8 раза соответственно и увеличение содержания глутатиона в 1.9 раз были также отмечены в гонадах самок камбалы-калкан *Psetta (Scophthalmus) maximamaeotica* (L., 1758) после нереста. У самцов достоверных отличий по этим показателям в нерестовый и посленерестовый периоды не выявлено [7].

Важным условием оценки окислительного стресса в организме является изучение не только активности ферментов АОС, направленных на обезвреживание активных форм кислорода, но и окислительного повреждения биомолекул, в данном случае сывороточных белков. В наших исследованиях изменения активности АО ферментов не сопровождалось увеличением уровня ОМБ (табл. 2), что свидетельствует об адаптивной реакции АОС и преобладании АО реакций над прооксидантными процессами в крови рыб обоих полов.

Таким образом, установлено изменение показателей прооксидантно-антиоксидантной системы крови самок и самцов бычка-кругляка из Арабатского залива Азовского моря в разные периоды репродуктивного цикла, что необходимо учитывать при проведении биоиндикационных исследований.

Список литературы

1. Багнюкова Т.В., Русинова О.С., Лушак В.И. Сезонные изменения некоторых физиолого-биохимических и морфологических показателей султанки *Mullus barbatus ponticus* Essipov // Гидробиол. журн. 2000. Т. 36. № 3. С. 23–30.
2. Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review // Environm. Toxicol. and Pharmacol. 2003. Vol. 13, iss. 2. P. 57–149.
3. Ковыршина Т.Б., Руднева И.И. Влияние загрязнения прибрежных вод Черного моря на биомаркеры крови бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* Pallas, 1811 (Perciformes: Gobiidae) // Биол. моря. 2016. Т. 42, № 1. С. 34–40.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
5. Алешко С.А., Лукьянова О.Н. Сезонные изменения некоторых параметров биотрансформации и антиоксидантной системы в печени полосатой камбалы *Liopsetta pinnifasciata* из Амурского залива Японского моря // Биология моря. 2008. Т. 34, № 2. С. 148–151.
6. Ronisz D., Larsson D. G. J., Forlin L. Seasonal variations in the activity of selected hepatic biotransformation and antioxidant enzymes in eelpout (*Zoarces viviparus*) // Marine Environ. Res. 2000. Vol. 50. P. 438–439.
7. Гостюхина О.Л., Головина И.В. Состояние системы антиоксидантной защиты в тканях черноморской камбалы-калкан в период нереста // Укр. біохім. журн. 2010. Т. 82, № 5. С. 104–110.

ВЛИЯНИЕ ОКСИАНИОНОВ СЕЛЕНА И ТЕЛЛУРА НА РОСТ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А. В. Комова, А. А. Мельникова, Р. А. Камышинский, Р. Д. Светогоров, З. Б. Намсараев

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
123182, Москва, Россия, KomovaAV@gmail.com

В работе рассмотрено влияние оксианионов селена и теллура на рост аноксигенных фототрофных бактерий. Показано, что токсическое действие оксианионов на клетки бактерий проявляется не только в изменении картины кривых роста культуры, но и в особенностях образования продуктов восстановления оксианионов.

Аноксигенные фототрофные бактерии представляют собой весьма разнородную в филогенетическом и физиологическом плане группу. Взаимодействие аноксигенных фототрофных микроорганизмов и соединений металлоидов селена и теллура давно привлекает внимание исследователей. Большинство работ выполнены с использованием нейтрофильных пурпурных несерных бактерий рода *Rhodobacter*, модельного объекта в микробиологии [1, 2]. Фототрофные бактерии других физиологических групп практически не изучены [3]. Данная работа посвящена изучению влияния оксианионов селена и теллура (на примере селенита натрия и теллурита калия) на рост аноксигенных фототрофных бактерий, принадлежащих к различным филогенетическим и физиологическим группам.

В исследовании использовались следующие микроорганизмы: α -Proteobacteria – умеренно ацидофильный *Rhodoblastus sphagnicola* RS (оптимум pH 5.2–5.5), умеренно галоалкалофильный *Rhodovulum* sp. LF-01 (оптимум pH 8, NaCl 4%); γ -Proteobacteria – умеренно галоалкалофильный *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* (оптимум pH 8–8.5, NaCl 3%). Микроорганизмы культивировались на свету анаэробно на жидких средах в оптимальных для каждого штамма условиях. Рост культур микроорганизмов оценивался по количеству белка, определяемого методом Лоури, на литр культуральной среды, а также по морфологии клеток.

Для клеток умеренно ацидофильной бактерии *Rhodoblastus sphagnicola* RS присутствие селенит- и теллурит-иона даже в малых концентрациях (0.01 мМ) было летально: визуально культуральная среда была абсолютно прозрачной, регистрировались следовые количества белка, при микроскопии обнаруживались единичные клетки на несколько полей зрения.

Для умеренно галоалкалофильных микроорганизмов *Rhodovulum* sp. LF-01 и *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* были построены кривые роста при культивировании фотоавтотрофно (с тиосульфатом) и фотогет-

теротрофно (с ацетатом) в присутствии различных концентраций селенита натрия (0.01–10 мМ) и теллурида калия (0.01–5 мМ). Было обнаружено, что теллурид-ион ингибирует рост культур обоих микроорганизмов в концентрациях от 0.01 мМ, независимо от типа роста. Селенит-ион во всем исследованном диапазоне концентраций (0.01–10 мМ) полностью подавляет фотоавтотрофный рост *Ectothiorhodospira shaposhnikovii*, в то время как ингибирование роста *Rhodovulum sp.* LF-01 происходит при содержании селенит-иона в среде выше 5 мМ. При фотогетеротрофных условиях в присутствии селенит-иона до 5 мМ культура *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* активно росла (хотя рост и был несколько замедлен по сравнению с контролем). В диапазоне 5–10 мМ был отмечен небольшой рост. Культура *Rhodovulum sp.* LF-01 росла фотогетеротрофно в присутствии селенит-иона, восстанавливая его, при концентрациях до 10 мМ включительно, при этом рост замедлялся по мере возрастания концентрации селенит-иона.

В ряде случаев в культуральной среде, помимо клеток, обнаруживались и продукты восстановления селенит- и теллурид-иона – элементный селен или теллур, соответственно. Очевидно, способность к восстановлению оксианионов находилась в прямой зависимости от степени токсичности оксианионов для конкретного вида микроорганизмов в конкретных условиях. Восстанавливать оксианионы селена и теллура способны живые клетки. В ряде случаев содержание белка на всем продолжении опыта оставалось неизменным или снижалось, что свидетельствует о подавлении роста и жизнедеятельности клеток или об их гибели. В то же время в среде культивирования наблюдалось образование черного (элементный теллур) или красного (элементный селен) осадка. Вероятно, восстановление оксианионов может протекать при концентрациях, которые значительно ингибируют рост культуры, но не являются летальными, тогда как отсутствие элементарных форм селена и теллура в среде культивирования свидетельствует о гибели клеток сразу после внесения селенита натрия или теллурида калия.

Так, в экспериментах с культурой *Rhodovulum sp.* LF-01 в фотоавтотрофных условиях при концентрациях теллурид-иона выше 2 мМ черного осадка не было, как и в культуральной среде *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* на всем диапазоне концентраций (0.01–5 мМ). В то же время, несмотря на отсутствие роста, в культуральной среде *Rhodovulum sp.* LF-01 наблюдалось образование малого количества черного осадка (элементного теллура) при содержании теллурид-иона до 1 мМ. Подобным же образом, восстановление до элементного селена культурой *Rhodovulum sp.* LF-01 при слабом росте или его отсутствии наблюдалось при всех концентрациях селенит-иона вплоть до 10 мМ.

В экспериментах с фотогетеротрофными условиями восстановление теллурид-иона клетками *Rhodovulum sp.* LF-01 происходило до 0.1 мМ, несмотря на отсутствие роста на всех концентрациях (0.01–5 мМ). Культура *Rhodovulum sp.* LF-01 при активном росте в присутствии селенит-иона восстанавливала его при концентрациях вплоть до 10 мМ. В случае культуры *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* элементный селен образовывался при концентрациях селенит-иона до 2 мМ. В диапазоне концентраций селенит-иона 5–10 мМ элементный селен не был обнаружен ни прямым наблюдением, ни при микроскопировании. Это необычно, поскольку считается, что механизмы восстановления оксианионов металлоидов одинаковы у всех фототрофных микроорганизмов [4]. Причины подобного явления, вероятно, связаны с некими особенностями процесса восстановления селенит-иона культурой *Ectothiorhodospira shaposhnikovii*, которые подлежат дальнейшему исследованию.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-00346.

Список литературы

1. Bebien M., Chauvin J.P., Adriano J.M., Grosse S., Verméglio A. Effect of selenite on growth and protein synthesis in the phototrophic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* // Applied and environmental microbiology. 2001. Т. 67. № 10. С. 4440–4447.
2. Borghese R., Borsetti F., Foladori P., Ziglio G., Zannoni D. Effect of the Metalloid Oxyanion Tellurite (TeO_3^{2-}) on growth characteristics of the phototrophic Bacterium *Rhodobacter capsulatus* // Applied and environmental microbiology. 2004. Т. 70. № 11. С. 6595–6602.
3. Yurkov V., Jappe J., Verméglio A. Tellurite resistance and reduction by obligately aerobic photosynthetic bacteria // Applied and environmental microbiology. 1996. Т. 62. № 11. С. 4195–4198.
4. Borsetti F., Martelli P. L., Casadio R., Zannoni D. Metals and metalloids in photosynthetic bacteria: interactions, resistance and putative homeostasis revealed by genome analysis // The Purple Phototrophic Bacteria. Springer Netherlands, 2009. С. 655–689.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИГА В ЦЕЛЯХ БИОМОНИТОРИНГА В ВОДОЕМАХ МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

И. М. Королева

*Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского НЦ РАН
184209, г. Анапты, Россия, koririn@yandex.ru*

Гематологические показатели позволяют оценить физиологическое состояние рыб и проследить ход патологического процесса. Судить об изменениях возможно при наличии данных о параметрах крови у здоровых рыб. Исследовались сиги *Coregonus lavaretus* L. водоемов Мурманской области. В условно-чистых водоемах средний уровень гемоглобина у рыб варьировал от 74 до 100 г/л. Количество эритроцитов в 1 мм^3 – от 0.68 до 0.99 млн./мм³. Содержание патологических эритроцитов было менее 1%.

Реактивность и полифункциональность крови позволяет использовать ее как ценный индикатор состояния организма. Она является высокоспециализированным механизмом адаптации к условиям окружающей среды, поскольку участвует в поддержании гомеостаза. При действии токсических веществ на водоем у рыб происходят изменения наиболее стабильных характеристик организма. Немаловажное значение в этом случае приобретает изучение динамики гематологических показателей, позволяющих прогнозировать возможность восстановления таких сдвигов; определение нормы реакции того или иного вида рыб по этим параметрам.

Исследование гематологических характеристик обыкновенного сига *Coregonus lavaretus* L. проводилось с целью определения их вариабельности в разнотипных субарктических озерах Мурманской области. Решались следующие задачи:

рассмотреть изменчивость показателей крови рыб в условно-фоновых озерах для определения понятия «норма»; изучить изменчивость гематологических показателей у рыб, обитающих в озерах, подверженных долговременной антропогенной нагрузке (на примере оз. Куэтсьярви);

провести сравнительную характеристику крови рыб, обитающих в условно чистых и подверженному промышленному загрязнению водоемах.

Объектом изучения были озеро-речные системы р. Пиренги, р. Воронья и р. Паз.

Оценка состояния периферической крови рыб проводилась по определению уровня гемоглобина, подсчету количества эритроцитов, процентному соотношению клеток эритроидного ряда, лейкоцитарной формуле, наличию патологических форм эритроцитов и лейкоцитов согласно принятым в гематологии методам [1, 2].

Все исследованные водоемы являются объектам высшей (особой) рыбохозяйственной категории. Озера Шарьявр и Нижний Цагаявр относятся к группе очень малые, площадью менее 1 км^2 .

Озеро Шарьявр (водосбор р. Воронья) небольшое (площадь озера 0.14 км^2), по форме близкой к овальной, ледникового происхождения, территория водосборной площади по типу ландшафтов относится к лесотундровой зоне. Вода в озере является слегка закисленной и характеризуется низкими значениями общей минерализации (15.0 мг/л), по содержанию биогенных элементов озеро характеризуется как олиготрофное [3].

Озеро Ниж. Цагаявр (водосбор р. Воронья) небольшое проточное (площадь озера 0.81 км^2), по форме близкой к овальной, ледникового происхождения. Территория водосборной площади по типу ландшафтов относится к лесотундровой зоне. Вода в озере является нейтральной и характеризуется невысокими значениями общей минерализации (в среднем 28.5 мг/л). По среднегодовому содержанию биогенных элементов озеро характеризуется как олиготрофное [3].

Оз. Охтозеро (водосбор р. Пиренги) среднее (площадь 10.5 км^2), по форме близкое к овально-удлиненной, ледникового происхождения. Территория водосборной площади по типу ландшафтов относится к лесотундровой. Вода в озере нейтральная, с низкими значениями общей минерализации (в среднем 22.9 мг/л). По содержанию биогенных элементов озеро характеризуется как олиготрофное. К основным загрязняющим веществам относятся соединения тяжелых металлов (Cu, Mn) [4].

Озеро Куэтсьярви является одним из самых крупных на приграничной территории России (площадь озера 17.0 км^2), расположено в крайней северо-западной части Мурманской области. Относительно глубоководное (макс. глубина 37 м), по форме удлиненное озеро ледникового происхождения. Лежит в холмистой, покрытой лесом, местами заболоченной местности [5]. По содержанию биогенных элементов озеро характеризуется как мезотрофное. Куэтсьярви принимает сточные воды металлургических и сопутствующих производств, расположенных в п. Никель. К основным загрязняющим веществам относятся соединения серы и тяжелых металлов (Ni, Cu, Cd, Cr, Zn, As, Hg и др.), полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и стойкие органические загрязнители (СОЗ).

Биологические характеристики сигов. Всего за период 1998–2007 гг. в этих озерах гематологические показатели были определены у 51 рыбы. Сиги были представлены средне- и малотычинковой формами, имели бентосный или смешанный тип питания, принадлежали к группе сиговых с нижним конечным ртом.

В оз. Ниж. Цагаявр выделялись две формы сига: малотычинковая (с числом жаберных тычинок менее 30) и среднетычинковая (с количеством тычинок от 30 до 40). Отбор крови производился у пропускающих нерест самцов и неполовозрелых самок малотычинкового сига, средней массой 226 г (от 85 до 382) и длиной по Смитту 26.7 см (от 21.2 до 31.1 см), возрастом от четырех до шести лет.

В оз. Шарьявр обитали малотычинковые сиги, отбор крови производился у неполовозрелых или пропускающих нерест в текущем году особей со средней массой 348 г (от 302 до 405) и длиной по Смитту 31.1 см (от 28.6 до 31.6). Возраст от четырех до пяти лет.

В оз. Охтозеро обитали преимущественно малотычинковый сиг с числом жаберных тычинок от 15 до 27 (в среднем 22). Среднетычинковые сиги встречались в уловах единично. Отбор крови производился у нерестующих в текущем году особей со средней массой 450 г (от 210 до 644) и длиной по Смитту 33.8 см (от 26.1 до 37.5). Возраст от пяти до девяти лет.

Накопление тяжелых металлов в мышечной ткани сига в этих озерах не превышает установленных нормативов.

В оз. Куэтсьярви обитали две формы сига. Отбор крови производился у готовящихся к нересту и неполовозрелых самцов и самок преимущественно среднетычинкового сига со средней массой 110 (52–354) г и длиной АС 212.2 (16.3–26.5) см. Возраст от четырех до семи лет.

Характеристика красной крови сигов в условно-фоновых водоемах. Самцы сига из оз. Ниж. Цагаявр имели среднее содержание гемоглобина 98 г/л, самки – 122 г/л. В объединенной выборке данный показатель был равен 100 г/л., варьируя от 88 до 130. Среднее содержание эритроцитов у самцов равнялось 0.68 млн./м³, тогда как у самок – 0.67 млн./м³, существенных половых различий не наблюдалось. Количество эритроцитов у самцов изменялось от 0.53 до 0.88 млн./м³, у самок от 0.41 до 0.94 млн./м³. Содержание полихроматофильных эритроцитов у самцов сига из оз. Нижний Цагаявр равнялось 0.7%, у самок в 3 раза больше – 2.9%.

Самцы сига из оз. Шарьявр имели среднее содержание гемоглобина 105 г/л, самки – 90 г/л, что несколько ниже, чем у самцов. Величина данного показателя в объединенной выборке варьировала от 68 до 120, в среднем равнялась 100 г/л. Среднее содержание эритроцитов у самцов равнялось 0.69 млн./м³, тогда как у самок – 0.84 млн./м³. Содержание полихроматофильных эритроцитов у самцов и самок сига было практически одинаково 1.3 и 1.2%.

Самцы сига из оз. Охтозеро имели среднее содержание гемоглобина 78 г/л, самки – 71 г/л, что несколько ниже, чем у самцов. Величина данного показателя в объединенной выборке варьировала от 56 до 96, в среднем равнялась 74 г/л. Среднее содержание эритроцитов у обоих полов составило 0.99 млн./м³. Содержание полихроматофильных эритроцитов у самцов и самок сига было практически одинаково 1.3 и 1.2%.

Характеристика крови сигов в загрязняемом водоеме. Самцы сига из оз. Куэтсьярви имели среднее содержание гемоглобина 96 г/л, а самки – 110 г/л. У самцов содержание гемоглобина варьировало от 78 до 110, у самок от 66 до 130. Среднее содержание эритроцитов у самцов равнялось 0.95 млн./м³, тогда как у самок – 1.0 млн./м³. Количество эритроцитов у самцов изменялось от 0.53 до 1.5 млн./м³, у самок от 0.74 до 1.28 млн./м³. В целом существенных половых различий не наблюдалось. Среднее содержание полихроматофильных эритроцитов у самцов сига из оз. Куэтсьярви равнялось 6.5%, а у самок – 4.9%.

Анализ частоты встречаемости патологий эритроцитов. В оз. Ниж. Цагаявр частота встречаемости пикноза ядра эритроцитов в среднем составляла 0.15%. Количество шистоцитов у самцов и самок не превышало 0.1%. Содержание пойкилоцитов в объединенной выборке составляло 0.27%, частота встречаемости анизоцитов в среднем достигала 0.15% (табл. 1).

Таблица 1. Уровень патологий эритроцитов (%) у обыкновенного сига

Пол	Показатель			
	Пикноз ядра	Шистоциты	Пойкилоциты	Анизоциты
оз. Ниж. Цагаявр				
Самцы	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.25 ± 0.1	0.2 ± 0
Самки	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.01	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1
оз. Шарьявр				
Самцы	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.01	1.6 ± 0.5	0.6 ± 0.3
Самки	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	1.7 ± 0.4	0.5 ± 0.2
оз. Куэтсьярви				
Самцы	1.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	1.9 ± 0.3	0.6 ± 0.3
Самки	1.6 ± 0.7	0.15 ± 0.05	2.8 ± 0.7	0.5 ± 0.1

В оз. Шарьявр частота встречаемости пикноза ядра эритроцитов в среднем достигала 0.5%, варьируя от 0.3 до 0.6 у самцов, и у самок от 0.4 до 0.9. Количество шистоцитов в объединенной выборке равнялось 0.3%. У самцов минимальное содержание пойкилоцитов составляло 1.1 максимальное – 2.5, у самок 1.2–2.9% соответственно, среднее значение было равно 1.7%. Частота встречаемости анизоцитов колебалась у самцов от 0.2 до 1.0%, у самок от 0.2 до 0.8, у обоих полов не превышала 0.5% (табл. 1).

В оз. Куэтсьярви частота встречаемости пикноза ядра эритроцитов у самцов сига варьировала от 0.3 до 2.5%, а у самок от 0.9 до 2.3 Среднее значение равнялось 1.1%. Количество шистоцитов у самцов колебалось от 0.1 до 0.5%, у самок от 0.1 до 0.2, в среднем – 0.2. У самцов минимальное содержание пойкилоцитов составляло 1.1%, максимальное – 3.7, у самок соответственно 2.1 и 3.5, в среднем показатель был равен 2.0%. Частота встречаемости анизоцитов колебалась у самцов от 0.2% до 1.1, у самок от 0.4 до 0.5, среднее значение было менее 1% (табл. 1).

Характеристика белой крови сигов в условно-фоновых водоемах. В оз. Ниж. Цагаявр у самцов среднее содержание лимфоцитов составляло 82% у самок 88.7. Содержание палочкоядерных нейтрофилов у самцов равнялось 7%, что было в 1.5 раза больше, чем у самок (4.5). Содержание сегментоядерных нейтрофилов у самцов было также в 2 раза выше, чем у самок и составляло 8 и 4% соответственно. Количество моноцитов в 1.5 раза преобладало у самцов (2.5%) по сравнению с самками (1.5).

В оз. Шарьявр у самцов среднее содержание лимфоцитов достигало 80.6%, у самок – 86.4. Содержание палочкоядерных нейтрофилов у самцов было в 2 раза выше, чем у самок и равнялось 8.8 и 4.9% соответственно.

Содержание сегментоядерных нейтрофилов составляло у самцов 7.5%, у самок 5.2. Количество моноцитов было незначительно больше у самцов – 1.5%, чем у самок 1.2.

Характеристика белой крови сига в загрязняемом водоеме. В оз. Куэтсьярви среднее содержание лимфоцитов у самцов было равно 78%, что меньше, чем у самок. 81.5. Содержание палочкоядерных нейтрофилов у самцов также ниже (4.2%), чем у самок (5.2). Содержание сегментоядерных нейтрофилов практически не различалось у самцов и у самок: 9.9% и 11. Количество моноцитов было больше у самцов – 0.9, у самок этот показатель составлял – 0.5%.

Анализ лейкограммы сига исследованных водоемов. Среднее содержание лимфоцитов у сига обоих полов наименьшее в оз. Куэтсьярви (78.7), наибольшего значения этот показатель достигает у сига в оз. Ниж. Цагаявр – 85.6%. Самое низкое содержание палочкоядерных нейтрофилов обнаружено также у рыб в оз. Куэтсьярви – 4.4%, самое высокое в оз. Шарьявр – 6.6. Наибольшее значение числа сегментоядерных нейтрофилов обнаружено у сига из оз. Куэтсьярви (7.2%), их содержание у рыб в оз. Шарьявр и оз. Ниж. Цагаявр достоверно не различается. Количество моноцитов у сига в оз. Куэтсьярви было в 2 раза меньше чем в остальных исследованных озерах (табл. 2).

Таблица 2. Характеристика лейкоцитарной формулы обыкновенного сига

Показатели (%)	Место вылова рыбы			
	Ниж. Цагаявр	Шарьявр	Охтозеро	Куэтсьярви
Лимфоциты	85.6 ± 4	83.9 ± 3	88.0 ± 5	78.7 ± 1
Палочкоядерные нейтрофилы	5.7 ± 2.0	6.6 ± 2.0	6.4 ± 1.5	4.4 ± 0.6
Сегментоядерные нейтрофилы	5.9 ± 1.0	6.2 ± 1.0	5.6 ± 0.6	7.2 ± 4.0
Моноциты	2.0 ± 0.5	1.4 ± 0.5	2.0 ± 0.7	0.8 ± 0.4

Проведенные исследования показывают, что значительных различий по уровню гемоглобина, содержанию эритроцитов в 1 мм³ и другим количественным показателям у сига из условно-фоновых и загрязненных водоемов не выявлено, что подтверждает результаты предыдущих работ [6]. Разнонаправленные изменения наблюдаются в количестве незрелых эритроцитов (т.е. интенсивности эритропоэза), соотношении лейкоцитов. В условиях отсутствия острой токсичности среды и заболеваний, определяющая роль в динамике данных характеристик принадлежит физиологическим процессам, прежде всего подготовке к нересту.

Список литературы

1. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть. 1983. 184 с.
2. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., Привольнев Т.И. Гематология животных и рыб. М.: Изд-во Колос, 1969, 320 с.
3. Аннотированный экологический каталог озер Мурманской области: Восточная часть Мурманской области (Бассейн Баренцева моря). Апатиты: изд. КНЦ РАН. 2010. Ч. 1. 249 с.
4. Антропогенные изменения лотических экосистем Мурманской области. Ч. 2: Озеро-речная система реки Чуна в условиях аэротехногенного загрязнения. Апатиты: Изд-во Кольск. науч. центра. 2007. 238 с.
5. Экологический каталог озер Мурманской области. Северо-западная часть Мурманской области и приграничные территории сопредельных стран. Апатиты: Изд. Кольск. науч. центра. Ч. 2. 2009. 262 с.
6. Королева И.М. Гематологические показатели сига обыкновенного *Coregonus lavaretus* L. в водоемах Кольского Севера. Труды ВНИРО. 2016. Т. 162. С. 36–45.

АНТРОПОГЕННОЕ ХИМИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР ОТБОРА: ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ГИБЕЛЬ РЫБ В ЧЕМОШУРСКОМ ПРУДУ (ОКРЕСТНОСТИ Г. ИЖЕВСКА)

Б. Г. Котегов

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»
426034, г. Ижевск, Россия, rutilus@yandex.ru

В Чемошурском пруду, расположенном в окрестностях г. Ижевска, в конце периодов весеннего снеготаяния отмечено значительное увеличение загрязняющих веществ, сопровождающееся гибелью части молоди плотвы, верховки и уклейки. По результатам сравнительного морфологического анализа выборок погибших и выживших годовиков плотвы обоснован возможный вклад антропогенного химического загрязнения в формирование особого «городского» морфотипа этого вида в рассматриваемом водоеме посредством отбора и избирательной элиминации фенотипов с определенным сочетанием значений счетных признаков осевого скелета.

Гибель особей рыб в городских и пригородных водоемах, подверженных антропогенному воздействию, отмечается в Удмуртии достаточно часто. Так, для старых заводских прудов-водохранилищ, расположенных на территориях городов Ижевск и Воткинск, в последнее время стали весьма характерны летние заморы представителей ихтиофауны, обусловленные влиянием жаркой и засушливой погоды на фоне усилившегося антропогенного эвтрофирования этих водоемов и значительных объемов городского водопотребления. В ряде малых прудов г. Ижевска, имеющих небольшой удельный водосбор, бессточных или с минимальным меженным стоком, в отдельные годы наблюдались зимние (подледные) заморы. Во всех этих случаях причиной гибели рыб

был временный дефицит растворенного кислорода, который возникал в водоемах в результате совместного действия нескольких природных (климатических, орографических) и антропогенных (гидротехнических, гидрохимических) факторов. Сама гибель рыб при этом, как правило, носила массовый характер, затрагивала в разной степени почти весь спектр видов ихтиофауны рассматриваемых водоемов (за исключением наиболее устойчивых к дефициту кислорода), а внутри популяций этих видов рыб – различные возрастные и генеративные группы особей.

Известно, что в условиях техногенного воздействия на небольшие городские водоемы в них может отмечаться гибель особей рыб не только из-за нехватки кислорода, но и в результате отравления различными химическими веществами, попадающими в акваторию этих водоемов с промышленными стоками. Мы полагаем, что в этом случае организмы рыб одного вида, но разного возраста и физиологического состояния могут демонстрировать различные пределы своей индивидуальной устойчивости к воздействию одинаковых доз водных токсикантов и, как следствие, избирательно реагировать на них, в том числе и в форме летального исхода. В свою очередь избирательная элиминация отдельных особей из состава популяции под действием взаимосвязанных внешних и внутренних причин, как считает И.И. Шмальгаузен [1], является основным творческим началом естественного отбора, качественно преобразующим такую популяцию и повышающим ее устойчивость, как в стабильных, так и в изменяющихся условиях существования.

По нашему мнению, химическое загрязнение водоемов, как результат деятельности человека, тоже может рассматриваться в качестве потенциального фактора индивидуального отбора, действующего избирательно на организмы гидробионтов с различной вероятностью их выживания или гибели в зависимости от индивидуальных особенностей. Однако наблюдать реальные проявления этого избирательного действия в популяциях рыб весьма затруднительно в силу продолжительного и постепенного характера протекания антропогенного микроэволюционного процесса, как правило, скрытого от прямых (визуальных) наблюдений в натуральных условиях водной среды. Можно лишь спустя определенное время зарегистрировать некоторые его результаты, в частности на популяционно-морфологическом уровне, что было продемонстрировано еще в 80-х годах XX века на примере так называемой «индустриальной расы» плотвы *Rutilus rutilus* (L.), обитающей в некоторых городских водоемах и водотоках с высоким уровнем техногенного загрязнения [2]. Особи плотвы из популяций, постоянно существующих в таких условиях, характеризуются в среднем большим числом ветвистых лучей в непарных плавниках и позвонков в хвостовом отделе позвоночника на фоне меньшего числа туловищных позвонков, по сравнению с плотвой из других водоемов. Как было выяснено позднее, подобные изменения фенотипа, сходные по направлению и амплитуде, могут наблюдаться в отдельных, географически удаленных друг от друга популяциях плотвы из загрязненных водоемов, расположенных на урбанизированных территориях в разных регионах Европейской части России [3–6]. То есть они формируются независимо друг от друга и в ряде случаев приводят к статистически значимым количественным отличиям от типовых морфологических показателей этого вида. Все это позволяет говорить о возможности образования и устойчивого существования особого «городского» морфотипа у такого экологически пластичного и морфологически изменчивого вида рыб как плотва.

В 1999 году нами впервые была изучена выборка плотвы из Чемошурского пруда, расположенного в 500 м к востоку от административной границы г. Ижевска и подверженного загрязнению различными стоками и смывами с городской территории. В результате ее изучения были выявлены морфологические особенности разновозрастных особей плотвы, полностью соответствующие отмеченным выше характеристикам «городского» морфотипа [7]. Через 15 лет повторное изучение чемошурской плотвы показало, что обнаруженные у нее ранее дискретные особенности морфологии в целом сохранились, а по соотношению числа позвонков в туловищном и хвостовом отделах стали еще более выраженными. При этом по ряду счетных признаков осевого скелета ее особи статистически значимо отличались от особей плотвы, отловленных в других прудах Ижевска и его пригородной зоны. Чтобы понять причины и механизмы формирования морфологических отличий, появившихся у плотвы из Чемошурского пруда в условиях его антропогенного загрязнения, нами сначала были проанализированы результаты изучения некоторых гидрохимических параметров этого водоема в 2011–14 гг. Выяснено, что пруд каждый год характеризовался инвертированной сезонной динамикой минерализации воды: максимум суммарного содержания ионов растворенных солей электролитов приходился в этом водоеме на период весеннего снеготаяния, после чего в течение лета наблюдалось его постепенное снижение в 1.5–2 раза. Во всех остальных исследованных нами городских и пригородных прудах, наоборот, после весеннего расплавления льда показатели минерализации воды всегда были минимальными в силу ее разбавления талыми стоками, а в течение летне-осеннего межлетнего периода постепенно увеличивались, иногда стагнируя или немного снижаясь во время затяжных дождевых паводков.

Такая особенность сезонной динамики минерализации воды в Чемошурском пруду связана с тем, что большая часть его водосбора, находящаяся в черте города, представлена различными селитебными и промышленными зонами с многочисленными линейными и площадными объектами транспортной инфраструктуры (автодороги, автостоянки, автогаражные кооперативы, автозаправочные станции). Обслуживание этих объектов в зимний период сопровождается активным использованием твердых и жидких антигололедных реагентов с различным составом солей, которые вносятся на дороги и тротуары, постепенно накапливаются на обочинах, а весной с талой водой попадают в ручьевые притоки реки Чемошурки и далее в Чемошурский пруд, вызывая в нем временное повышение минерализации воды, не характерное для других прудов. Помимо этого, по данным производственно-экологического мониторинга, проводимого ежемесячно АО «Ижевский электромеханический завод «Купол» в створе организованного сброса ливневых сточных вод в Чемошурку (в 1.3 км выше пруда), именно во второй половине весны 2014 года здесь отмечались максимальные концентрации таких химических веществ-загрязнителей как нитрит-ионы, общее железо и углеводороды нефтяного происхождения (нефтепродукты), которые превышали рыбохозяйственные нормативы в несколько раз.

Исходя из результатов предварительного изучения гидрохимических особенностей Чемошурского пруда, нами было сделано предположение, что весенние периоды после снеготаяния и распаления льда являются наиболее экстремальными и «ключевыми» для ограничения возможностей существования в этом водоеме различных гидробионтов, в том числе и плотвы. В 2015 году мы провели более детальное обследование акватории Чемошурского пруда во второй половине весны с замерами температуры и минерализации воды. Наблюдения начаты в апреле, когда водоем был еще полностью покрыт льдом, а его притоки наполнены загрязненными талыми водами, стекающими с городских участков водосбора. В течение месяца в верховьях пруда происходил постепенный подъем температуры с 4 до 12 °С и минерализации воды с 290 до 330 мг/л, в его правобережном заливе – с 6 до 15 °С и с 270 до 350 мг/л соответственно. За два солнечных дня 29 и 30 апреля, когда температура воздуха резко повысилась с 14 до 27 °С в дневные часы, лед в акватории Чемошурского пруда полностью растаял. Высокая температура воздуха с ясной погодой наблюдалась в Ижевске и в первые пять дней мая, после чего снизилась до 10–17 °С, но осадков не было еще в течение недели. Значения минерализации воды в пруду в начале мая достигли своего внутригодового максимума, заметно превысив фоновые показатели для водоемов природной зоны смешанных лесов, где они в среднем должны составлять 100–200 мг/л [8]. Для сравнения: майские показатели минерализации воды в большинстве других водоемов г. Ижевска и его окрестностей, за исключением ряда промышленных прудов-отстойников, в это же время находились в пределах указанного диапазона.

В первый день мая 2015 года в верховьях и правобережном заливе Чемошурского пруда нами было зарегистрировано и собрано сачком в прибрежье с поверхности воды несколько мертвых и погибающих особей плотвы годовалого возраста. Через два дня их количество существенно возросло, особенно в заливе, где в 30 м от уреза воды находится территория автогаражного кооператива. Там же визуально были отмечены живые и активно плавающие ювенильные особи плотвы, некоторые из них с признаками дерматомикоза. Химический анализ пробы воды, взятой нами в заливе в этот день, выявил в ней превышение рыбохозяйственных нормативов предельно допустимого содержания ионов меди в 4.9 раза, нитритов – в 2.1 раза, аммония – в 1.6 раза. Через неделю мертвые особи плотвы были зарегистрированы только в подпоре залива. Всего за период с 1 по 8 мая на водоеме было собрано 50 мертвых и погибающих годовиков плотвы, два погибших экземпляра этого вида в возрасте 3 и 4 года, а также три мертвых особи верховки *Leucaspius delineatus* (Heckel) и одна – уклейки *Alburnus alburnus* (L.) первого года жизни. По нашим наблюдениям, угнетенные и погибающие годовалые особи плотвы неподвижно лежали на боку в поверхностном слое воды прибрежного мелководья или медленно перемещались в горизонтальном направлении, лишь при отлове их сачком начинали более активно двигаться, пытаясь принять нормальное положение тела и уплыть в глубину. Мертвые особи плотвы имели гиперемированные жабры с фиолетовым оттенком, у некоторых отмечены кровоизлияния на нижней части тела в области парных плавников. Подобные симптомы характерны, в частности, для фенольного отравления рыб [9–10], но аналогичные поведенческие реакции отмечаются также при сублетальном воздействии на рыб высокими концентрациями углеводородов нефти, хлорорганических пестицидов и ряда тяжелых металлов с нейротоксичным эффектом [11].

С 13 по 20 мая 2015 года в г. Ижевске прошли ливневые дожди, разбавив воду в заливе Чемошурского пруда до значения минерализации в 290 мг/л. После недели дождей мертвых и погибающих рыб в акватории Чемошурского пруда нами зарегистрировано не было, а у поверхности воды во многих местах визуально отмечены активно плавающие взрослые особи плотвы размером около 10–12 см. Выжившие к этому времени годовики плотвы были отловлены сачком в зонах подпора верховьев и залива – у подмытых берегов на глубине около 0.5 м в местах со слабым течением. Повторный химический анализ воды из залива пруда в конце мая выявил снижение концентраций ионов меди по сравнению с началом мая до 2.1 ПДК, нитритов – до 1.5 ПДК, аммония – до значений ниже ПДК, с дальнейшим уменьшением минерализации воды до 260 мг/л. В ходе последующих визуальных наблюдений летне-осеннего периода 2015 года с частотой один раз в месяц погибших особей рыб в прибрежной акватории Чемошурского пруда зарегистрировано не было. Таким образом, только в начале мая в этом водоеме имела место гибель ювенильных особей плотвы, верховки и уклейки, которая, вероятно, была вызвана их отравлением загрязняющими веществами, поступившими в пруд в избыточном количестве с талой водой с городской территории водосбора, на фоне резкого повышения температуры воздуха. Какое конкретно химическое соединение привело к интоксикации и гибели рыб, не выяснено.

В следующем 2016 году наши весенние наблюдения зафиксировали в Чемошурском пруду аналогичную ситуацию. Вследствие более ранней и «дружной» весны он полностью освободился ото льда уже к 21 апреля. С этого времени в прибрежье водоема стали единично встречаться мертвые и погибающие годовалые особи плотвы, которые в конечном итоге были собраны нами в общую выборку: всего 141 шт. Максимальное их количество в верховьях пруда (около 20 экз.) было отмечено 30 апреля после нескольких дней сухой и солнечной погоды, в заливе – на пять дней позже (более 100 экз.). Все мертвые годовики чемошурской плотвы имели такие же симптомы отравления, что и предыдущей весной. За несколько дней до отмеченного в заливе «пика» смертности там же были визуально зарегистрированы живые годовики плотвы с необычным групповым поведением. Рыбы держались в поверхностном слое воды возле берега в месте впадения ручья несколькими плотными группами-скоплениями (30–50 см в диаметре), перемещаясь внутри них по круговым траекториям. При этом отдельные особи в группах периодически всплывали на поверхность и ложились неподвижно на бок, принимая через какое-то время снова нормальное положение, что могло быть проявлением обратимой нервно-паралитической реакции. Химический анализ пробы воды, взятой в заливе Чемошурского пруда в день наиболее интенсивной гибели годовиков плотвы, выявил превышение рыбохозяйственных значений ПДК по содержанию фенола в 3 раза. Помимо годовалых особей плотвы в прибрежье водоема было собрано несколько мертвых двухлетних особей этого вида и три погибших ювенильных экземпляра уклейки.

К середине мая 2016 года мертвые и погибающие особи рыб в акватории Чемошурского пруда перестали встречаться. После этого в конце мая – начале июня нами был произведен отлов живых годовалых особей плотвы (148 экз.). Изучение счетных признаков осевого скелета показало, что выжившие после весеннего химического воздействия годовики плотвы имели в среднем больше ветвистых лучей в спинном и анальном плавниках и позвонков в хвостовом отделе позвоночника, а также меньше позвонков в туловищном отделе по сравнению с одновозрастными особями, погибшими в рассматриваемый весенний период. Сравнительный анализ выборок погибших и выживших в 2016 году годовиков с использованием критерия χ^2 выявил статистически значимые различия на уровне $p < 0.05$ между ними по частотным распределениям значений трех из четырех изученных счетных признаков осевого скелета. Аналогичная тенденция наблюдалась и в предыдущем 2015 году, но в силу небольшого объема имевшихся выборок погибших и выживших экземпляров (50 и 21 соответственно) статистически значимых различий между ними непараметрический сравнительный анализ не выявил. В целом направления сдвигов частотных распределений всех четырех дискретных морфологических признаков в группах годовалых особей чемошурской плотвы после избирательного летального химического воздействия на них в весенние периоды двух лет полностью соответствовали трендам межпопуляционной изменчивости этого вида рыб при формировании «городского» морфотипа в некоторых его популяциях, обитающих в техногенно загрязненных водоемах.

Таким образом, избирательность летального химического воздействия проявилась не только в определенных сроках его появления (конец весны), но и в выборочном характере этого воздействия на разные популяции, внутривидовые группы и отдельных особей рыб. Во-первых, среди погибших организмов были отмечены представители только трех стайных пелагических видов рыб сем. Cyprinidae, п/сем. Leuciscinae: в основном это была плотва, отчасти также верховка и уклейка. В то же время среди живых особей, отловленных в мае в подпорных зонах пруда, встречались экземпляры и других видов рыб: придонных (обыкновенный пескарь *Gobio gobio* (L.), усатый голец *Barbatula barbatula* (L.)) и зарослевых (речной окунь *Perca fluviatilis* L., серебряный карась *Carassius gibelio* (Bloch)). В летние периоды в пруду также были отловлены особи золотого карася *Carassius carassius* (L.) и карпа *Cyprinus carpio* (L.). Однако погибших экземпляров, принадлежащих к шести последним видам рыб, в акватории пруда нами зарегистрировано не было. Во-вторых, особи разных возрастных групп в популяциях плотвы, верховки и уклейки были подвержены процессу весенней гибели в разной степени. Подавляющее большинство погибших организмов рыб, обнаруженных в акватории водоема в весенние периоды двух лет исследований, были ювенильными: в основном, это перезимовавшая молодь в конце первого года жизни. Взрослые представители этих трех видов рыб, по-видимому, оказались физиологически более устойчивыми к рассматриваемому антропогенному воздействию или смогли его избежать, уплыв на нижние и глубоководные участки водоема, поэтому среди погибших особей они встречались единично. В-третьих, внутри наиболее массовой возрастной группы плотвы – годовиков – нами была прослежена избирательность гибели на фенотипическом (индивидуальном) уровне. Экземпляры с разным сочетанием вариантов четырех счетных признаков осевого скелета встречались среди погибших и выживших годовалых особей в разном соотношении, что сопровождалось статистически значимыми различиями этих двух групп по распределениям значений отдельных признаков и приводило к направленному сдвигу их среднегрупповых количественных характеристик после избирательного летального воздействия. По нашему мнению, подобный факт можно рассматривать как проявление отбора в его классическом «дарвиновском» понимании борьбы за существование, то есть как успешное выживание наиболее приспособленных особей (фенотипов) с избирательной элиминацией менее приспособленных и постепенным формированием новой фенотипической нормы на популяционном уровне.

Список литературы

1. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции (теория стабилизирующего отбора). М.: Наука, 1968. 451 с.
2. Яковлев В.Н. «Индустриальная раса» плотвы *Rutilus rutilus* (Pisces, Cyprinidae) // Зоол. журн. 1992. Т. 71. № 6. С. 81–85.
3. Мироновский А.Н. Морфологическая дивергенция популяций плотвы *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) из малых водоемов Москвы: к вопросу о формировании «индустриальных рас» // Вопр. ихтиол. 1994. Т. 34. № 4. С. 486–493.
4. Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г., Касьянов А.Н. и др. Антропогенная микроэволюция плотвы *Rutilus rutilus* Шекснинского плеса Рыбинского водохранилища // Вопр. ихтиол. 1998. Т. 38. № 5. С. 704–708.
5. Бакланов М.А. Фауна и особенности рыб малых рек урбанизированных территорий Прикамья / Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Пермь: ПГУ, 2002. 18 с.
6. Котегов Б.Г. Морфофенетические особенности плотвы *Rutilus rutilus* (L.) из водоемов Удмуртии в условиях урбанизации // Биология и экология рыб Прикамья. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 2003. Вып. 1. С. 48–58.
7. Котегов Б.Г. «Индустриальная раса» плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) из Чемошурского пруда г. Ижевска // Матер. XII Междунар. конф. «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия». Борок: ИБВВ РАН, 2002. С. 128–129.
8. Китаев С.П. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон. М.: Наука, 1984. 208 с.
9. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легпищепромиздат, 1983. 320 с.
10. Алабастрер Дж., Ллойд Р. Критерии качества воды для пресноводных рыб. М.: Легпищепромиздат, 1984. 343 с.
11. Васильков Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г. и др. Болезни рыб: Справочник. М.: Агропромиздат, 1989. 288 с.

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ АМФИБИЙ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. Э. Кудряшова¹, Е. С. Иванова¹, В. Т. Комов²

¹Череповецкий государственный университет

162600, г. Череповец, Россия, StepinaElena@yandex.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

152742, пос. Борок, Россия, vkotov@ibiw.yaroslavl.ru

В работе исследуются различия накопления ртути представителями разных видов амфибий. Концентрации ртути выше в организме земноводных, отловленных в западных районах Вологодской области, где расположено большое количество озер и болот, по сравнению с восточными районами с развитой гидрографической сетью.

Ртуть является одним из наиболее опасных токсикантов, который повсеместно распространён в окружающей среде [1]. По разным оценкам, ежегодное поступление ртути в атмосферу составляет от 3 до 7 тыс. т., при этом примерно половина приходится на ее антропогенные источники [2]. Поступающие в окружающую среду ртуть и ее соединения подвергаются различным преобразованиям и трансформациям. Ключевую роль в локальном круговороте металла в природе играет реакция превращения неорганических форм ртути в метилированные формы, которые являются во много раз более токсичными для живых организмов. Метилртуть, обладая высоким сродством к биологическим молекулам, чрезвычайно активно накапливается живыми организмами и возрастает по мере продвижения к вершинам трофических цепей. Особенно интенсивно процессы метилирования протекают в верхнем слое богатых органическим веществом донных отложений водоемов и во взвешенном в воде веществе, а в водной биоте большая часть ртути присутствует в виде метилртути.

Исследования, посвященные изучению накопления ртути позвоночными животными, проводятся чаще на рыбах, птицах и млекопитающих, находящихся на вершине пищевой пирамиды и подверженных действию самых высоких концентраций ртути [3]. В то же время, исследований, посвященных накоплению и распределению ртути в земноводных животных, крайне мало, несмотря на то, что эти животные представляют собой важный элемент экосистем.

На территории Вологодской области расположены промышленные предприятия, которые могут быть потенциальными источниками выбросов ртути в атмосферу, а так же существуют условия (водоемы и заболоченные территории) для образования наиболее доступных для живых организмов соединений ртути (металлорганических соединений).

Сбор материала органов амфибий осуществлялся в мае-июле 2014–2015 гг. на территории 9 районов Вологодской области, различающихся природно-климатическими условиями (гидрографическими особенностями, увлажнением, количеством осадков) и степенью развития промышленности: Череповецком, Шекснинском, Кадуйском, Кирилловском, Вашкинском, Вожегодском, Вытегорском, Тотемском и Великоустюгском.

Объем собранного материала составил 804 пробы от 136 особей 5 видов амфибий: обыкновенного тритона (*Triturus vulgaris*) (*n* 5), озёрной лягушки (*Rana ridibunda*) (*n* 13), прудовой лягушки (*Rana esculenta*) (*n* 32), травяной лягушки (*Rana temporaria*) (*n* 53) и серой жабы (*Bufo bufo*) (*n* 33).

Отлов амфибий осуществлялся с помощью гидробиологического сачка. После измерения массы и определения пола животного, отбирались пробы различных органов (печень, почки, сердце, мышцы, кожа, стенка кишечника). Пробы помещались в полиэтиленовые пакеты, замораживались и хранились при температуре от –4 до –16°C.

Содержание ртути во всех образцах (органах животных) определяли на ртутном анализаторе РА-915М с приставкой ПИРО атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки.

Результаты представляли в виде средних значений (мг/кг сырой массы) и их ошибок ($x \pm mx$). Достоверность различий оценивали, используя метод дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при уровне значимости $p \leq 0.05$. Для определения корреляционных связей между количеством металла в разных парах органов животных, а также зависимости количества металла в органах животных от содержания ртути природно-климатических особенностей их местообитания, значения которых не имеют нормального распределения (Shapiro-Wilk test), использовали непараметрический коэффициент Спирмена ($r_s, p \leq 0.05$).

Содержание ртути в органах исследованных видов амфибий варьирует в пределах: от менее чем 0.001 до 0.238 мг/кг. (табл. 1). При этом средние значения содержания ртути во всех исследованных органах (за исключением кожи) амфибий отряда бесхвостых (лягушек и жаб) в 2–2.5 раза выше, чем в соответствующих органах представителя отряда хвостатых амфибий – обыкновенного тритона. Содержание ртути в коже бесхвостых и хвостатых амфибий не различаются.

Для всех исследованных видов амфибий максимальные значения содержания ртути отмечены в печени (0.031–0.101) и почках (0.021–0.074 мг/кг). Минимальные значения количества металла у исследованных видов бесхвостых амфибий отмечены в коже и кишечнике, которые варьируют в пределах 0.007–0.027 и 0.010–0.030 мг/кг соответственно. У обыкновенного тритона минимальные значения содержания ртути установлены в стенках кишечника (0.009 мг/кг), при этом количество ртути в коже (0.023) достоверно не отличалось от содержания металла в печени и почках (органы с максимальными показателями содержания ртути). Промежуточные значения содержания ртути для всех исследованных видов амфибий отмечены в мышцах и сердце.

Таблица 1. Содержание ртути в органах амфибий

Вид	Орган					
	кожа	кишечник	сердце	мышцы	почки	печень
	мг/кг, сырой массы					
обыкновенный тритон	0.023 ± 0.003^{bc}	0.009 ± 0.001^a	0.015 ± 0.002^a	0.012 ± 0.002^{ab}	0.021 ± 0.003^a	0.031 ± 0.004^a
	0.015–0.030	0.006–0.012	0.001–0.020	0.056–0.017	0.013–0.030	0.019–0.044
озерная лягушка	0.027 ± 0.003^c	0.030 ± 0.002^c	0.058 ± 0.004^c	0.050 ± 0.002^d	0.074 ± 0.003^d	0.101 ± 0.003^b
	0.014–0.043	0.019–0.041	0.042–0.078	0.037–0.059	0.048–0.088	0.089–0.123
прудовая лягушка	0.022 ± 0.005^c	0.025 ± 0.002^{bc}	0.025 ± 0.004^b	0.048 ± 0.006^d	0.050 ± 0.009^c	0.055 ± 0.018^b
	0.009–0.061	0.014–0.038	0.008–0.059	0.013–0.091	0.010–0.095	0.021–0.238
травяная лягушка	0.019 ± 0.001^b	0.021 ± 0.001^b	0.021 ± 0.003^b	0.027 ± 0.002^c	0.038 ± 0.003^{bc}	0.056 ± 0.005^a
	0.004–0.051	0.002–0.051	0.003–0.075	0.008–0.063	0.008–0.102	0.010–0.153
серая жаба	0.007 ± 0.001^a	0.010 ± 0.001^a	0.021 ± 0.003^b	0.023 ± 0.001^a	0.034 ± 0.002^{abc}	0.067 ± 0.005^a
	0.001–0.021	0.002–0.023	0.004–0.054	0.002–0.029	0.002–0.052	0.004–0.084

Примечания: концентрации приведены как средние значения и их ошибки ($x \pm tx$); a, b, c – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются по органам между видами (в колонках), при уровне значимости $p < 0.05$.

Таблица 2. Содержание ртути в органах лягушки травяной (*Rana temporaria*) из разных районов Вологодской области

Район	Орган					
	печень	почки	сердце	мышцы	кишечник	кожа
	мг/кг сырой массы					
Вытегорский	0.101 ± 0.006^d	0.074 ± 0.003^d	0.046 ± 0.005^b	0.053 ± 0.002^f	0.039 ± 0.003^c	0.033 ± 0.004^c
	0.082–0.127	0.063–0.086	0.029–0.063	0.044–0.063	0.03–0.051	0.019–0.051
Вашкинский	0.082 ± 0.005^c	0.057 ± 0.004^{bc}	0.046 ± 0.006^b	0.038 ± 0.003^e	0.024 ± 0.002^b	0.025 ± 0.003^d
	0.058–0.094	0.042–0.071	0.029–0.073	0.027–0.048	0.018–0.031	0.015–0.032
Вожегодский	0.083 ± 0.011^b	0.05 ± 0.011^b	0.045 ± 0.006^a	0.035 ± 0.005^{de}	0.034 ± 0.003^c	0.022 ± 0.003^{cd}
	0.046–0.153	0.013–0.102	0.03–0.075	0.019–0.056	0.02–0.043	0.01–0.034
Тотемский	0.031 ± 0.002^b	0.022 ± 0.002^a	0.012 ± 0.002^a	0.022 ± 0.002^{bc}	0.012 ± 0.001^a	0.008 ± 0.001^a
	0.021–0.045	0.015–0.031	0.005–0.021	0.016–0.029	0.006–0.018	0.004–0.012
Кадуйский	0.024 ± 0.003^{ab}	0.016 ± 0.002^a	0.008 ± 0.001^a	0.015 ± 0.003^{ab}	0.019 ± 0.003^{ab}	0.016 ± 0.002^{bc}
	0.012–0.033	0.009–0.024	0.0053–0.011	0.011–0.029	0.01–0.032	0.01–0.025
Кирилловский	0.025 ± 0.004^{ab}	0.016 ± 0.001^a	0.008 ± 0.0007^a	0.013 ± 0.002^a	0.017 ± 0.003^a	0.013 ± 0.001^{ab}
	0.014–0.042	0.012–0.019	0.006–0.011	0.008–0.018	0.002–0.022	0.009–0.017
Великоустюгский	0.017 ± 0.002^a	0.011 ± 0.001^a	0.006 ± 0.001^a	0.012 ± 0.001^a	0.013 ± 0.001^a	0.019 ± 0.001^{bcd}
	0.012–0.026	0.008–0.018	0.004–0.008	0.011–0.016	0.001–0.02	0.013–0.024

Примечания: над чертой приведены средние значения и их ошибки ($x \pm tx$); под чертой – минимальные и максимальные значения показателя; a, b – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются по органам между отдельными районами (в столбцах), при уровне значимости $p < 0,05$ (ANOVA-тест).

Таким образом, средние значения содержания Hg в органах исследованных видов бесхвостых амфибий уменьшаются в ряду: печень > почки > мышцы > сердце > кишечник > кожа; а у представителя отряда хвостатых амфибий – тритона в ряду: печень > почки > кожа > сердце > мышцы > кишечник.

Содержание ртути в органах исследованных видов бесхвостых амфибий варьирует в пределах от 0.002 до 0.238 мг/кг, сырой массы. Средние показатели содержания ртути в органах исследованных видов лягушек семейства Ranidae (0.019–0.101 мг/кг) превышает содержание ртути в соответствующих органах серой жабы (0.007–0.054), семейства Bufonidae. При этом в мышцах, коже и кишечнике эти различия статистически достоверны.

Содержание ртути в органах исследованных видов лягушек (сем. Ranidae), достоверно различаются между видами разных родов. Значения количества металла в печени, почках и мышцах исследованных видов рода зеленые лягушки (Pelophylax) – озерной (0.050–0.101 мг/кг) и прудовой лягушек (0.048–0.094), в 1.5–2 раза выше, чем в соответствующих органах травяной лягушки (0.027–0.056), которая относится к роду настоящих лягушек (Ranidae). Различий между показателями содержания ртути в коже и кишечнике лягушек разных родов не установлено.

Значения содержания ртути в органах исследованных видов рода зеленые лягушки (озерной и прудовой лягушек) достоверные различия установлены только для почек и сердца.

Концентрация ртути в органах амфибий, отловленных в районе исследования, сопоставима с имеющимися в литературе данными для животных, места обитания которых значительно удалены от источников загрязнения, с содержанием металла в органах серой жабы и травяной лягушки, отловленных в лесах Финляндии, не подверженных промышленному воздействию – (0.03–0.12 мг/кг). Содержание ртути в печени и почках озерной лягушки (0.101 ± 0.003 и 0.074 ± 0.003 мг/кг, соответственно) из промышленного Череповецкого района Вологодской области в 2–3 раза ниже, чем содержание металла в соответствующих органах озерной лягушки из окрестностей г. Темиртау в Центральном Казахстане, где сосредоточены крупные горнодобывающие и металлургические предприятия (0.38 ± 0.04 и 0.21 ± 0.10 мг/кг) [5, 6].

Установлены достоверные корреляционные зависимости между содержанием ртути во всех возможных парах исследованных органов травяной лягушки ($r_s = 0.47–0.93$, при $p \leq 0.01$). У прудовой лягушки корреляционная зависимость количества металла установлена не для всех возможных пар исследованных органов – исключение составили пары кишечник – печень, почки и сердце, где зависимость статистически не значима.

У озерной лягушки корреляционные зависимости отмечены для пар органов: почки – мышцы ($r_s = 0.63$, при $p < 0.02$); кожа – сердце, печень и кишечник ($r_s = 0.68–0.70$, при $p < 0.02$); а также кишечник – печень ($r_s = 0.68$, при $p < 0.01$).

У серой жабы статистически значимые зависимости отмечены для пар органов мышцы – другой орган ($r_s = 0.45–0.83$, при $p \leq 0.04$) а так же кишечник – печень и кожа ($r_s = 0.63–0.85$, при $p \leq 0.04$).

Для тритона значимые корреляционные зависимости установлены только для пар органов: сердце – печень и сердце – почки ($r_s = 0.97$, при $p \leq 0.005$).

Зависимость содержания ртути в органах животных от природно-климатических особенностей и удаленности районов их обитания от промышленного центра г. Череповца исследовали на примере травяной лягушки, количество которой в выборках было максимальным. Установлены различия между содержанием металла в исследуемых органах лягушек из разных районов Вологодской области (табл.2).

Более высокие концентрации ртути во всех исследованных органах лягушек зарегистрированы у животных из Вытегорского, Вашкинского и Вожегодского районов, более низкие – у животных из Кадуйского, Великоустюгского и Кирилловского района. Содержание металла во всех исследованных органах из этих районов различалось статистически значимо (табл.3).

Установлена положительная корреляционная зависимость между концентрацией металла во всех исследованных органах травяной лягушки и озерностью района их обитания (табл. 3). Кроме того установлена зависимость между количеством ртути в печени, почках и мышцах амфибий от среднегодового количества осадков; в коже и кишечнике от количества озер в районе их обитания. При этом установлена отрицательная статистически значимая связь между количеством ртути в коже и кишечнике животных от густоты речной сети в районе их обитания (табл. 3).

Таблица 3. Корреляционная зависимость содержания ртути в органах травяной лягушки от природно-климатических условий мест их обитания

Орган	Показатель		
	Осадки (мм/год)	Коэффициент озерности	Густота речной сети
Сердце	$r_s = 0.22; p \leq 0.09$	$r_s = \mathbf{0.41}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -0.04; p \leq 0.7$
Печень	$r_s = \mathbf{0.34}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = \mathbf{0.52}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -0.14; p \leq 0.3$
Почки	$r_s = \mathbf{0.38}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = \mathbf{0.43}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -0.12; p \leq 0.4$
Кожа	$r_s = -0.08; p \leq 0,5$	$r_s = \mathbf{0.54}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -\mathbf{0.28}; p \leq \mathbf{0.03}$
Кишечник	$r_s = 0.23; p \leq 0,07$	$r_s = \mathbf{0.59}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -\mathbf{0.26}; p \leq \mathbf{0.05}$
Мышцы	$r_s = \mathbf{0.31}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = \mathbf{0.48}; p \leq \mathbf{0.01}$	$r_s = -0.11; p \leq 0.4$

Примечания: жирным шрифтом выделены статистически значимые корреляционные зависимости.

Количество аккумулированного амфибиями металла зависит от особенностей места их обитания, в частности, увлажненности, озерности и количества непроточных водоемов. Районы обитания исследованных экзотических травяных лягушек различались природно-климатическими особенностями. Для северо-западных – Вытегорского, Вашкинского и Вожегодского – характерно наличие крупных озер и заболоченных территорий, в то время как в Великоустюгском, расположенном на востоке, а также Кирилловском и Тотемском, расположенных в центральной части области, крупных водоемов нет. Выявлены достоверные корреляционные зависимости между концентрацией ртути в органах амфибий и озерностью территории, среднегодовым количеством осадков и густотой речной сети.

Неравномерность распределения ртути по органам животных может быть связана с неоднородностью распределения неорганических и ртутьорганических соединений ртути на территории их обитания, особенностями аккумуляции разных её форм живыми организмами, а также с особенностями строения и функционирования их органов [7].

Список литературы

1. UNEP Chemicals. Global Mercury assessment: Report no. 54790-01. Geneva, Switzerland, 2002. P. 1–258.
2. Arctic Pollution (AMAP). Oslo. 2002. 212 p.
3. Scheuhammer A. Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish // AMBIO. 2007. Vol. 36. P. 12–18.
4. Wolfe M.F., Schwarzbach S., Sulaiman, R.A. The effects of mercury on wildlife: a comprehensive review // Environ Toxicol Chem. 1998. Vol. 17. P. 146–160.
5. Prokic M.D., Borković-Mitic S.S., Krizmanic I.I., Mutic J.J., Trifkovic J.D., Gavric J.P., Despotovic S.G., Gavrilovic B.R., Radovanovic T.B., Pavlovic S.Z., Saicic Z.S. Bioaccumulation and effects of metals on oxidative stress and neurotoxicity parameters in the frogs from the Pelophylaxesculentus complex // Ecotoxicology. 2016. Vol. 25. P. 5.
6. Terhivuo, J., Lodenium, M., Nuorteva, P., Tulisalo, E. Mercury content of common frogs (*Rana temporaria* L.) and common toads (*Bufo bufo* L.) collected in southern Finland // Ann. Zool. Fennici. 1984. № 21. P. 41–44.
7. Ulfvarson U. Transportation of Mercury in Animals. Stockholm, Sweden: Arbets-medicinska institutet, 1970.

ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛОВ (ЦИНК, МЕДЬ) НА АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РЫБ. ЭФФЕКТ СЕРОТОНИНА И ОСВЕЩЕННОСТИ

В.В. Кузьмина, Е.А. Куливацкая

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанова РАН
152742, пос. Борок, Россия, vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru

Цинк и медь в условиях *in vitro* снижают активность пептидаз кишечника карпа в меньшей концентрации (0.1 мг/л), чем в условиях *in vivo* (>50 мг/кг). В условиях световой депривации под влиянием серотонина (5-НТ) наблюдается увеличение активности ферментов слизистой и в меньшей степени химуса.

Как известно, металлы поступают в организм рыб преимущественно с водой и пищей. При этом доминирует второй путь [6, 8]. Многие гидробионты способны аккумулировать тяжелые металлы пропорционально их концентрации в воде. В ряде случаев аккумуляция металлов в организме рыб отражает их суммарную дозу в водоеме в течение длительного периода, причем их содержание может быть на 1-3 порядка выше, чем в воде [см. 3]. Металлы, поступающие в воду в результате антропогенного загрязнения среды, включаясь в пищевые сети, могут оказывать негативное действие на пищеварительные ферменты, функционирующие в полости желудочно-кишечного тракта и на структурах щеточной каймы эпителиоцитов. Поступление таких металлов, как цинк и медь в эпителий кишечника является пассивным процессом, причем лимитирующим фактором является их экстрюзия через базолатеральные мембраны [8]. Вследствие этого на структурах щеточной каймы эпителиоцитов может быть сосредоточено значительное количество металлов, способных модифицировать активность пищеварительных гидролаз. Ранее было показано, что в условиях *in vitro* у пресноводных костистых рыб цинк и медь могут вызывать значительное снижение уровня активности пептидаз пищеварительного тракта. При этом степень их воздействия на ферменты, функционирующие в желудке и кишечнике, различна. Цинк и медь (0.1–50 мг/л) в зоне pH 2.0–3.0 лишь незначительно снижают активность пептидаз слизистой оболочки желудка. У большинства видов (щука *Esox lucius*, судак *Zander luciperca*, налим *Lota lota*) торможение не превышает 10–20% [1].

Влияние металлов на активность пептидаз слизистой кишечника, независимо от таксономической принадлежности вида, как правило, выражено сильнее, чем на активность пептидаз желудка. Активность казеинлитических пептидаз слизистой кишечника у ихтиофагов в присутствии максимальной концентрации цинка в зависимости от вида снижается на 30-90% в присутствии цинка и на 35-95% в присутствии меди. У бентофагов (каarp *Cyprinus carpio*, лещ *Abramis brama*, плотва *Rutilus rutilus*, карась *Carassius carassius*) активность казеинлитических пептидаз снижается на 20–70 и 45–90% в присутствии цинка и меди соответственно. Активность гемоглобинлитических пептидаз у ихтиофагов в присутствии цинка снижается на 50–60%, меди – на 60–80, у бентофагов в первом случае уменьшается на 50-60, во втором – на 70–100 [1]. Кроме того, в присутствии металлов существенно изменяется форма кривой температурной зависимости пептидаз – снижается величина температурного оптимума и относительная активность, особенно в зоне постмаксимальных температур [3]. Сведения о влиянии гормонов и освещенности на эффекты металлов отсутствуют.

Цель работы – сопоставить эффекты металлов на активность пептидаз слизистой кишечника карпа в условиях *in vitro* и *in vivo*, а также выявить влияние на них внешних (освещенность) и внутренних (серотонин) факторов.

Проведено три серии экспериментов. Объект исследования – молодь карпа *Cyprinus carpio* L. В 1-й серии опытов масса рыб соответствовала 40 ± 6 г, во 2-й – 9.2 ± 0.4 , в 3-й – 9.1 ± 0.7 . Условия опыта, используемые в 1-й серии (*in vitro*), и метод определения активности пептидаз, подробно описаны ранее [1]. Во 2-й серии опытов (*in vivo*) рыбы, разделенные на 7 групп по 5 экз. в каждой (1 контроль и 6 экспериментальных групп), получали корм (5% от массы тела), содержащий сернокислый цинк или сернокислую медь ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ или $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) в концентрации 10, 50, 100 или 200 мг/кг. Активность пептидаз определяли через 5 ч после кормления. В 3-й серии, как и в 1-й, за две недели до начала опытов в два аквариума вносили по 1 мкмоль сернокислого цинка ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), в два других – 1 мкмоль сернокислой меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) в расчете на металл. Для поддержания концентрации металлов растворы сернокислого цинка добавлялись в аквариумы 2 раза в неделю, сернокислой меди – ежедневно. Освещенность на поверхности воды соответствовала 405 лк (свет) и 0.08 лк (темнота). Режим освещения рыб контрольной группы соответствовал 6:18, опытной группы – 0:24. Всем рыбам за 3 ч до опытов внутривенно вводили 0.1 мл гидрохлорида серотонина фирмы Sigma Aldrich, USA, в дозе 10 мкг/г массы тела, приготовленного на растворе Рингера (109 мМ NaCl, 1.9 мМ KCl, 1.1 мМ CaCl₂, 1.2 мМ NaHCO₃). Данные обработаны статистически с использованием приложения EXCEL программы MS Office XP. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента для малых выборок при $p \leq 0.05$.

Данные, касающиеся казеинлитической активности слизистой оболочки кишечника карпа, свидетельствуют о последовательном увеличении степени воздействия цинка и, особенно, меди на уровень ферментативной активности (табл. 1). Негативное влияние меди на уровень казеинлитической активности выше по сравнению с таковым цинка при минимальной концентрации металлов в 1.1 раза, при максимальной – в 3.4 раза.

Таблица 1. Влияние цинка и меди на казеинлитическую активность слизистой оболочки кишечника карпа, pH 7.4

Металл	Активность пептидаз в присутствии металлов*					
	0	0.1	1	10	25	50
Цинк	4.59 ± 0.14 100	3.41 ± 0.07 74.2	3.54 ± 0.07 77.1	2.78 ± 0.52 60.5	1.74 ± 0.17 37.9	1.31 ± 0.21 28.5
Медь	5.91 ± 0.14 100	4.10 ± 0.14 69.3	3.51 ± 0.21 59.3	1.67 ± 0.20 28.2	0.66 ± 0.24 11.1	0.50 ± 0.44 8.4

Примечания: * – концентрация металла, мг/л; над чертой – активность пептидаз, мкмоль/г·мин, под чертой – % контроля, принятого за 100. Жирным шрифтом выделены достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.05$.

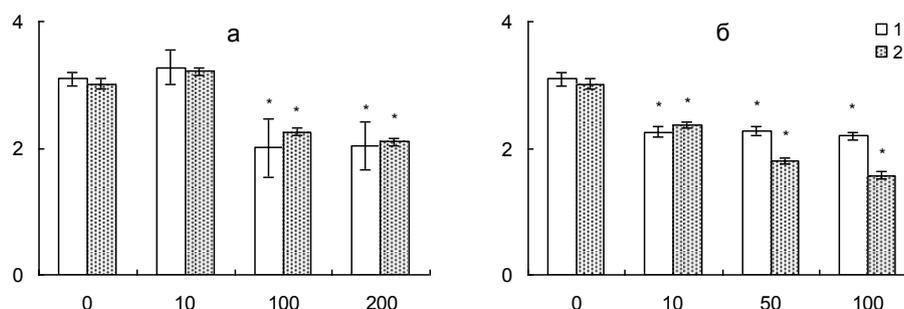


Рис. 1. Влияние цинка и меди, поступающих с пищей, на активность пептидаз (1) слизистой оболочки кишечника и (2) химуса, pH 7.4; а – цинк, б – медь.

При поступлении металлов с пищей активность казеинлитических пептидаз химуса и слизистой кишечника рыб также под влиянием ионов цинка снижается в меньшей степени, чем под влиянием ионов меди (рис. 1).

Важно отметить, что у рыб, получавших пищу, содержащую металлы в концентрации 10 мг/кг, в случае цинка активность пептидаз слизистой и химуса недостоверно повышается относительно контроля, в случае меди – достоверно снижается. При увеличении дозы цинка от 100 до 200 мг/кг активность пептидаз слизистой и химуса достоверно уменьшается. Под влиянием ионов меди активность пептидаз слизистой снижается даже под воздействием минимальной концентрации (10 мг/кг). Степень снижения активности пептидаз слизистой у рыб, получавших пищу, содержащую медь во всех исследованных концентрациях, близка. Активность пептидаз химуса последовательно снижается по мере увеличения концентрации металла.

Сопоставление результатов 1-ой и 2-ой серий опытов свидетельствует о том, что в условиях *in vivo* металлы снижают уровень пептидаз в значительно больших концентрациях, чем в условиях *in vitro*.

Результаты 3-ей серии опытов показали, что активность пептидаз слизистой оболочки кишечника рыб, инъецированных 5-НТ и содержащихся в условиях переменной освещенности, в присутствии ионов меди в 5.8 раза ниже таковой в присутствии ионов цинка, химуса – лишь в 2.7 раза (рис. 2).

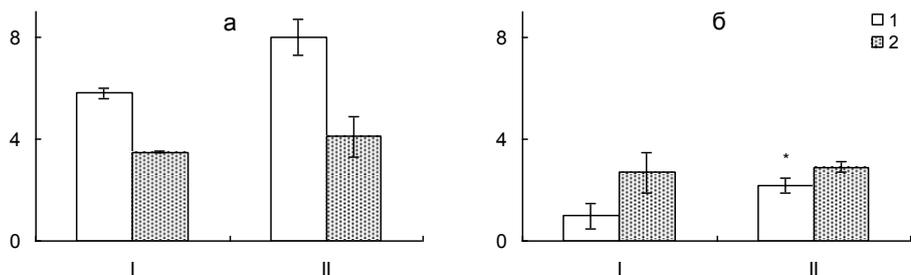


Рис. 2. Влияние серотонина, цинка (а) и меди (б) на активность пептидаз слизистой оболочки кишечника (1) и химуса (2) карпа в условиях световой депривации. I – режим освещенности 6:18 ч (контроль) II – 0:24 (опыт).

Данные, касающиеся сопоставления эффектов металлов, близки приведенным выше результатам. Действительно, в присутствии ионов цинка активность пептидаз слизистой и химуса в опыте и контроле выше, чем в присутствии меди. Особого внимания заслуживает неожиданное увеличение активности ферментов слизистой и в меньшей степени химуса в условиях световой депривации. В этих условиях под влиянием 5-НТ активность пептидаз слизистой в присутствии ионов цинка повышается в 1.4, меди – в 2.2 раза, химуса – в 1.2 и 1.1 раза соответственно. Важно отметить, что активность пептидаз слизистой увеличивается в большей степени, чем химуса.

Как известно, для нормальной жизнедеятельности рыбам рекомендуется потреблять 15–40 мг цинка и 1–9 мг меди на килограмм сухого корма [4, 6]. Однако залповые сбросы этих металлов, а также их смыв с поверхности земли водой, приводит к локальному увеличению их концентрации в водоемах, а в условиях аквакультуры – в результате использования кормов, включающих продукты микробосинтеза: гапсин содержит до 300 мг/кг меди, в папсин – до 480 мг/кг цинка [4]. Значительное снижение активности пептидаз в условиях *in vitro* в присутствии металлов может быть обусловлено их связыванием с регуляторными центрами ферментов, что вызывает изменение их конформации.

Важно отметить, что в опытах *in vivo* активность пептидаз снижалась в меньшей степени, чем в опытах *in vitro*. В присутствии меди в концентрации 50 мг/л в условиях *in vivo* активность пептидаз слизистой снижалась на 26.5%. В опытах *in vitro* при той же концентрации меди активность пептидаз слизистой снижалась на 91.6%.

По всей вероятности, наблюдаемое явление связано с тем, что поступающие в пищеварительный тракт активные ионные формы металлов могут избирательно связываться с аминокислотами и белками, находящимися в энтеральной среде. Особого внимания заслуживает тот факт, что гистидин, цистеин и таурин способствуют повышенной аккумуляции цинка в форме хелатирующего комплекса в зоне щеточной каймы энтероцитов, причем цистеин способствует абсорбции металла [7]. При этом возможно увеличение концентрации металлотионеинов (низкомолекулярных термостабильных белков, отличающихся большим содержанием цистеина), участвующих в детоксикации и выведении металлов из организма [2].

Важно обратить внимание на то, что и в острых, и в хронических опытах активность пептидаз под влиянием ионов цинка снижается в меньшей степени, чем под влиянием ионов меди. Это связано с тем, что индукцию синтеза металлотионеинов вызывает поступление в организм металлов, а индуцирующая способность у цинка выше, чем у меди. При этом содержание металлотионеинов в печени увеличивается лишь при относительно высокой концентрации металлов. Анализ полученных данных затрудняет то обстоятельство, что высвобождение металлов, поступающих с пищей, а также их переход в активное состояние происходит постепенно в процессе переваривания рыбой пищи. При этом высвобождающиеся из пищи ионные формы металлов могут связываться с аминокислотами и белками. Также осложняет оценку реального содержания тяжелых металлов в полости кишечника разная скорость их рециклинга [см. 3].

Также важно подчеркнуть, что в течение первых 24 ч после внутрибрюшинного введения 5-НТ наблюдается достоверное снижение уровня активности пептидаз по сравнению с интактными рыбами. При этом активность пептидаз после введения гормона возвращалась к норме через 3 ч. В последующие сроки наблюдения колебательный цикл растягивался на несколько суток [9]. Быстрое изменение ферментативной активности в первые часы опыта было объяснено влиянием 5-НТ на гладкую мускулатуру, ответственную за сокращение и расслабление панкреатических протоков и сосудов. Также было высказано предположение, что введенный 5-НТ влияет на синтез и транзит ферментов преимущественно через метасимпатическую нервную систему. Данные, касающиеся сочетанного действия металлов и световой депривации, оказались неожиданными. Предполагалось, что при сочетанном действии на рыб 5-НТ и металлов в условиях световой депривации активность пептидаз будет снижаться. Ослабление эффектов металлов в условиях световой депривации, по всей вероятности, обусловлено уменьшением концентрации 5-НТ в результате синтеза из него мелатонина [5]. Следовательно, влияние 5-НТ на активность пищеварительных гидролаз кишечника рыб в значительной мере зависит от параметров окружающей среды. При этом в условиях длительной световой депривации ингибирующий эффект 5-НТ на активность пептидаз при наличии в воде или корме ионов цинка и меди может изменяться на стимулирующий. Последнее способствует увеличению эффективности питания рыб. Следовательно, перемещение рыб в зоны меньшей освещенности может быть связано не только с защитой от хищников, но и с улучшением условий переваривания пищи.

Список литературы

1. Кузьмина В.В., Шишин М.М., Корюкаева Н.В., Наумова М.А., Ботязова О.А. Влияние цинка и меди на активность протеиназ пищеварительного тракта у ряда видов пресноводных костистых рыб // Биол. внутр. вод. 2005. №4. С. 102–109.
2. Коновалов Ю.Д. 2001. Реакция белоксинтезирующей системы рыб на наличие в их организме катионов ртути, кадмия, меди и цинка // Гидробиол. ж. Т. 37. № 1. С. 95–105.
3. Кузьмина В.В. Физиология питания рыб. Влияние внешних и внутренних факторов. Борок: Изд-во ИБВВ РАН. 2008. 276 с.
4. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. СПб.: Гос.НИИ озер. и реч. рыб. хоз-ва, 2001. 372 с.
5. Чернышева М.П. Гормоны животных // Введение в физиологическую эндокринологию. 1995. СПб.: «Глаголь». 296 с.
6. Bury N. R., Walker P. A., Glover Ch. N. 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish // J. Exp. Biol. 206. P. 11–23.
7. Glover C. N., Hogstrand C. 2002. Amino acid modulation of in vivo intestinal zinc absorption in freshwater rainbow trout. J. Exp. Biol. V. 205. P. 151–158.
8. Handy R. D., Musonda M. M., Phillips C., Falla S. J. 2000. Mechanisms of gastrointestinal copper absorption in the African walking catfish: copper dose-effects and a novel anion-dependent pathway in the intestine // J. Exp Biol. V. 203. P. 2365–2377.
9. Kuz'mina V.V. Effect of serotonin on exotrophy processes in fish // New Developments in Serotonin Research. Hauppauge, USA: Nova Science Publishers, INC. Ch 5. 2015. P. 89–122.

ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Р.А. Ложкина, И.И. Томила, М.В. Гапеева, В.Т. Комов, Е.В. Щедрова

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742, пос. Борок, Россия, Lozhkina.roza@yandex.ru*

Дана эколого-токсикологическая характеристика Рыбинского водохранилища. Проведена оценка токсичности воды и донных отложений методами биотестирования. Определены уровни содержания металлов и редкоземельных элементов в воде, донных отложениях на отдельных участках Рыбинского водохранилища. Определены уровни содержания ртути в мышцах леща *Abramis brama* L. из различных плёсов водохранилища.

Загрязнение природных водоемов в настоящее время является актуальной проблемой. Среди широкого спектра загрязняющих веществ, металлы (в первую очередь тяжелые (ТМ)) относятся к числу важнейших. В значительной мере это связано с биологической активностью многих из них. Источники поступления этих веществ в водоемы весьма разнообразны, но основными принято считать предприятия металлургического и горнодобывающего комплекса.

Рыбинское водохранилище с момента его образования и по настоящее время подвергается антропогенному загрязнению ТМ, потенциальные пути поступления которых – сточные воды, атмосферный перенос, сток с водосборной территории и сток впадающих в него рек. Основной источник локального поступления металлов – коммунально-промышленный комплекс г. Череповца, расположенного в северной части Шекснинского плеса водохранилища. Рыбинское водохранилище, как водоём многоцелевого использования, служит источником водоснабжения и имеет рыбохозяйственное и рекреационное значение. Поэтому оценка качества элементов экосистемы водохранилища имеет важное значение как для населяющих его гидробионтов, так и для человека.

Для полноценного эколого-токсикологического мониторинга необходимо учитывать степень загрязнения водной экосистемы в целом и взаимосвязанных ее подсистем: воды, донных отложений (ДО) и гидробионтов. Общий уровень загрязненности водоема определяется взаимно обусловленными процессами: 1) масштабами и составом поступающих в него загрязнений; 2) взаимодействием воды и ДО; 3) миграцией и трансформацией токсикантов в сообществах водоема, включая процессы накопления в гидробионтах [1].

Отбор проб воды и ДО проводили с 1983 по 2015 гг. Пробы воды (интегральная) отбирали батометром Рутнера, грунта – модифицированным дночерпателем Экмана-Берджи (ДАК-250) с площадью захвата 1/40 м². Для исследования токсичности и содержания загрязняющих веществ использовали интегральную пробу верхнего слоя грунта (0–10 см), отобранную на каждой станции за 3 подъема.

Анализ химических элементов, включая ТМ (за исключением ртути) и редкоземельные элементы (РЗЭ), в природной воде и ДО проводили на масс-спектрофотометре ICP-MSDRС-е с индуктивно связанной плазмой (PerkinElmer, USA) с использованием внешней калибровки. Содержание ртути (Hg) в мышцах леща *Abramis brama* L. и ДО, отобранных в августе 2016 г., определяли методом беспламенной атомной абсорбции на анализаторе ртути РА-915+ с пиролитической приставкой ПИРО-915+ (ООО “ЛЮМЕКС”, г. Санкт-Петербург).

Токсичность воды и ДО оценивали методом биотестирования с использованием ветвистого рачка *Ceriodaphnia dubia (affinis)* (вода и водная вытяжка ДО (ВВДО)) и личинок комара-звонца *Chironomus riparius* Meigen (ДО).

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ($x \pm SE$). Концентрации элементов в ДО приведены в мкг/г сухой массы, воды – мкг/л, ртути в мышцах – мг/кг сырой массы. Достоверность различий оценивали методом однофакторного и множественного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при уровне значимости $p \leq 0.05$ [2].

Установить прямую зависимость между содержанием загрязняющих веществ в среде и ее пригодностью для обитания живых организмов удается не всегда. Среда может быть сильнозагрязненной, но нетоксичной или слаботоксичной и, наоборот, слабозагрязненной, но сильнотоксичной. Токсическое действие одних компонентов может быть нейтрализовано или усилено присутствием других, поэтому необходимо оценивать интегральную токсичность всего комплекса загрязняющих веществ, содержащегося в исследуемой среде.

Результаты биотестирования воды по показателю выживаемости цериодафний во всех исследуемых пробах свидетельствуют об отсутствии острого токсического действия за период наблюдений с 2008 по 2015 гг. Средняя по плесам плодовитость рачков (количество отрожденной молодежи на 1 самку) при биотестировании воды водохранилища, как правило, не достигала контрольных показателей (рис. 1). Исключение составили 2011 и 2015 гг., когда плодовитость в опыте была выше контрольной. Возможно, это зависело от набора обследованных станций, времени года, развития фитопланктона и наличия органического загрязнения неантропогенного происхождения. Увеличение плодовитости более чем на 20% также может свидетельствовать о проявлении токсического эффекта. Отметим, что полученные в опыте результаты могут не соответствовать закономерностям развития популяции в природной среде, где на нее влияют биотические и абиотические факторы.

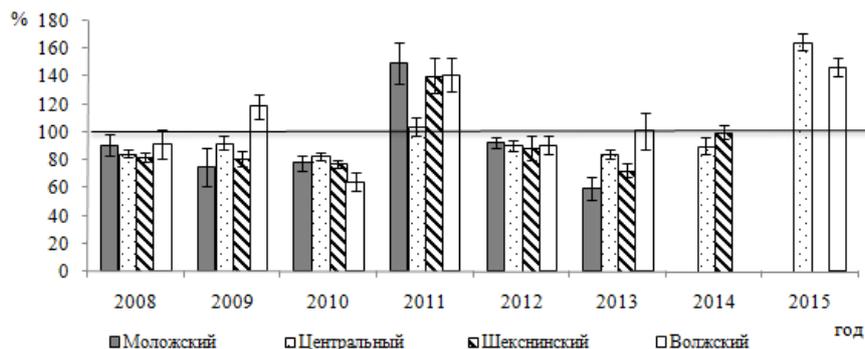


Рис. 1. Плодовитость *Ceriodaphnia dubia (affinis)* в воде из плёсов Рыбинского водохранилища. По оси Y – среднее количество молодежи на 1 самку за 7 сут, % контроля; контроль представлен в виде горизонтальной прямой.

При биотестировании ВВДО за весь период наблюдений 2008–2015 гг. не зарегистрировано острой токсичности ни на одной из станций. Достоверное относительно контроля повышение смертности рачков наблюдали на отдельных станциях (Любец, устье р. Серовка, Городок, Всехсвятское) в разные периоды наблюдений при хроническом тестировании. Усредненные по плесам значения плодовитости рачков были достоверно ниже контрольных показателей для всех плесов в 2008–2010 и 2012–2015 гг. Как и в тестах с водой, исключение составил 2011 г. Среднее количество молодежи, отрожденное 1 самкой, между плесами достоверно не отличалось, за исключением 2009 г.

Линейные размеры личинок *Chironomus riparius* при биотестировании ДО варьировали из года в год (рис. 2.). В 2008 г. в опытах с ДО Моложского плеса личинки были достоверно мельче контрольных, а с ДО остальных плесов – крупнее. В 2009 г. наблюдали значимое увеличение линейных размеров хирономид при тестировании ДО всех плесов водохранилища, а в 2010–2015 гг. – снижение данного показателя, за исключением 2014 г. При экспонировании личинок хирономид на ДО Центрального плеса длина личинок достоверно больше контрольных значений.

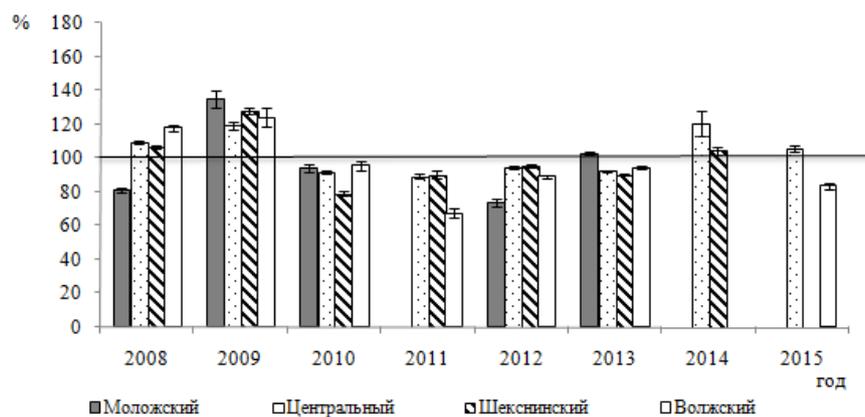


Рис. 2. Длина личинок *Chironomus riparius* при биотестировании цельных донных отложений. По оси Y – средняя длина личинок % контроля; контроль на рисунке представлен в виде горизонтальной прямой.

Распределение химических элементов в воде по акватории Рыбинского водохранилища неравномерное. Исследования последних лет выявили высокие концентрации Cu и Zn в воде (в среднем 4.3–30.2, 6.5–17.8 мкг/л, соответственно). Максимальные концентрации данных элементов зарегистрированы на станциях Центрального плеса: Брейтово, Молога, Измайлово, Волково, Средний Двор.

Величины средних концентрации La и Ce в пробах воды, отобранных в 2009 г., соответствовали данным для Европейской территории России [3], а в 2010 г. – превышали их в Центральном и, в особенности, Шекснинском плесах. Распределение концентраций La и Ce в воде по акватории показывает, что РЗЭ поступают в водоем, в основном, с водами р. Кошта, принимающей стоки г. Череповец.

ДО Рыбинского водохранилища за все годы наблюдений не отвечали стандартам, принятым в европейских странах: зарегистрировано превышение концентраций Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn [4]. Максимальная кратность превышения составила для Cd – 5.8, Cr – 1.94, Cu – 2.2, Pb – 1.4 и Zn – 3.6 раз. При сравнении установленных концентраций металлов с менее строгими нормативами, принятыми в США, выявлены более высокие концентрации Cd и Zn [5].

Анализ распределения ТМ в ДО, отобранных на различных плесах Рыбинского водохранилища в 2014–2015 г. показал, что оно неравномерно. В Шекснинском плесе в 2014 г. отмечены повышенные уровни содержания Pb, Cr, Cu и Zn, что связано с четкой локализацией высоких концентраций Pb и Cr в ДО участка Шекснинского плеса, находящегося под непосредственным воздействием Череповецкого промышленного узла. Превышение допустимых концентраций Cd и Zn в 11.8, Cu – 6.5, Pb – 2.7 раз наблюдали и в 1996 г. на станциях, расположенных в непосредственной близости от места поступления стоков Череповецкого металлургического комбината [6].

В Центральном и Волжском плесах выявлено высокое содержание Ni, в то время как в Шекснинском плесе среднее содержание Ni не превышает нормативов, установленных в Бельгии. Высокие концентрации Cr и Cu зарегистрированы практически на всех исследуемых станциях Рыбинского водохранилища, за исключением станций Центрального плеса (Наволоки и Измайлово), Волжского: по Cr – Мышкин и Крутец, по Cu – Еремейцево и Крутец. Низкое содержание ТМ на станциях Наволоки и Измайлово может быть связано с отсутствием или низким содержанием торфянистых частиц, участвующих в аккумуляции ТМ. В Рыбинском водохранилище вариации концентраций ТМ в ДО в значительной степени объясняются распределением торфянистых частиц [7]. В районе станций Измайлово и Наволоки тип грунта глинисто-песчаный, на остальных станциях – торфянистый ил.

Известно, что рыбы способны аккумулировать различные токсиканты, в том числе и ТМ, даже в тех случаях, когда содержание их в водной среде не превышает установленных предельно допустимых норм [8]. Содержание ТМ в мышцах леща *Abramis brama* определяли в 1987–1989 гг. В 1987 отмечено превышение федеральных нормативов содержания Ni, Pb, Cd и Cr, что связано с загрязнением водохранилища после аварии на Череповецком металлургическом комбинате зимой 1986–1987 гг. В 1988–1989 гг. превышения среднего содержания ТМ в мышцах рыб санитарно-гигиенических нормативов не обнаружено.

Максимальное содержание ртути в 2016 г. зарегистрировано для ДО Шекснинского плеса. Высокие концентрации ртути обнаружены в мышцах леща, выловленного в Моложском плесе, тогда как в этом же плесе зарегистрировано минимальное содержание ртути в ДО (табл.). Вероятно, повышенное накопление ртути в мышцах леща, выловленного в Моложском плесе, связано с более высокой цветностью воды и низкими значениями pH, по сравнению с другими исследуемыми плесами. Стоит отметить, что содержание Hg в мышцах леща не превышало 0.3 мг/кг [9] ни на одном из плесов.

Таблица. Содержание ртути в исследованных образцах, август 2016 г.

Среднее содержание валовой ртути, мкг/г	Плес Рыбинского водохранилища			
	Моложский	Центральный	Волжский	Шекснинский
ДО	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.12 ± 0.04	0.19 ± 0.03
Мышцы леща	0.08 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01

Таким образом, проведенная оценка эколого-токсикологического состояния воды и ДО Рыбинского водохранилища с комбинированным использованием методов биотестирования и аналитической химии показала, что загрязнение воды и ДО носит локальный характер. Зоны высокой токсичности сконцентрированы вблизи городов и промышленных центров. Степень токсичности зависит не только от количества поступающих в воду и аккумулирующихся в ДО веществ, но и от физико-химических условий водоема. Вероятно, в Моложском плесе физико-химические условия среды способствуют большей биологической доступности загрязняющих веществ.

Список литературы

1. Брагинский Л.П. Некоторые принципы классификации пресноводных экосистем по уровням токсического загрязнения // Гидробиол. журн. 1985. Т. 1. № 8. С. 65–74.
2. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY.: W.H. Freeman and Co, 1995. 887 p.
3. Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашкина Н.А. Рассеянные элементы в поверхностных водах суши. М., Наука. 2006. 61 с.
4. Deckere E., Cooman W., Florus, M. et al. Characterizing the sediments of Flemish Watercourses: a Manual produced by TRIAD // Brussel: AMINAL-Department Water.2000. 110 p.

5. MacDonald D.D., Ingersoll C.G., Berger T.O. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems // Arch. of Environment. Contam. and Toxicol. 2000. V. 39. P. 20–31.
6. Флеров Б.А., Томилина И.И., Кливеленд Л., Баканов А.И., Гапеева М.В. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища // Биол.внутр.вод. 2000, N, с. 148–155.
7. Законнов В.В. Осадкообразование в водохранилищах Волжского каскада. Автореферат на соискание ученой степени доктора географических наук. М. 2007. 39 с.
8. Мур Д., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах: Контроль и оценка влияния. 1987. М.: Мир. 88 с.
9. СанПиН 3.2.1078-01. Предельно допустимые концентрации (ПДК) тяжелых металлов и мышьяка в продовольственном сырье и пищевых продуктах. М., 2001. 18 с.

РАДУЖНАЯ ФОРЕЛЬ КАК БИОИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ВОДОЕМА

В. И. Лошенко, Т. А. Шнайдер, Д. А. Копылов

*Новосибирский государственный педагогический университет
630126, г. Новосибирск, Россия, vitalina_loshenk@mail.ru*

В данном исследовании проведен цитологический анализ клеток крови радужной форели, выращенной в карьере по добыче песка гидронамывным способом. Установлены признаки токсического повреждения эритроцитов.

Город Новосибирск является крупным индустриальным центром с высоко развитой строительной инфраструктурой [3]. Возрастающий спрос на строительные материалы диктует необходимость все более активной добычи полезных ископаемых. Песок является одним из наиболее востребованных видов сырья при строительстве дорог и добывается в карьерах как открытым, так и подводным способом [2]. В настоящее время гидронамыв песка при котором происходит его извлечение со дна естественных или искусственных водоемов является преобладающим методом добычи данного ресурса в Новосибирской области. В условиях равнинного рельефа Западной Сибири при добыче песка гидромеханическим методом образуются карьеры, которые в течение короткого времени заполняются водой естественным способом или специально в целях рыбохозяйственного назначения. Таким образом, на разрабатываемой территории коренным образом изменяется природный ландшафт. В литературе имеются сведения о том, что искусственно созданная система способствует увеличению биоразнообразия на антропогенно деформированных территориях, не несет опасности для гидробионтов и вполне может использоваться для организации товарного рыбоводства или спортивного рыболовства. В последние годы мнения экспертов по данному вопросу существенно разделяются и ставят под сомнение данное высказывание. Изучение влияния среды обитания на состояние организма радужной форели, выращиваемой в садках на участке карьера по добыче песка гидромеханическим методом, определила актуальность настоящего исследования.

Исследования производили на особях радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в возрасте 1-го года без разделения по половому признаку ($n=30$). Для проведения светооптических исследований образцы крови забирала из хвостовой вены в стерильные гепаринизированные пробирки. Мазки крови фиксировали в 96 % этаноле в течение 10 мин и окрашивали по Май-Грюнвальду – 5 мин. Изучение полученных препаратов проводилось в проходящем свете с помощью микроскопа ImagerM2 фирмы Carl Zeiss с встроенной CCD-камерой AxioCam HRC (Германия). Для изучения ультраструктуры клеток последние фиксировали в 4% растворе параформа (рН 7.3–7.4), и после центрифугирования осадок проводили по стандартной методике. Ультратонкие срезы (50–60 нм) изготавливали на ультрамикротоме EM UC7 фирмы Leica (Германия) и изучали в просвечивающем электронном микроскопе высокого разрешения JEM 1400 фирмы Jeol (Япония). С помощью встроенной в микроскоп JEM 1400 цифровой фотокамеры Veleta фирмы SIS (Германия) получали электронограммы с обозначением масштабной линейки.

Выбор радужной форели для изучения влияния действующего производства по добыче песка гидронамывным способом на организм гидробионтов основывался на особенностях биологии данного вида. В природе рыбы изучаемого вида обитают исключительно в водоемах с чистой по гидрохимическим показателям среде с оптимумом температуры воды в пределах $15 \pm 2^\circ\text{C}$ [1]. С нашей точки зрения гидромеханическое извлечение песка со дна может приводить к окислению на воздухе ионов металлов в составе минеральных компонентов грунта, повышать их биодоступность с последующим токсическим воздействием на организм.

Кровь является наиболее чувствительной системой, реагирующей на любые колебания гомеостаза, что послужило основанием для проведения цитологического анализа мазков крови. На препаратах достаточно четко идентифицируются клетки эритроцитарного, лейкоцитарного, моноцитарного и тромбоцитарного ряда (рис.1 А, Б). При анализе мазков крови установлено, что более 90 % эритроцитов характеризуются снижением оптической плотности цитоплазмы (рис. 1 В). Данный признак может свидетельствовать о развитии гипохромной анемии и нарушении оксигенации крови. Характерным признаком эритроцитов является кариолизис различной степени и глубокие повреждения цитоплазмы, проявляющиеся в появлении оптически прозрачных участков преимущественно округлой формы. Наличие оптически прозрачных вакуолей в цитоплазме эритроцитов явилось основанием для проведения дифференциального анализа на содержание паразитов крови- гематогарин. Для этого было проведено ультраструктурное исследование клеток крови. На рисунке 1 Г представлена электронограмма эритроцита, которая позволяет заключить о несоответствии обнаруженных оптически про-

зрачных участков округлой формы в цитоплазме эритроцитов на светооптическом уровне с наличием паразитов на уровне ультраструктуры.

Кроме нарушения структурных характеристик эритроцитов типичным признаком являлось увеличение в крови против нормы содержания незрелых форм эритроцитов. С нашей точки зрения преобладание среди клеток эритроцитарного ростка базофильных нормобластов может являться отражением адаптивного усиления эритропоэза. Предшествующий опыт полевых исследований крови рыб, добытых в акваториях водоемов с превышением содержания катионов металлов в поверхностных водах дает все основания считать, что обнаруженные изменения в клетках эритроцитарного ростка с большой долей вероятности обусловлены токсическим повреждением ионами металлов.

В поле зрения препаратов практически все полиморфноядерные лейкоциты имеют признаки высокой функциональной активности (рис. 1 Б). Нейтрофилы гигантских размеров и в их цитоплазме заметны многочисленные оптически прозрачные вакуоли. Считается, что их ультраструктурным эквивалентом являются специфические секреторные гранулы, содержащие ферменты, обеспечивающие деградацию всех классов органических соединений. Как известно, увеличение размеров нейтрофилов может происходить при их антигенной стимуляции. В этой связи наличие прозрачных вакуолей может указывать на дефицит синтеза нейтрофилами ферментов вследствие перенапряжения их синтетической активности. Именно этим можно объяснить снижение оптической плотности специфических гранул у данных клеток. Следует отметить, что из всех видов клеток крови лишь тромбоциты не имеют явных признаков повреждения (рис. 1 А).

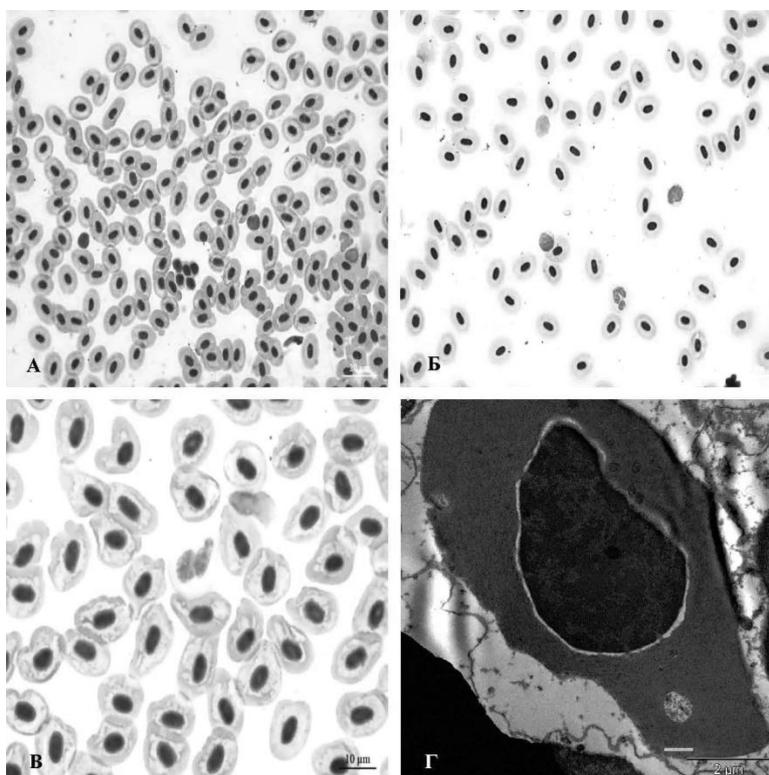


Рис. 1. Форменные элементы крови радужной форели. Окрашивание по Май-Грюнвальду.

Таким образом, цитологический анализ мазков крови радужной форели позволяет сделать вывод о том, что при выращивании рыб в акватории, где производится добыча песка, происходит перманентное поступление в их организм и других гидробионтов сублетальных концентраций веществ, вероятно катионов металлов. Несмотря на то, что признаков острого токсического отравления рыб не наблюдается, происходит адаптивное изменение гематологических показателей. Безусловно, что во временном аспекте адаптивные изменения имеют определенные пределы. Однозначно можно лишь утверждать, что в условиях антропогенной деформации территорий возникают причинно-следственные отношения, которые требуют глубокой и всесторонней оценки специалистов. В качестве биоиндикаторного вида рыб может быть рекомендован высокочувствительный к гидрхимическим параметрам среды обитания организм радужной форели.

Список литературы

1. Голованов В.К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях // *Вопр. ихтиол.* 2013. Т. 53. № 3. С. 286–314. DOI: <http://dx.doi.org/10.7868/S0042875213030016>.
2. Гребенюк Г.Н., Чернявский Е.А., Луговской А.М. Геоэкологическая оценка модифицированных геосистем карьеров по добыче строительных материалов Западной Сибири // *Фундаментальные исследования*. 2012. № 11–3. С. 538–543.
3. Лошенко В.И. Решение региональных проблем водной экологии // *Вестн. Новосиб. гос. педагог. универ.* 2014. № 2 (18). С. 188–195. DOI: <http://dx.doi.org/10.15293/2226-3365.1402.17>.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ПРЕСНОВОДНЫХ АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTRIS* И *GMELENOIDES FASCIATUS* ИЗ ОТДАЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Ю. А. Лубяга^{1,3}, М. С. Трифонова², К. П. Верещагина^{1,3}, Е. С. Кондратьева¹,
Ж. М. Шатилина^{1,3}, Д. В. Аксенов-Грибанов¹, Е. С. Задереев⁴, А. Н. Гурков^{1,3}, М. А. Тимофеев¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»
г. Иркутск, Россия, yuliya.a.lubyaga@gmail.com

² Институт озероведения РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

³ Байкальский исследовательский центр, г. Иркутск, Россия

⁴ Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, Россия

Целью данного исследования являлась сравнительная оценка выживаемости и выявление особенностей энергетического метаболизма в условиях постепенного изменения температуры среды у отдаленных популяций *Gmelinoides fasciatus* и *Gammarus lacustris*. В работе показаны различия в стратегиях биохимических адаптаций у представителей исследуемых видов амфипод. Данные особенности, вероятно, сформировались при расселении видов в новые ареалы с различной минерализацией и температурным режимом.

Среда обитания большинства живых организмов характеризуется нестабильностью абиотических условий, в результате чего в течение жизни организмы сталкиваются с воздействием стрессов различной природы. В ответ на стрессовые воздействия активизируются защитные механизмы, выработанные организмами в процессе эволюции [1, 2]. Однако закономерности, определяющие способность вида к стресс-адаптации в настоящий момент недостаточно ясны, поскольку в основе устойчивости организмов к изменяющимся факторам среды лежит комплекс неспецифических реакций на клеточном и молекулярном уровнях [3]. По-видимому, именно различия в скорости и степени активации данных реакций в значительной степени определяют степень резистентности организмов. Целью данного исследования являлась сравнительная оценка выживаемости и выявление особенностей энергетического метаболизма в условиях постепенного изменения температуры среды у *Gmelinoides fasciatus* и *Gammarus lacustris* из отдаленных популяций.

Объектами данного исследования были выбраны байкальский вид амфипод *Gmelinoides fasciatus* (Stebb., 1899) и Голарктический вид *Gammarus lacustris* Sars (1864). В работе использовали представителей *Gmelinoides fasciatus* из трёх популяций: обитающих в литорали оз. Байкал (минерализация 0.120 ‰), Ладожском озере (0.064 ‰), и Финском заливе (0.185 ‰). Голарктический вид представлен *G. lacustris* из двух популяций: обитателей оз. Ши́ра в республике Хакасия (11–15 ‰) и мелководного озера Прибайкальского региона, расположенное в черте г. Иркутска в непосредственной близости к р. Ангара (0.5 ‰).

В ходе исследования, после акклиматизации ракообразных к лабораторным условиям при температуре 6–7°C проводили экспозицию амфипод в условиях постепенного повышения температуры со скоростью 1°C/ч. Повышение температуры проводили от температуры акклиматизации до температуры, при которой гибли 100 % особей. После эксперимента рачков фиксировали в жидком азоте и проводили дальнейшие биохимические анализы. Для оценки влияния изменения температуры среды на показатели энергетического метаболизма, в замороженных амфиподах определяли изменение содержания энергетических метаболитов аэробного и анаэробного обмена – глюкозы, гликогена и лактата.

Для представителей вида *Gmelinoides fasciatus*, было показано, что амфиподы из Ладожского озера являются более чувствительными к повышению температуры. Так, гибель 100 % амфипод из этой популяции отмечали при достижении 31.5°C, в то время как у амфипод из оз. Байкал и Финского залива гибель отмечали при 32.5°C и 34°C соответственно. Показано, что представители *Gammarus lacustris* из пресного водоема также являются более термочувствительными, поскольку у них наблюдали высокую смертность по сравнению с представителями вида из солоноводного оз. Ши́ра. Так, смертность 100 % особей *Gammarus lacustris* из пресноводной популяции наступала при температуре 31°C, тогда как у амфипод из солоноводной популяции эта температура была выше, и составила 33°C.

Были получены результаты, показывающие, что у представителей *Gmelinoides fasciatus* из всех исследуемых популяций базовые уровни содержания глюкозы были сходными, однако отмечали различия в максимальных уровнях накопления свободной глюкозы у амфипод из разных водоемов при экспозиции в условиях постепенной гипертермии. Так, у *G. fasciatus* из Финского залива максимальный уровень накопления глюкозы при повышении температуры оказался в 2 раза выше, чем у представителей двух других исследуемых популяций. В условиях гипертермии наблюдали изменение содержания гликогена у амфипод из популяции Ладожского озера, тогда как у представителей других исследуемых популяций изменений выявлено не было. У представителей *G. fasciatus* из Ладожского озера была показана отрицательная корреляция ($r = -0.72$; $P = 0.00473$) между содержанием глюкозы и гликогена в условиях гипертермии. Тогда как, у представителей популяций *G. fasciatus* из оз. Байкал и Финского залива корреляция между исследуемыми маркерами не выявлена.

Содержание базовых уровней лактата у представителей *G. fasciatus* из всех исследуемых популяций имело схожие значения. Экспозиция в условиях постепенного повышения температуры среды приводила к накоплению лактата в диапазоне температур с 27°C до 29°C у амфипод из оз. Байкал, в то время как у амфипод из Финского залива накопление лактата отмечали лишь к концу эксперимента (33°C). У представителей *G. fasciatus* Ладожского озера наблюдали тенденцию к повышению содержания лактата с 15°C до 25°C.

Показано, что у представителей *Gammarus lacustris* из более термотолерантной популяции солоноводного оз. Шира, базовые уровни глюкозы и гликогена выше, чем у представителей из пресноводной популяции. Это, возможно, связано с затратами энергии амфиподами из пресноводной популяции на осморегуляторные процессы в условиях гипосмотического влияния их среды обитания. В условиях гипертермии у амфипод *Gammarus lacustris* из солоноводной популяции происходило уменьшение содержания свободной глюкозы, тогда как у амфипод из пресноводной популяции уровень данного метаболита увеличивался. Содержание гликогена у представителей обеих исследуемых популяций *G. lacustris* на протяжении всего эксперимента не отклонялось от контрольных значений.

В условиях гипертермии у *G. lacustris* из обеих исследуемых популяций происходило накопление лактата, однако время наступления реакций различалось. Так, у амфипод из пресноводной популяции повышение данного метаболита отмечали при достижении температуры 17°C, в то время, как у представителей солоноводной популяции накопление лактата наблюдали при температурах, выше 31°C.

Полученные результаты отражают взаимосвязь между затратами энергии на осморегуляторные процессы в условиях гипосмотического влияния пресноводной среды и на работу защитных механизмов при воздействии температурного стресса. Результаты показывают, что термочувствительность амфипод из наименее минерализованных водоемов связана с неспособностью организмов поддерживать энергетический баланс и подключать анаэробный метаболизм при меньших температурах по сравнению с амфиподами из более минерализованных водоемов. Таким образом, выявленные отличия свидетельствуют о различных стратегиях биохимических адаптаций и энергетического метаболизма у амфипод *Gmelinoides fasciatus* и *Gammarus lacustris*. Данные особенности, по-видимому, сформировались при их расселении в ареалы с различной минерализацией и температурным режимом.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РНФ 17-14-01063, РФФИ 16-34-60060 мол_a_дк, 15-04-06685_a, Госзадания 6.1387.2017/4.6.

Список литературы

1. Lindstrom M. Factors affecting the horizontal migration of the benthic amphipod *Monoporeia affinis* // *Orient and Migrat. Sea.; Abstr. Pap. Synp.*, Plymouth, 18-21 Apr., 1994. *J. Mar. Biol. UK.* 3, 715 p.
2. Momot W.T., Gowing H. Differential seasonal migration of the crayfish *Orconectes virilis* in marl lakes // *Ecology.* 1972. №. 53. P. 479–483.
3. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents // *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences.* 1998. T. 10. №. 2. P. 230a–231.

СТОЙКИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА В МОРСКИХ ОРГАНИЗМАХ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ

О. Н. Лукьянова^{1,2}, В. Ю. Цыганков², М. Д. Боярова²

¹Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-Центр)
г. Владивосток, Россия, olga.lukyanova@tinro-center.ru

²Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

Исследовано содержание стойких органических загрязняющих веществ – хлорорганических пестицидов ДДТ и ГХЦГ – в органах моллюсков, рыб, птиц и млекопитающих российской зоны Японского, Охотского и Берингова море. Показано возрастание содержания пестицидов у организмов более высокого трофического уровня.

В настоящее время практически все природные биоценозы в той или иной мере подвержены действию различных загрязняющих веществ. Существенный антропогенный пресс испытывают морские экосистемы, что связано с большим количеством терригенных стоков, влиянием водного транспорта, атмосферным переносом, морскими течениями и т.д. Седиментация, аккумуляция и другие гидрохимические процессы приводят к накоплению поступивших поллютантов в толще воды, в донных осадках, а также в морских организмах. Среди загрязняющих веществ важную группу составляют стойкие органические поллютанты, например, пестициды. В течение ряда лет наиболее широко применялись хлорорганические пестициды (ХОП), в первую очередь дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) и гексахлорциклогексан (ГХЦГ). Они были особенно популярны вследствие своей высокой токсичности, устойчивости и экономической эффективности. Важным качеством этих веществ является их персистентность (стабильность) во внешней среде, кумулятивные свойства и отдаленные последствия для организмов-мишеней. В связи с очень медленным разрушением пестициды накапливаются во внешней среде и переносятся на большие расстояния потоками воздуха, воды и мигрирующими организмами. Вторичное испарение и конденсация ХОП приводят к тому, что они, выделяясь в окружающую среду в более теплых регионах планеты, переносятся затем в холодные умеренные и полярные зоны [8]. Многочисленные исследования загрязнения ХОП Мирового океана проводятся учеными разных стран [1]. Начиная с 2000 г., продолжается регулярное изучение современного содержания пестицидов в морских организмах российской зоны дальневосточных морей – Японского, Охотского, Берингова.

Морские организмы были собраны в 2000–2016 гг. в ходе морских экспедиций (в основном ТИНРО-центра) в различных районах дальневосточных морей преимущественно в летне-осенний сезон: Тихоокеанские

лососи – Охотское и Берингово моря, открытые воды Курильских о-вов; морские птицы – западная часть Камчатского полуострова и Курильские о-ва, устье р. Туманной; морские млекопитающие – Берингово море, п. Лорино; камбалы и моллюски – Амурский залив, устье р. Туманной, о. Рейнике, Уссурийский залив; Анализ пестицидов проводили на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 Plus с детектором электронного захвата [7].

В конце 1990-х- начале 2000-х годов были выполнены работы в устье реки Туманной, впадающей в Японское море. Река является пограничной между Северной Кореей, Китаем и Россией и испытывает существенное загрязнение, поступающее с промышленных предприятий Китая, расположенных выше по течению реки. Исследовано 6 видов рыб, относящихся к разным экологическим группам, два вида моллюсков и несколько экземпляров чернохвостой чайки. ХОП были определены практически во всех пробах, от 1.1 нг/г сырой массы (гонады бычка) до 3133.0 нг/г (внутренний жир чайки чернохвостой). В печени рыб присутствовали в основном все метаболиты группы ДДТ, среди изомеров ГХЦГ преобладал β -ГХЦГ. В печени у типично донных рыб (камбалы) содержание изомеров ГХЦГ выше (135–160 нг/г), чем у пелагических видов (10–53 нг/г). Способность ХОП адсорбироваться на частицах взвеси и аккумулироваться в осадках способствует их большому накоплению в органах именно придонных рыб. Среди исследуемых видов пелагических рыб наибольшее суммарное содержание ХОП выявлено в печени лобана, в три раза больше, чем у красноперки, и в 13 раз больше, чем у сельди. Лобан является типичным южным мигрантом и приходит в зал. Петра Великого из прибрежных, более загрязненных вод Корейского полуострова. Суммарное содержание ХОП в пищеварительной железе приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* равнялось 790 нг/г, преобладали изомеры ГХЦГ – 785, среди них β -ГХЦГ составлял 782 нг/г. Более широкий спектр ХОП выявлен в органах чайки чернохвостой: общее содержание в висцеральном жире – 3133, в печени – 392, в мышцах – 163 нг/г. В мышцах и жире преобладала сумма изомеров ГХЦГ – 127 и 2867 нг/г. Среди изомеров ГХЦГ β -изомер в жире составлял 2780 и печени 145 нг/г. Сумма ДДТ и его метаболитов в мышцах и жире чаек достигала соответственно 36 и 265 нг/г, в печени – 205 нг/г, соотношение метаболитов было неоднозначным, но у большинства доминировал ДДТ.

В Японском море также были выполнены работы и в других районах. В Амурском заливе, омывающем город-порт Владивосток с запада, определение пестицидов в органах трех видов камбал и мидии Грея проводили в течение 2001–2005 гг. Суммарное содержание ХОП у рыб в печени и мышцах составляло 50–450 и 10–50 нг/г сырой массы соответственно. В мягких тканях мидий, собранных в отдельных районах Амурского залива с различной степенью загрязнения, были определены все изомеры ГХЦГ, сумма которых была от 19 до 30 нг/г, а сумма ДДТ от 6.9 до 22.9 нг/г. Сумма ГХЦГ у мидий составляла у о. Рейнеке (условно фоновый район) – 18.9 нг/г, во внутренних районах залива в бухте Перевозной – 30.3 нг/г и у мыса Песчаного – 25.2 нг/г. Минимальные концентрации ДДТ также определены в мидиях у о. Рейнеке (7 нг/г), максимальные – у мыса Песчаного (23 нг/г). Таким образом, менее загрязнены прибрежные воды о. Рейнеке, открытого водного пространства. В Уссурийском заливе, на восточном побережье Владивостока, ХОП определяли в печени и мышцах полосатой камбалы и мягких тканях мидии Грея в 2004 и 2005 гг. В печени камбал сумма ХОП варьировала от 86 до 378 нг/г, в мышцах была на порядок ниже, 19–30 нг/г, в мидиях Грея – от 17 до 22 нг/г. Максимальное содержание изомеров ГХЦГ в печени рыб (136 нг/г) было в 3 раза меньше, чем в печени камбал из Амурского залива (395 нг/г). Преобладал α -ГХЦГ (115 нг/г), отношение α/γ -ГХЦГ составляло 5.8. Суммарное содержание ДДТ и его метаболитов в печени камбал было от 13.9 до 242 нг/г, что также намного ниже, чем в Амурском заливе (340 нг/г). В мягких тканях мидий из Уссурийского залива содержание ХОП составляло от 17 до 22 нг/г, тогда как в мидиях из Амурского залива оно варьировало от 26 до 48 нг/г. В целом, суммарное содержание ХОП в морских организмах Уссурийского залива значительно меньше, чем в Амурском заливе. Пестициды находятся в Уссурийском заливе длительное время и свежее поступление отсутствует.

Одним из важных промысловых объектов является сельдь. Определение токсикантов в этом виде представляет интерес с точки зрения безопасности для здоровья человека. Суммарное содержание ХОП в мышцах тихоокеанской сельди, выловленной в зал. Петра Великого, составляло 2.5 нг/г сырой массы, что значительно ниже санитарных нормативов РФ. Для сравнения отметим, что в балтийской сельди из Рижского залива максимальное суммарное содержание ХОП достигало в 1997 г. 527 нг/г сырой массы.

В целом концентрации ХОП в рыбах зал. Петра Великого соответствуют диапазону содержания пестицидов в рыбах различных районов Мирового океана в современный период.

Особую роль в распределении и аккумуляции пестицидов в водной среде играют эстуарные экосистемы. В этих зонах, на границе река–море, где соленость резко возрастает, растворимость ХОП в воде уменьшается, и они переходят во взвесь. Поэтому содержание ХОП в органах речных и эстуарных видов, как правило, выше по сравнению с морскими видами.

В 2008 году исследовано содержание ХОП в органах мелкочешуйной красноперки (*Tribolodon brandtii*) из эстуариев рек Раздольная и Артёмовка, впадающих в залив Петра Великого, расположенный в северо-западной части Японского моря. Суммарные максимальные концентрации ХОП были обнаружены в печени красноперок из эстуария р. Раздольная, в среднем 1700 нг/г сырого веса, у рыб из эстуария р. Артёмовка – в среднем около 1000 нг/г. При сравнении содержания ХОП в мышцах рыб из эстуарных, морских и пресноводных экосистем установлено, что наибольшее количество ХОП аккумулируется у эстуарных видов (рис. 2).

В настоящее время ГХЦГ и ДДТ продолжают определять в моллюсках из разных районов Мирового океана. Наши результаты свидетельствуют о меньшем загрязнении ХОП зал. Петра Великого по сравнению с прибрежной зоной некоторых стран АТР [2, 4] (рис. 3).

В Охотском и Беринговом морях в настоящее время основными обитателями верхней пелагиали являются лососевые рыбы. Лососи населяют слои 0–50 м, где и аккумулируются переносимые ветрами ХОП. Во время нагула в океане лососи захватывают пестициды и затем во время нерестовых миграций переносят их на сушу.

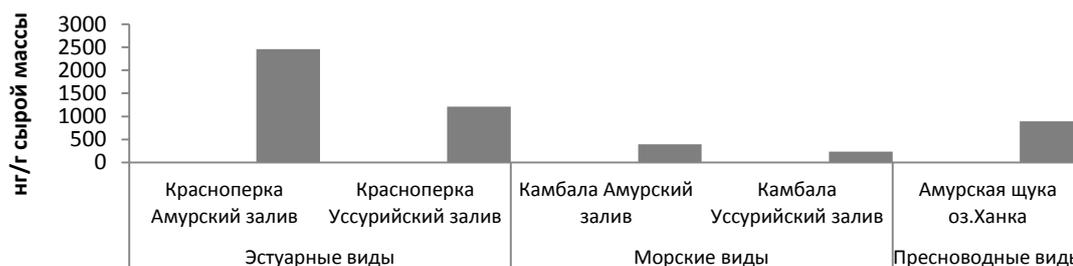


Рис. 2. Содержание пестицидов в печени морских, пресноводных и эстуарных видов рыб залива Петра Великого Японского моря.

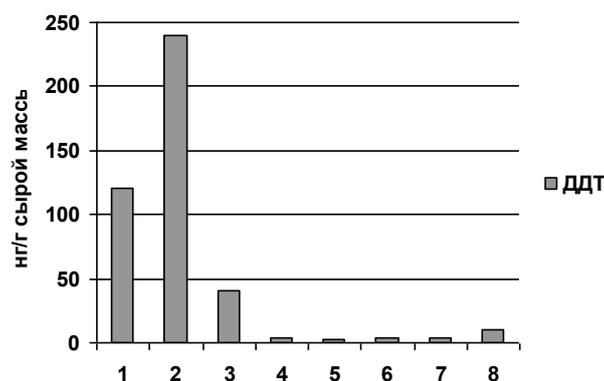


Рис. 3. Суммарное содержание ДДТ и его метаболитов в мидиях из различных районов Мирового океана. 1 – Гонконг, 2 – Китай, 3 – Вьетнам, 4 – Южная Корея, 5 – Сингапур, 6 – Индия, 7 – Япония [4], 8 – зал. Петра Великого.

Погибая после нереста, эти рыбы оставляют в районах нерестилищ значительные количества пестицидов. Содержание пестицидов было определено в органах лососей, собранных в Беринговом и в Охотском море в районе Курильских островов в 2007-2010 гг. Общее содержание поллютантов в различных органах варьировало в широких пределах – от 41 до 7103 нг/г липидов. В целом отмечена тенденция увеличения концентрации ХОП по органам в следующем порядке: мышцы < печень < икра < гонады самцов. Максимальное содержание выявлено в печени нерки (7103 нг/г липидов), из них 6453 нг/г приходится на изомеры ГХЦГ. Наибольшая концентрация ДДЕ обнаружена в печени чавычи (3022 нг/г). ДДЕ во всех образцах был единственным обнаруженным метаболитом ДДТ, что говорит о деструкции исходного ДДТ, т.е. о длительном нахождении пестицида в экосистеме. Более 80% рыб, идущих на нерест на Дальнем Востоке России, составляют горбуша и кета. Расчеты показывают, что одна горбуша содержит до 90 мкг пестицидов, а одна кета – до 640 мкг. Количество рыб, мигрирующих на российское побережье Северо-западной части Тихого океана, ежегодно оценивается специалистами и опубликовано в отчетах Международной комиссии по анадромным рыбам. На основании этих данных рассчитано общее количество пестицидов, переносимых лососями на сушу. В 2008 году это количество составило 13 кг, в 2009 – 35 кг, в 2010 – 20 кг. Наибольшее количество ХОП поступает в районы нерестилищ на р. Амур.

В июне и октябре 2012 г. были исследованы 5 видов птиц, собранных в Охотском море: тихоокеанская чайка (*Larus schistisagus*), большая конюга (*Aethia cristatella*), конюга-крошка (*Aethia pusilla*), глупыш (*Fulmarus glacialis*) (белая и темная морфы), серая качурка (*Oceanodroma furcata*). Пестициды обнаружены во всех образцах, общее содержание в различных органах варьировало от 28.7 нг/г до 16095.3 нг/г липидов. В перьях диапазон значений составил от 28.7 до 8289.2 нг/г, в перьях с кожей – от 1567.6 до 16095.3 нг/г, в печени – от 1679.8 до 2478,3 нг/г, в мышцах – от 2230 до 3000 нг/г, в целой особи – от 12.5 до 15112.5 нг/г. Разный уровень аккумуляции пестицидов у отдельных видов отражает как различную степень загрязнения районов обитания птиц этими поллютантами, так и видовые особенности в аккумуляции липофильных ксенобиотиков, которые обусловлены спектром питания и общим содержанием жира в органах особей. В птицах и рыбах из Охотского моря общее содержание ХОП практически такое же, как у птиц и рыб из других районов Тихого и Атлантического океанов.

В 2010–2011 г.г. в Беринговом море были собраны образцы мышц и печени семи особей серого кита *Eschrichtius robustus* и восьми особей тихоокеанского моржа *Odobenus rosmarus divergens* в прибрежных водах п. Лорино, Чукотский автономный округ. Пестициды обнаружены во всех пробах. Сумма ХОП в печени китов изменялась от 769 у самок до 13808 нг/г липидов у самцов. Обнаружены все изомеры ГХЦГ и ДДТ и его метаболиты. В печени самок суммарное содержание ХОП варьировало в пределах 769–3325 нг/г. Концентрация пе-

стицидов в печени значительно выше, чем в мышцах. В органах самцов сумма ХОП превышает таковую в органах самок. У более крупных взрослых самцов и самок сумма ХОП выше, чем у молодых особей меньшего размера. У самцов наблюдается тенденция в аккумуляции пестицидов с возрастом, как в мышцах, так и в печени. У самок тенденция к увеличению концентрации пестицидов наблюдается только до наступления половой зрелости. У серого кита после наступления репродуктивного возраста концентрации ХОП выходят на плато или даже уменьшаются. Половые различия и различия в распределении ХОП по органам связаны с различным содержанием жира в мышцах и печени. ХОП как липофильные соединения преимущественно накапливаются в органах с высоким содержанием жира. В печени самцов и самок значения этого показателя близки, в мышцах самцов содержание жира достоверно выше, чем у самок.

У тихоокеанского моржа сумма ХОП в мышцах находилась в пределах 197–5659 нг/г; в печени самцов и самок содержание пестицидов выше, чем в мышцах. У самцов наблюдается аккумуляция пестицидов с увеличением размера, как в мышцах, так и в печени. В нашем исследовании оба вида пойманы в одном районе, содержание жира в их органах составляет 8–10 %; следовательно, существенные различия в содержании пестицидов могут быть связаны со стадией репродуктивного цикла и характером питания. Пищей серых китов служат в основном донные ракообразные и другие мелкие бентосные организмы. Основу рациона моржа составляют донные беспозвоночные и некоторые виды рыб. Иногда моржи поедают других тюленей. Кормовые объекты моржа аккумулируют больше пестицидов, чем компоненты рациона серого кита, так как коэффициенты накопления поллютантов у моллюсков и рыб выше, чем у ракообразных. Следовательно, пищевой фактор оказывает существенное влияние на различия в биоаккумуляции пестицидов у китов и моржей. Концентрации ХОП в морских млекопитающих Берингова моря ниже по сравнению с животными из других районов Мирового океана [4].

Проанализировав представителей различных звеньев пищевой цепи, можно отметить, что аккумуляция пестицидов происходит наиболее активно у морских млекопитающих (рис. 4). Коэффициент биомагнификации, т.е. отношение концентрации ХОП у млекопитающих по сравнению с рыбами составляет 68, что подтверждает перенос липофильных соединений по пищевой цепи.

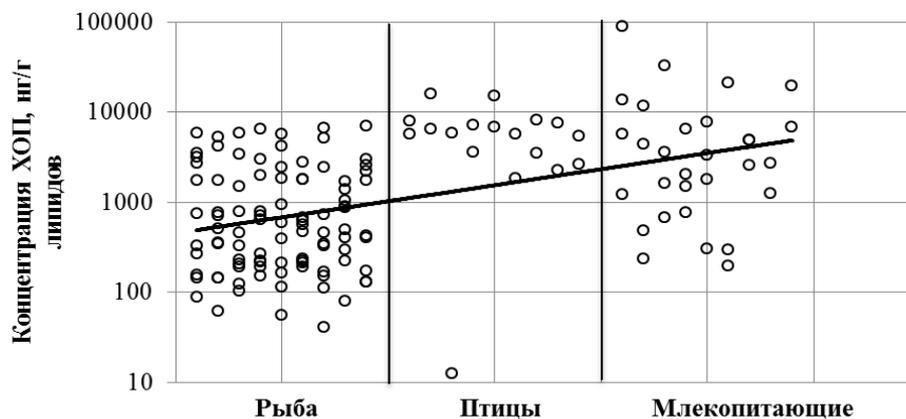


Рис.4. Тренд содержания ХОП в органах лососей, морских птиц и морских млекопитающих [3, 5–7].

Возможные источники пестицидов в регионе – атмосферный транспорт и трансграничный перенос. Нахождение заметных концентраций пестицидов у морских организмов дальневосточных морей, особенно Охотского и Берингова, удаленных от районов активной хозяйственной деятельности, служит подтверждением существования общего глобального фона пестицидов, сложившегося на планете в настоящее время.

Список литературы

1. Танабе Ш., Субраманиан А. Биоиндикаторы стойких органических загрязнителей. Новосибирск: Академическое издательство «Гео». 2010. 172 с.
2. Lukyanova Olga. Persistent organic pollutants in marine environment on Russian Far East. Sources, transport, biological effect. LAP Lambert Academic Publishing, 2013. 105 p.
3. Lukyanova O.N., Tsygankov V.Yu., Boyarova M.D., Khristoforova N.K. Bioaccumulation of HCHs and DDTs in organs of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) from the Sea of Okhotsk and the Bering Sea // *Chemosphere*. 2016. V. 157. P. 174–180.
4. Monirith I., Ueno D., Takahashi S. et al. Asia-Pacific mussel watch monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries // *Mar. Pollut. Bull.* 2003. № 46. P. 281–300.
5. Tsygankov Vasilii Yu., Boyarova Margarita D., Lukyanova Olga N. Bioaccumulation of Persistent Organochlorine Pesticides (OCPs) by Gray Whale and Pacific Walrus from the Western Part of the Bering Sea // *Mar. Pollut. Bul.*, 2015. V. 99. P. 235–239.
6. Tsygankov V.Yu., Boyarova M.D., Lukyanova O.N. Bioaccumulation of organochlorine pesticides (OCPs) in the northern fulmar (*Fulmarus glacialis*) from the Sea of Okhotsk // *Marine Pollution Bulletin*. 2016. V. 110. P. 82–85.
7. Tsygankov V.Yu., Boyarova M.D. Sample Preparation Method for the Determination of Organochlorine Pesticides in Aquatic Organisms by Gas Chromatography // *Achievements in the Life Sciences*. 2015. V. 9. P. 65–68.
8. Wania F., Mackay D. Tracking the distribution of persistent organic pollutants // *Environ. Sci. Technol.* 1996. V. 30. №9. P. 390–396.

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ КСЕНОБИОТИКИ В ОРГАНАХ МОРСКОГО ЕРША *SCORPAENA PORCUS* ИЗ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Л. В. Малахова¹, Е. Н. Скуратовская¹, Т. В. Малахова¹, В. С. Лобко²

¹Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН
299011, г. Севастополь, Россия, malakh2003@list.ru

²Филиал МГУ, 299001, г. Севастополь, Россия

Показана возможность использования морского ерша *Scorpaena porcus* в качестве вида-индикатора загрязненности хлорорганическими соединениями (ХОС) акваторий бухт Севастополя. К факторам, отвечающим за накопление ХОС в тканях ершей, следует отнести их жировую составляющую, половую принадлежность и уровень загрязненности среды обитания.

Причиной накопления хлорорганических соединений (ХОС) тканями и органами черноморских рыб является загрязненность этими токсикантами пищевых объектов и среды обитания. К наиболее распространенным ХОС относятся полихлорированные бифенилы (ПХБ), которые производили в промышленных масштабах начиная с конца 30-х гг. прошлого века, а такие устаревшие пестициды (ХОП), как п,п'-ДДТ (далее ДДТ) и его метаболиты п,п'-ДДЭ (ДДЭ) и п,п'-ДДД (ДДД) – после Второй Мировой войны, и в течение нескольких десятилетий они экстенсивно использовались для различных целей во всем мире. ХОС попадают в прибрежные воды морских экосистем с речным стоком, с выпусками сточных вод, со сбросами в районах дампинга, с льяльными водами и атмосферными выпадениями. Известно, что в последние десятилетия ушедшего столетия уровень загрязненности Черноморской экосистемы был настолько высок, что во всех без исключения компонентах: в донных осадках, планктоне, водорослях-макрофитах, моллюсках, рыбе обнаруживались ХОП и ПХБ. В то время уровни концентраций ХОС в объектах экосистемы Черного моря составляли следующий восходящий ряд: планктон < донные осадки < моллюски < водоросли-макрофиты < рыбы. В рыбах пелагиали были отмечены более высокие суммарные концентрации ХОС, достигающие до 454 и 240 нг·г⁻¹ сырой массы у ставриды и кефали, чем у донных рыб [3]. В последние годы нами было показано влияние ХОС на колебание численности ихтиопланктона, а также на выживание пелагической икры и, как следствие, на численность личинок рыб на ранних этапах постэмбрионального развития [6]. Кроме этого, изучено содержание и распределение ХОС в гидробионтах различной видовой и экологической принадлежности: мидиях *Mytilus galloprovincialis*, рапане *Rapana venosa*, черноморской камбале-калкан *Scophthalmus maxima maeotica* [1].

Хроническое воздействие на рыб хлорорганических ксенобиотиков имеет явные или скрытые формы кумулятивного токсикоза, проявляющиеся в разных видах – от патологических изменений в крови до уменьшения репродуктивного статуса и массовых заморов рыб. К примеру, суммарные концентрации ХОП в диапазоне от 20 до 40 нг·г⁻¹ в объектах питания бычков *Gobius syrnus* приводили к нарушению синхронности развития гонад самцов и самок и в результате – снижению воспроизводительной способности популяций рыб в водоеме [4]. Несмотря на то, что с начала 21 века у крымского побережья прослеживалась довольно устойчивая тенденция к восстановлению разнообразия ихтиофауны, исследование уровня накопления ХОС в тканях рыб представляет несомненный интерес для оценки последствий загрязнения морской среды токсикантами.

Одним из массовых представителей прибрежной донной ихтиофауны Черного моря является морской ёрш (скорпена) *Scorpaena porcus* (L.) – биомониторный вид, ведущий оседлый образ жизни и не совершающий протяженных миграций. Показатели морского ерша нашли широкое применение в биоиндикации состояния севавтопольских бухт [7]. В то же время особенности накопления ХОС в органах скорпены до сих пор не изучены.

В связи с этим задача экотоксикологической оценки современного уровня накопления ХОС рыбами на примере морского ерша, обитающего в бухтах г. Севастополя, является весьма актуальной.

Рыб отлавливали в 2016–2017 гг. в различных по загрязненности бухтах Севастополя: Александровской, Балаклавской, Казачьей и Стрелецкой (рис. 1). Для определения индивидуальных особенностей в накоплении ХОС были отобраны по 4–6 самок и самцов в каждом районе с одинаковыми линейными размерами 16–17 см. После полного биологического анализа печень, гонады и белые мышцы герметично упаковывали, замораживали и хранили при температуре –20°C.

Концентрацию ХОС в подготовленных гексановых экстрактах из органов ершей определяли в соответствии с методикой [2] на газовом хроматографе Хроматэк Кристалл 5000 с микро ЭЗД в ЦКП «Спектрометрия и Хроматография» ФГБУН ИМБИ им. А.О. Ковалевского РАН. В пробах печени и мышц были измерены концентрации п,п'-ДДТ и его метаболитов п,п'-ДДЭ и п,п'-ДДД (далее ДДТ, ДДЭ и ДДД), а также шести индикаторных конгенов ПХБ: трихлорбифенила (ХБ) 28; тетраХБ 52; пентаХБ 101, гексаХБ 138, 153 и гептаХБ 180. Полученные результаты представлены в виде суммы концентрации ДДТ и его метаболитов (ΣДДТ) и суммы концентрации 6 конгенов ПХБ (ΣПХБ₆), выраженной в нг·г⁻¹ сырой массы. Ошибка определения ХОС не превышала 20%. Массовую долю жиров определяли экстракционно-весовым методом согласно ГОСТ 7636–85.

Бухты Балаклавская, Стрелецкая, Казачья и Александровская (в составе большой Севастопольской бухты) являются акваториями с ограниченным водообменом с открытым морем (рис. 1). В воде этих бухт значительное загрязнение ПХБ (в эквиваленте Ароклор 1254) наблюдалось в 80-е годы прошлого века. Тогда нередко концентрация ПХБ достигала 300 нг·л⁻¹. В настоящее время содержание ХОС в воде Севастопольской акватории снизилось на несколько порядков величин. Относительно высокие концентрации хлорированных углеводородов в 2008–2017 гг. встречались в единичных случаях. В основном, концентрация ΣДДТ лежала в интервале от ниже предела чувствительности метода (далее "0") до 7, а ΣПХБ₆ – от 0 до 11 нг·л⁻¹.

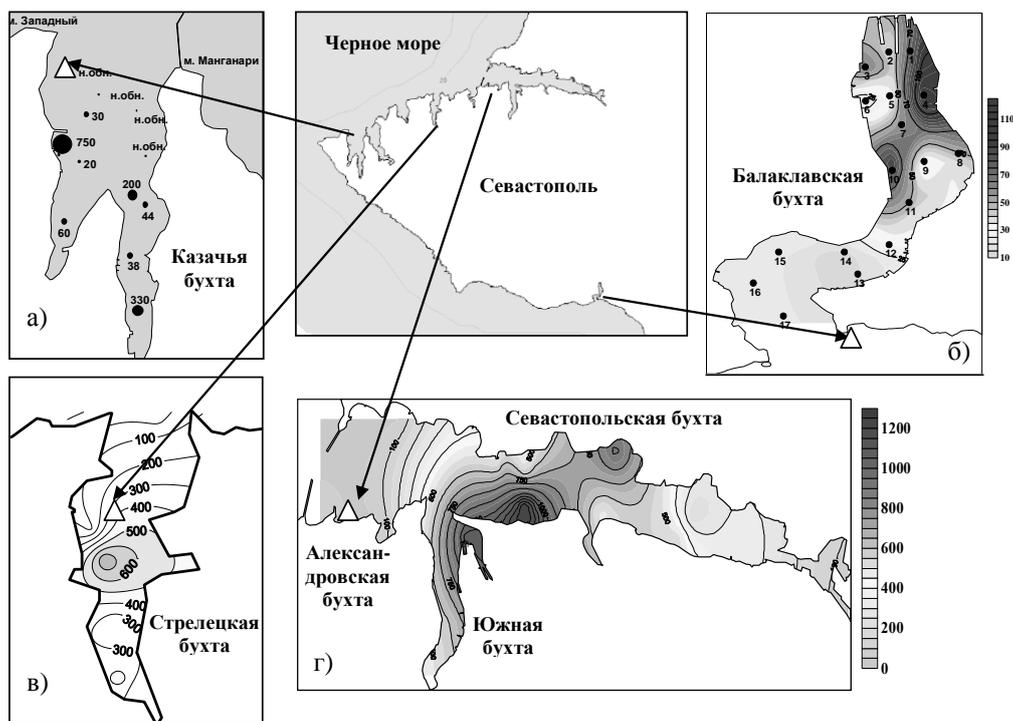


Рис. 1. Районы отлова морских ершей (Δ), нанесенные на карты распределения ПХБ ($\text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ сухой массы) в поверхностном слое донных отложений Казачьей (а), Балаклавской (б), Стрелецкой (в) и Александровской (г) бухт Севастополя.

Одним из механизмов очищения водной среды от ХОС является извлечение их морскими организмами. Часть ХОС, которая поглощается гидробионтами, в конечном итоге поступает на дно с фекальными пеллетами и с останками гидробионтов. Другая часть, в соответствии с низкой растворимостью в воде и ярко выраженной способностью к сорбции, ассоциируется с взвесью и с ней также оседает в донные отложения. Вследствие этого донные отложения обогащаются ХОС и служат своеобразным отражением процессов, протекающих в водной толще акватории. В Севастопольских бухтах такие процессы привели к образованию в донных осадках обширных зон чрезвычайно высокого содержания ХОС (рис. 1). Наибольшие концентрации ХОС за весь период наблюдений были обнаружены в бухте Севастопольской. На карте распределения ПХБ, построенной по данным 2006–2011 гг., четко выделяются два района, чрезвычайно загрязненных ПХБ: центральная часть бухты и бухта Южная (рис. 1 г). В донных отложениях Александровской бухты в районе отлова ершей концентрация ПХБ в эквиваленте Ароклор 1254 составляла $459 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ сухой массы.

Другой район исследований, Стрелецкая бухта, является одним из наиболее подверженных антропогенному прессу в системе Севастопольских бухт. Вследствие этого в донных отложениях накоплено значительное количество загрязнителей, в том числе ПХБ и ХОП. Так, в 2008 г. в центральной части бухты, где донные осадки представлены чёрными восстановленными илами, концентрация $\Sigma\text{ПХБ}_5$ достигала 121, $\Sigma\text{ДДТ}$ – $51 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$. Максимальный уровень содержания ПХБ в эквиваленте технической смеси Ароклор 1254 в 2003 г. составлял $780 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ в центре бухты (рис. 1 в).

В бухте Балаклавской концентрация $\Sigma\text{ПХБ}$ в донных осадках изменялась от 8.7 до 109.5 при средней – $59.3 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$, $\Sigma\text{ДДТ}$ – от 4.4 до 103.2 при среднем значении $35.5 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$. Такое содержание ХОС превышало концентрации в донных отложениях на выходе из бухты в районе отлова ершей, составляющие $2.7 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ для $\Sigma\text{ПХБ}_5$ и $3.5 \text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ для $\Sigma\text{ДДТ}$ (рис. 1 б).

Донные отложения Казачьей бухты представлены в основном заиленными ракушняками и песками. Такие крупнозернистые осадки характеризуются хорошей промываемостью и малой сорбционной емкостью загрязняющих веществ. В районе вылова ершей дно бухты образовано скальными выходами и соответственно загрязняющие вещества в этих местах не накапливаются (рис. 1 а).

Результаты исследований показали, что содержание липидов в печени ершей изменялось от 14.7 до 24.2% в самцах и от 9.7 до 23.3% – у самок. В белых мышцах показатель жирности был в среднем в 24 раза ниже, чем в печени и изменялся у самцов от 0.16 до 2.9%, у самок – от 0.41 до 1.2% сырой массы (рис. 2). Жирность гонад определяли только у отдельных экземпляров самок, у которых гонады были достаточно крупными и их массы хватало для анализа ХОС. Жирность гонад оказалась невысокой и составляла в среднем 0.53%.

Во всех пробах ершей были обнаружены ХОС, содержание которых в органах оказалось неоднородным. Концентрация ПХБ превышала ДДТ, что свидетельствовало о преобладании в исследуемом районе промышленного загрязнения над сельскохозяйственным. Значительные различия были обнаружены между концентрацией ХОС в мышцах и печени.

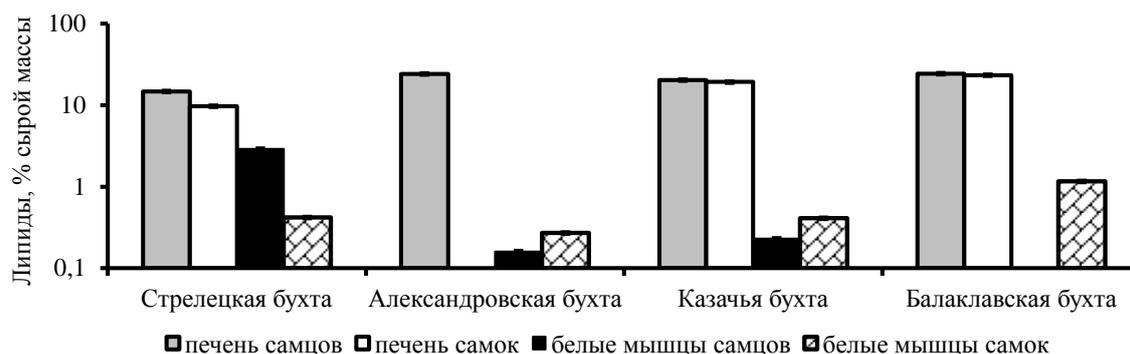


Рис. 2. Средний показатель жирности печени и белых мышц морских ершей из Севастопольских бухт с различным антропогенным воздействием.

Концентрация Σ ДДТ изменялась от 0.42 в мышцах до 655 $\text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ в печени, Σ ПХБ₆ – от 6.42 до 3873 $\text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ соответственно. Между концентрациями ПХБ в печени самок и самцов обнаружены существенные различия: у самцов в печени содержание поллютантов было выше, чем у самок в каждом районе исследования, что свидетельствует о возможных различиях в механизмах накопления и биотрансформации ксенобиотиков в гепатоцитах разнополых рыб. Максимальное содержание как Σ ПХБ₆, так и Σ ДДТ определено в печени самцов ершей в бухте Стрелецкой (рис. 3 и 4).

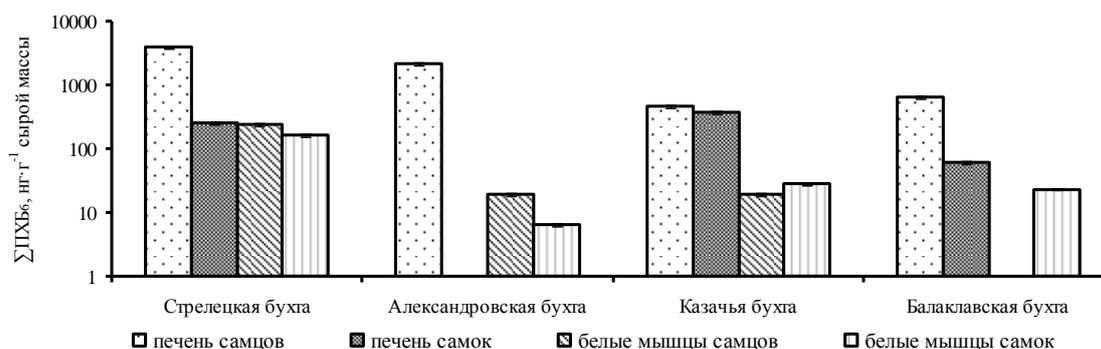


Рис. 3. Средняя концентрация Σ ПХБ₆ в печени и белых мышцах морских ершей из Севастопольских бухт с различным антропогенным воздействием.

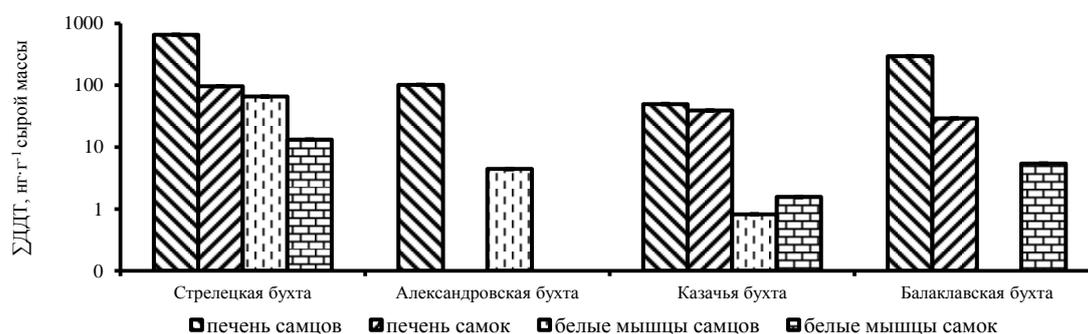


Рис. 4. Средняя концентрация Σ ДДТ в печени и белых мышцах морских ершей из Севастопольских бухт с различным антропогенным воздействием.

Несмотря на почти сорокалетний запрет применения ДДТ, соединения этой группы составили в пробах от 5 до 45% от суммы ХОС. Максимальное относительное количество Σ ДДТ обнаружено в Балаклавской бухте. В органах ДДТ в основном был представлен метаболитом ДДЭ. Это свидетельствовало о том, что исходный пестицид ДДТ в последнее время не поступал в организм исследуемых рыб.

Содержание ХОС было выше в тканях с повышенной жирностью, поэтому выявленную неравномерность распределения липофильных ХОС в органах особей мы в первую очередь связываем с различием в них показателя жирности (рис. 5).

Сравнение уровня загрязненности в рыбах с ПДК, равной для Σ ПХБ 2000 $\text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$, а для Σ ДДТ - 200 $\text{нг}\cdot\text{г}^{-1}$ [5], учитывает оценку риска употребления рыбы для человека. По сумме ПХБ токсический предел по ПДК превышен почти в 2 раза в печени самцов в бухте Стрелецкой и в 1.1 раз – в печени самцов в бухте Александровской, по Σ ДДТ – в 3 раза в печени самцов в бухте Стрелецкой и в 1.5 раза – в Балаклавской. Такие значительные уровни накопления ХОС в ершах являются отражением продолжающегося поступления токсикантов в среде их обитания. Очевидно, что акватории Стрелецкой, Александровской и Балаклавской бухт более загрязнены, чем Казачья бухта.

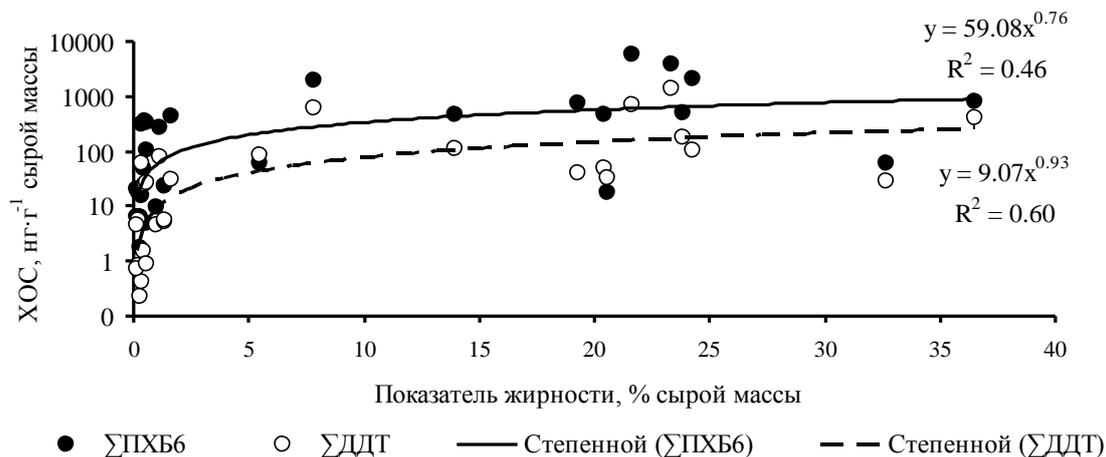


Рис. 5. Соотношение между концентрацией Σ ПХБ₆ (●), Σ ДДТ (○) и показателем жирности в органах морских ершей из бухт Александровской, Балаклавской, Казачьей и Стрелецкой.

Таким образом, в работе представлены первые данные по загрязненности Σ ДДТ и 6 конгенерами ПХБ морского ерша из севастопольских бухт с различной антропогенной нагрузкой. Установлена тенденция увеличения концентрации ХОС в донных отложениях и тканях рыб в ряду исследуемых акваторий: Казачья < Балаклавская < Александровская < Стрелецкая.

Результаты показали значительные индивидуальные отличия в содержании ХОС в органах ершей. К факторам, отвечающим за накопление ХОС в тканях рыб, следует отнести их жировую составляющую, половую принадлежность и уровень загрязненности среды обитания.

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ИМБИ по темам «Изучение механизмов адаптации, трансформации и эволюции морских и океанических экосистем в условиях климатических изменений и антропогенного влияния» (гос. рег. № 1001-2014-0013) и «Разработка научных основ решения гидробиологических и биотехнологических проблем интегрированного управления прибрежными зонами» (гос. рег. № 1001-2014-0017).

Список литературы

1. Малахова Л.В. Особенности накопления хлорорганических загрязнителей органами черноморской камбалы калкан *Psetta (Scophthalmus) maxima maeotica* // Мор. экол. журн. 2014. Т. XIII. № 1. С. 45–52.
2. МВИ МН 2352-2005. Методика одновременного определения остаточных количеств поли-хлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в рыбе и рыбной продукции с помощью газожидкостной хроматографии.
3. Поликарпов Г.Г., Жерко Н.В. Экологические аспекты изучения загрязнения Черного моря хлорорганическими ксенобиотиками // Экология моря. 1996. № 45. С.92–100.
4. Спивак Э.Г., Идрисова Н.Х., Ковтун И.Ф., Надолинский В.П. Влияние хлорорганических пестицидов на репродуктивную способность рыб Азовского моря // Тез. докл. 6 Всерос. конф. по пробл. промысл. прогнозир., Мурманск, 4-6 окт., 1995. Мурманск. 1995. С. 141–142.
5. Технический регламент Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции" (ТР ТС 021/2011). Гигиенические требования безопасности к пищевой продукции. Утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880.
6. Klimova T.N., Vdodovich I.V., Zagorodnyaya Yu.A., Ignatyev S. M., Malakhova L.V., Dotsenko V.S. Ichthyoplankton in the Plankton Community of the Crimean Peninsula Shelf Zone (Black Sea) in July 2010 // Journal of Ichthyology. 2014. 54. No. 6. P. 409–421.
7. Rudneva I.I., Skuratovskaya E.N., Chesnokova I.I., Shaida V.G., Kovyreshina T.B. In: Advances in Marine Biology. Biomarker response of Black Sea Scorpion Fish *Scorpaena porcus* to Anthropogenic Impact. Nova Science Publishers. Chapter 5. 2016. Vol. 1. P. 119–145.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ БИХРОМАТА КАЛИЯ В СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

М. А. Михеев, В. И. Ипатова

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
119234, г. Москва, Россия, miheev_m.93@mail.ru

В работе исследуется токсичность бихромата калия в смешанной культуре микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. Показано, что чувствительность каждого вида в монокультуре выше, чем в смешанной культуре, как в остром (3 сут), так и в хроническом (24–31 сут) опытах.

В связи с усилением антропогенного воздействия на водные экосистемы остается актуальной проблема совершенствования методов биотестирования в оценке качества водной среды.

Очень удобным объектом для исследований действия токсикантов как на клеточном, так и на популяционном уровнях, являются микроводоросли. Использование лабораторных культур водорослей в экологических исследованиях дает возможность, во-первых, исследовать действие токсиканта на функциональные и морфологические показатели растительной клетки (клеточный уровень); во-вторых, оценить действие токсиканта на модельную популяцию микроводорослей (популяционный уровень), а, кроме того, изучить некоторые экологические особенности той или иной группы водорослей [1].

Основной характеристикой состояния культур микроводорослей, подвергающихся токсическому воздействию, на популяционном уровне является общее число клеток. Часто число клеток в популяции в присутствии токсиканта в среде изменяется сложным образом [2]. Это связано с тем, что токсикант изменяет клеточный состав популяции, воздействуя на скорость размножения и гибели клеток, длительность клеточного цикла и функциональное состояние клеток. Поэтому возникает необходимость использования различных характеристик роста культур микроводорослей и расчета индексов токсичности для адекватной оценки токсичности вещества для одной культуры или сравнительной токсичности веществ на различные виды микроводорослей.

В России в качестве стандартного токсиканта для оценки чувствительности тест-объектов культур микроводорослей при проведении биотестирования обычно используется бихромат калия.

Традиционно в качестве тест-объекта при проведении биотестирования для оценки токсичности веществ используется монокультура, состоящая из одного вида микроводорослей. В России при проведении биотестирования в качестве тест-объекта широко используется микроводоросль *Scenedesmus quadricauda*. *Monoraphidium arcuatum* – новый тест-объект, который был выделен и введен в культуру на кафедре гидробиологии, и также может быть использован в качестве тест-объекта в биотестировании.

Целью настоящей работы явилось исследование действия бихромата калия на развитие смешанной культуры микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind.

Объектами исследования являлись альгологически чистые культуры зеленых хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind., широко распространенных в пресных водоемах Южного и Северного полушария и являющихся их важным звеном в трофических цепях.

Scenedesmus quadricauda получена из коллекции культур водорослей кафедры микробиологии Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова (DMMSU, штамм S-3). Данный вид водорослей относится к ценобиальным организмам. Чаще встречаются 2- и 4-клеточные ценобии, реже – 8- и 16-клеточные. При размножении в каждой клетке образуются автоспоры, которые внутри материнской клетки слагаются в молодую колонию.

Monoraphidium arcuatum – одноклеточная водоросль с дуговидно изогнутыми клетками, размножается бесполо, образуя 4–8 автоспор внутри материнской клетки, которые выходят при разрыве ее оболочки. Введена в культуру на кафедре гидробиологии Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова [3].

Культуры обоих видов выращивали на среде Успенского №1 (состав: 0.025 KNO₃; 0.025 MgSO₄; 0.1 KH₂PO₄; 0.025 Ca(NO₃)₂; 0.0345 K₂CO₃; 0.002 Fe₂(SO₄)₃ г/л; pH 7.0–7.3) в люминистате при освещенности 3.5 клк со сменой дня и ночи (12:12 часов), температуре 22 ± 2°С и перемешивали 2 раза в сутки во избежание их оседания.

Действие бихромата калия на монокультуры микроводорослей оценивали в концентрациях 10, 1, 0.1 и 0.01 мг/л (в расчете на соль), что соответствует концентрациям 3.5; 0.35; 0.035 и 0.0035 мг/л хрома (в расчете на Cr⁶⁺) в трехкратной повторности в остром (3 суток) и хроническом (31 сутки) опытах.

Основной показатель состояния культуры – изменение численности клеток.

Исходная плотность клеток в опытах составляла 50 ± 5 тыс кл/мл. Численность клеток подсчитывали в камере Горяева под световым микроскопом. Контролем служил рост водорослей в чистой среде без добавления токсикантов.

По результатам хронических испытаний был рассчитан показатель опасности (ПО) [4], позволяющий сравнивать между собой токсичность и опасность токсикантов для микроводорослей, по следующей формуле:

$$ПО(K_2Cr_2O_7) = ЛК_{50}(K_2Cr_2O_7) / МДК(K_2Cr_2O_7)$$

Действие бихромата калия на смешанную культуру микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* оценивали в концентрациях 10, 7, 5, 3, 2, 1, 0.1 и 0.01 мг/л в хронических испытаниях длительностью до 31 суток.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel-2010 с использованием пакета анализа данных, для чего рассчитывали доверительный интервал и критерий Стьюдента при уровне значимо-

сти 0.05. Оценку токсического действия проводили на основании достоверности различий опытных значений численности клеток по сравнению с контролем. Чувствительность культуры к токсикантам оценивали по величине ЛК₅₀ (полуэффективная концентрация) и МДК (минимальная действующая концентрация = ЛК₂₀, вызывающая угнетение роста на 20%) за 3, 7, 10, 21 и 31 суток, которые определяли с использованием пробит-анализа.

Токсичность бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* в смешанной культуре была оценена по величинам ЛК₅₀, МДК и ПО в течение всего срока испытаний длительностью 31 сут (табл. 1).

Таблица 1. Токсичность бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* в смешанной культуре

Сутки	ЛК ₅₀ K ₂ Cr ₂ O ₇	МДК K ₂ Cr ₂ O ₇	ЛК ₅₀ K ₂ Cr ₂ O ₇ / МДК K ₂ Cr ₂ O ₇ (ПО)
	мг/л		
3	1.883	0.835	2.25
7	1.210	0.663	1.83
10	2.472	1.819	1.36
14	2.751	2.097	1.31
21	2.481	1.812	1.37
24	2.365	1.626	1.45
28	2.982	2.068	1.44
31	3.441	2.184	1.58

Величина ЛК₅₀ бихромата калия за 3 суток (1.883 мг/л) свидетельствует о соответствии чувствительности культуры *S. quadricauda* в смешанной культуре стандарту, разработанному для монокультуры *S. quadricauda*, поскольку эта величина находится в интервале 0.2–2.0 мг/л, рекомендованном рядом методик по определению качества природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, грунтов и др. [5] (табл. 1).

С увеличением срока испытаний с 3 до 31 суток ЛК₅₀ бихромата калия увеличивается в 2 раза, т.е. со временем токсичность бихромата калия для культуры *S. quadricauda* в смешанной культуре уменьшается.

МДК бихромата калия на 3 суток составляет 0.835 мг/л, что свидетельствует о его высокой токсичности. Со временем величина МДК бихромата калия увеличивается примерно в 2 раза, что подтверждает снижение его токсичности.

По сравнению с монокультурой ПО бихромата калия для *S. quadricauda* в смешанной культуре на 3 суток (2.2) был ниже, чем в монокультуре (3.73), тогда как на 31 сутки (1.6) он был чуть выше, чем в монокультуре (1.22). ПО бихромата калия в смешанной культуре со временем (с 3 по 31 сутки) уменьшается в 1.5 раз. По абсолютным величинам ПО опасность токсиканта для *S. quadricauda* в смешанной культуре (1.58–2.25) в целом была ниже по сравнению с монокультурой (1.22–5.59).

Таким образом, величины ЛК₅₀ и МДК бихромата калия со временем увеличиваются, а ПО уменьшается. Следовательно, его токсичность со временем для *S. quadricauda* в смешанной культуре уменьшается.

Токсичность бихромата калия для *Monoraphidium arcuatum* в смешанной культуре также была оценена по величинам ЛК₅₀, МДК и ПО в течение всего срока испытаний длительностью 31 сут (табл.2).

Таблица 2. Токсичность бихромата калия для *Monoraphidium arcuatum* в смешанной культуре

Сутки	ЛК ₅₀ K ₂ Cr ₂ O ₇	МДК K ₂ Cr ₂ O ₇	ЛК ₅₀ K ₂ Cr ₂ O ₇ /МДК K ₂ Cr ₂ O ₇ (ПО)
	мг/л		
3	3.161	2.016	1.57
7	1.252	0.639	1.96
10	1.361	0.765	1.78
14	0.981	0.450	2.18
21	1.921	0.989	1.94
24	1.635	0.863	1.89
28	1.684	0.817	2.06
31	2.544	1.221	2.08

Значение ЛК₅₀ бихромата калия на 3 сут в остром опыте (3.16 мг/л) находится выше интервала 0.2–2.0 мг/л, рекомендованного методикой по определению качества воды [5].

Следовательно, в смешанной культуре чувствительность *M. arcuatum*, оцениваемая по эталонному токсиканту, не соответствует стандарту, разработанному для культуры *Scenedesmus quadricauda* с использованием в качестве эталонного токсиканта бихромата калия. А в монокультуре чувствительность *Monoraphidium arcuatum* укладывалась в рекомендуемый стандартом диапазон.

С увеличением срока испытаний (с 3 до 31 сут) ЛК₅₀ бихромата калия уменьшалась (в 1.25–3 раза), в отличие от *Scenedesmus quadricauda*, т.е. токсичность бихромата калия для *Monoraphidium arcuatum* в смешанной культуре со временем увеличивалась.

Значение МДК бихромата калия на 3 сут для *M. arcuatum* в смешанной культуре было выше, чем в монокультуре. Следовательно, чувствительность *M. arcuatum* к токсикантам, оцениваемая по величине МДК на 3 сут, была меньше в смешанной культуре по сравнению с монокультурой.

С увеличением срока опыта МДК бихромата калия уменьшалась в 2 раза, т.е. токсичность бихромата калия со временем возрастала.

ПО бихромата калия для *M. arcuatum* в смешанной культуре был примерно в 1.5–2 раза меньше по сравнению с монокультурой как на 3, так и на 31 сут опыта. Следовательно, по абсолютным значениям ПО опас-

ность токсиканта для *M. arcuatum* в смешанной культуре (1.56–2.05) была ниже по сравнению с монокультурой (3.32–4.42). Но в монокультуре *M. arcuatum* ПО со временем уменьшался, тогда как в смешанной культуре имел тенденцию к увеличению.

Таким образом, ЛК₅₀ и МДК бихромата калия со временем уменьшаются, а ПО увеличивается. Следовательно, его токсичность со временем для *M. arcuatum* в смешанной культуре увеличивается.

Полученные данные о токсичности бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* в смешанной культуре, оцененные по величинам ЛК₅₀, МДК и ПО в длительном опыте (31 сут), свидетельствуют о снижении токсичности бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* и увеличении – для *Monoraphidium arcuatum*. По абсолютным величинам ПО опасность токсиканта для *M. arcuatum* в смешанной культуре была ниже по сравнению с монокультурой. Однако, значения ПО в монокультуре *M. arcuatum* имеют тенденцию к снижению, а в смешанной культуре – к увеличению. Для *Scenedesmus quadricauda* как в монокультуре, так и в смешанной культуре, ПО снижался. По абсолютным величинам ПО опасность токсиканта для *S. quadricauda* в смешанной культуре была ниже по сравнению с монокультурой.

При проведении биотестирования чувствительность тест-объекта микроводорослей традиционно определяется по величине полуэффективной концентрации ЛК₅₀ за 3 суток. Дополнительно чувствительность можно оценивать и по величине минимально действующей концентрации МДК токсиканта.

Таблица 3. Токсичность бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* в моно- и смешанных культурах

Культура водорослей	Показатели		
	ЛК ₅₀	МДК	ПО
	Длительность теста 3–24 сут		
<i>Scenedesmus quadricauda</i>			
Монокультура	0.98–0.38	0.26–0.13	3.73–2.97
Смешанная культура	1.88–2.36	0.83–1.6	2.3–1.5
<i>Monoraphidium arcuatum</i>			
Монокультура	0.72–0.11	0.16–0.029	4.42–3.79
Смешанная культура	3.16–2.54	2.01–1.22	1.56–2.08

Сравнительный анализ чувствительности *S. quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* к бихромату калия в моно- и смешанных культурах, оцениваемой по величине ЛК₅₀ и МДК бихромата калия в остром опыте (3 сут), показал, что в монокультурах вид *M. arcuatum* более чувствителен к бихромату калия, чем *Scenedesmus quadricauda*, поскольку эти величины для *Monoraphidium arcuatum* ниже, чем для *Scenedesmus quadricauda*. Причем, со временем эти две величины у обеих монокультур снижаются, что указывает на увеличение токсичности бихромата калия в монокультурах. В хроническом эксперименте с монокультурами (табл. 3) более высокая чувствительность *Monoraphidium arcuatum* (ЛК₅₀ к концу опыта 0.11 мг/л) к бихромату калия по сравнению с *Scenedesmus quadricauda* (ЛК₅₀ концу опыта 0.38 мг/л) сохранялась.

Очевидно, что токсичность вещества определяется не только его концентрацией в среде, но и степенью его накопления в растительных клетках. Усиление токсичности бихромата калия со временем в монокультурах можно объяснить накопительным эффектом металла в клетке и процессами накопления и выведения металлов из клеток. По данным литературы [6, 7], при малых дозах металла в среде клетка со временем может накапливать его в большом количестве и не выводить из клетки, что со временем приводит к токсическому эффекту или его усилению. А при более высоких уровнях металла в среде клетка может накапливать его даже в меньшей степени за счет выведения из клеток. Как показали эксперименты по накоплению клетками водоросли *S. quadricauda* и макрофита *Elodea canadensis* меди и хрома в форме CuCl₂ и K₂Cr₂O₇ [6, 7] в присутствии низких концентраций этих веществ (0.001 мг/л в расчете на медь и хром) после 30-х суток в растениях удерживается больше металла, чем при концентрациях 0.01–1.0 мг/л. Это указывает на то, что металлы при более высоких концентрациях активнее выводятся из клеток, вследствие чего их токсическое действие может снижаться. При максимальных же концентрациях меди и хрома (10 мг/л и выше) накопление металлов водорослями самое высокое, а выведение – минимальное.

В смешанной двухвидовой тест-системе, наоборот, в остром опыте вид *Scenedesmus quadricauda* более чувствителен к бихромату калия, чем *Monoraphidium arcuatum*, поскольку величины ЛК₅₀ и МДК за 3 сут для *Scenedesmus quadricauda* ниже, чем для *Monoraphidium arcuatum*. Однако со временем эти величины для *Scenedesmus quadricauda* увеличиваются, а для *Monoraphidium arcuatum* снижаются, что свидетельствует о снижении со временем токсичности бихромата калия для *Scenedesmus quadricauda* и усилении для *Monoraphidium arcuatum* в смешанной культуре.

Сравнение чувствительности *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* в моно- и смешанной культурах по величинам ЛК₅₀, МДК показало, что чувствительность каждого вида в монокультуре выше, чем в смешанной культуре как в остром (3 сут), так и в хроническом (24–31 сут) опытах.

Список литературы

1. Happey-Wood C.M. The application of culture methods in studies of the ecology of small green algae // Mitt. Internat. Verein. Limnol. 1978. V. 21. P. 385–397.
2. Филенко О.Ф. Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1990. 36 с.

3. Спиркина Н.Е., Ипатова В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф. Сравнительная динамика роста культур микроводорослей видов *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. и *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. // Бюлл. МОИП. 2014. Т. 119. Вып. 2. С. 64–69.
4. Дулов А.С., Радилов А.С., Глушкова А.В. Методические подходы к оценке сравнительной токсичности наночастиц и наноматериалов и продукции на их основе // Сб. трудов 4 съезда Токсикологов России, 6-8 ноября 2013 г. Москва. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М.: Изд-во Capital Press, 2013. 596 с.
5. Филенко О. Ф., Исакова Е. Ф., Гершкович Д. М., Ипатова В. И., Дмитриева А. Г. Биотестирование качества среды с использованием гидробионтов. Раздел большого практикума по гидробиологии. Учебно-методическое пособие. М.: Изд-во МГУ, 2015. 44 с.
6. Дмитриева А.Г., Даллакян Г.А., Лысенко Н.Л. Анализ функциональных показателей популяции водорослей в условиях накопления меди // Альгология. 1992. Т. 2. № 2. С. 30–36.
7. Дмитриева А.Г., Ипатова В.И., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Желтухин Г.О., Крупина М.В. Реакция *Elodea canadensis* на загрязнение хромом среды обитания // Вестник МГУ. Сер. Биология. 2006. Т. 2. С. 17–24.

ВЛИЯНИЕ НАГРЕВА ВОДЫ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ КАРПА *CYPRINUS CARPIO*, АККЛИМИРОВАННОЙ К НИЗКОЙ И ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Н. С. Некрутов, В. А. Подгорная, В. К. Голованов, Г. М. Чуйко

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанова РАН
152742, пос. Борок, Россия, nikita.nekrutov@mail.ru*

Рассмотрены особенности физиолого-биохимической адаптации двухлетков карпа, акклимированных к температуре 18 и 35°C, при нагреве воды со скоростью 9.0°C/ч. Исследованы критический термический максимум (КТМ), активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и содержание водорастворимой фракции белка (ВРБ) в мозге рыб.

Глобальное изменение климата приводит к повышению температуры в водоемах, что непосредственно влияет на рыб и беспозвоночных [1]. Поведенческие реакции рыб на увеличение температуры среды изучены достаточно подробно. Однако особенности некоторых физиолого-биохимических реакций, происходящих непосредственно в зоне сублетальных температур жизнедеятельности, исследованы не в полной мере. В последнее время при экологической оценке степени влияния абиотических и антропогенных факторов большое практическое применение получают биомаркеры, главной особенностью которых является способность выявлять биологические последствия действия данного фактора [2]. Известно несколько работ по определению ряда физиолого-биохимических маркеров, позволяющих оценить влияние повышения температуры воды на адаптационные возможности различных видов пресноводных рыб [3, 4, 5].

Цель настоящей работы – определить активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и содержание водорастворимой фракции белка (ВРБ) в мозге двухлетков карпа при повышении температуры воды в условиях различной температуры предварительной акклимации.

В качестве объектов исследования использованы 24 экз. двухлетков карпа *Cyprinus carpio* L. с длиной тела от 5.2 до 8.5 см, массой тела от 3.5 до 14.2 г. Исследуемые рыбы были разделены на две группы по 12 особей и помещены в два аквариума. Рыб первой группы акклимировали при температуре воды 18°C, второй группы – при температуре воды 35°C в течение 10 суток. В качестве корма использованы личинки хирономид в объеме 5–10% от массы тела рыб. Схема проведения экспериментов была следующая. Активность АХЭ и содержание ВРБ определяли вначале в контроле у 6-и особей (акклимация к температуре воды 18°C и 35°C), после этого – в опыте (после нагрева со скоростью 9°C/ч и определения критического термического максимума (КТМ) у каждой из шести рыб).

Определение КТМ. Эксперименты по определению КТМ на 6 особях из каждого аквариума проводили с использованием стандартных методик [1, 6]. Скорость нагрева температуры воды в аквариуме объемом 60 л составляла 9.0°C/ч. В отличие от стандартной методики определения значения КТМ, молодь рыб (первую, вторую и т.д.) последовательно изымали из экспериментального аквариума после достижения точки КТМ – переворота на бок или вверх брюшком.

Определение АХЭ и ВРБ. Для определения активности АХЭ и содержания ВРБ использованы стандартные методы и процедуры, описанные ранее [7]. Результаты выражали в виде средних значений и их ошибок, достоверность оценивали по критерию Стьюдента при $p \leq 0.05$.

Значения КТМ при скорости нагрева 9°C/ч у двух исследуемых групп с низкой (18°C) и высокой (35°C) температурами акклимации составили 34.2 ± 0.6 и 42.4 ± 0.1 °C соответственно (рис. 1). С увеличением температуры акклимации до сравнительно высокого уровня в 35°C значение КТМ сильно выросло. Столь высокий уровень КТМ был получен нами впервые. Ранее самое высокое значение КТМ у молоди карпа, акклимированной к температуре воды 20°C в летнее время года, составило всего 35.8 ± 0.4 °C, хотя известно, что по мере повышения температуры акклимации до уровня 32°C значение КТМ может возрасти до значения 41°C и несколько выше [1].

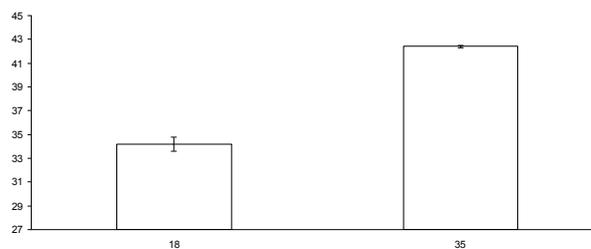


Рис. 1. Значения КТМ у двухлетков карпа, содержащихся при температуре акклимации 18°C и 35°C, при скорости нагрева воды 9.0°C/ч. По оси абсцисс – температура акклимации, °С; по оси ординат – значения КТМ, °С.

Результаты, полученные при исследовании активности АХЭ и содержания ВРБ в мозге двухлетков карпов, приведены на рис. 2 и 3. Как следует из приведенных данных, зависимость активности АХЭ и содержания ВРБ от уровня температуры акклимации рыб различалась.

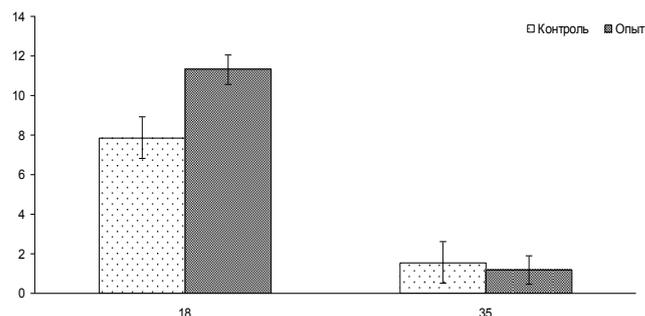


Рис. 2. Активность ацетилхолинэстеразы в мозге двухлетков карпа, содержащихся при температуре акклимации 18°C и 35°C, а также после нагрева воды (9°C/ч). По оси абсцисс – температура акклимации, °С, по оси ординат – значение активности ацетилхолинэстеразы, мкмоль/г·ткани/мин.

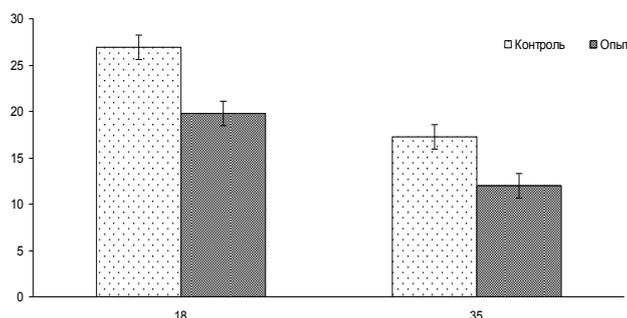


Рис. 3. Содержание водорастворимого белка в мозге двухлетков карпа, содержащихся при температуре акклимации 18°C и 35°C, а также после нагрева воды (9°C/ч). По оси абсцисс – температура акклимации, °С, по оси ординат – значения содержания водорастворимой фракции белка, мг/г ткани.

При сравнении активности АХЭ в контроле и опыте (нагрев) разница значений АХЭ достоверна для рыб, акклимированных к низкой температуре воды 18°C и недостоверна для рыб при высокой температуре акклимации 35°C (рис. 2). При этом значения активности фермента у акклимированных к 35°C рыб существенно ниже (~5 раз) в сравнении с особями из низкой температуры акклимации (18°C).

Содержание ВРБ, в отличие от активности АХЭ, у контрольных рыб выше, чем у подвергнутых нагреву, и при акклимации к температуре воды 18°, и при аналогичном выдерживании на уровне 35°C (рис. 3). Общий уровень содержания фракции ВРБ с увеличением температуры акклимации снижается, однако степень этого уменьшения менее выражена.

Исходя из данных по активности АХЭ и содержанию ВРБ, можно заключить, что при акклимации к сравнительно низкой температуре воды 18°C двухлетки карпа находятся в относительно благоприятных условиях. В то же время, при акклимации к высокой сублетальной температуре 35°C, судя по сильно пониженному значению активности АХЭ, организм рыб попадает в неблагоприятные условия. Не исключено, что данные сублетальные температуры жизнедеятельности приводят к угнетению активности фермента, что и отражается на его количественных характеристиках. Однако даже в этих неблагоприятных условиях, содержание другого показателя – ВРБ – все-таки изменяется не так сильно, и уменьшается всего в 1.5 раза.

Впервые получены экспериментальные данные по активности АХЭ и содержанию ВРБ у рыб, акклимированных к температурам из сублетальной зоны их жизнедеятельности. Таким образом, исследование активности АХЭ и содержания ВРБ при разной температуре акклимации и повышении температуры воды, позволяют на физиолого-биохимическом уровне расширить представления о роли влияния температурного стресса на рыб.

Исследование выполнено при поддержке Программы Президиума РАН: 1.21П Биоразнообразие природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга. 2.5. Влияние антропогенного регулирования уровневого режима водохранилищ и температуры на динамику численности рыб различной экологии и Программы Президента РФ “Ведущие научные школы” НШ-7894.2016.4 “Экологические аспекты адаптаций и популяционная организация у рыб”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голованов В.К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб. Москва: Полиграф-Плюс, 2013. 300 с.
2. Чуйко Г.М. Место и роль биомаркеров в экологическом мониторинге водных экосистем // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы, МГУ, 25–28 октября 2016 г. М.: ГЕОС, 2016. С. 275–282.
3. Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкологической токсикологии: принципы, методы и методология, практика использования. Гл XV. // В кн. Экологический мониторинг. Часть VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: Учебное пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили, проф. Г.В. Шургановой. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского государственного университета, 2014. С. 310–326.
4. Голованов В.К., Чуйко Г.М., Подгорная В.А., Головкина Е.И., Некрутов Н.С. Динамика активности ацетилхолинэстеразы и водорастворимых белков в головном мозге рыб при разных скоростях нагрева в летний сезон года // Труды Карел. НЦ РАН. Сер. Эксперим. биология. 2015. № 12. С. 116–123.
5. Golovanova I. L., Golovanov V. K., Smirnov A. K., Pavlov D. D. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish // Fish Physiol. Biochem.. 2013. V. 39, N 6. P. 1497–1504.
6. Beitinger T.L., Bennet W.A., McCauley R.W. 2000. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature // Env. Biol. Fishes. V. 58, N 3. P. 237–275.
7. Chuiko G.M., Podgornaya V.A., Zhelnin Y.Y. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in brain and plasma of freshwater teleosts: cross-species and cross-family differences // Comp. Biochem. Physiol. 2003. Part B. V. 135B, N 1. P. 55–61.

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЦАХ РЫБ ИЗ РЕКИ СУХОНА ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

О. С. Никитина¹, Е. С. Иванова¹, М. Я. Борисов²

¹ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет
162600, г. Череповец, Россия, Nezneika-89@mail.ru

²Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства
160012, г. Вологда, Россия, myaborisov@mail.ru

В работе установлены межвидовые различия содержания ртути в мышцах рыб разных трофических групп. Определены различия количества металла в мышцах рыб отловленных в районах с разными гидрографическими особенностями реки. Концентрация ртути в мышцах плотвы, густеры и окуня, отловленных в верхнем течении р. Сухона, выше, чем количество металла в соответствующих видах, отловленных в ее среднем и нижнем течении.

Ртуть и ее соединения относятся к числу наиболее опасных для живых организмов токсических веществ. Неорганические соединения ртути поступают, главным образом, из атмосферы в естественные водоемы, где трансформируются в более токсичные метилированные соединения, которые аккумулируются гидробионтами активнее, чем неорганические [5]. Высокие уровни содержания ртути в рыбе (как высшем звене трофической цепи) отмечаются даже в тех водоемах, которые не расположены в зонах повышенного естественного ртутного фона и находятся вдали от локальных источников ртутного загрязнения [1, 4]. Несмотря на то, что в настоящее время накоплен большой фактический материал по закономерностям миграции и накоплению ртути в водных экосистемах умеренных и северных широт, что исторически обусловлено высокой концентрацией промышленных объектов в этих регионах [4], некоторые водные экосистемы остаются неизученными или малоисследованными в силу их протяженности и (или) труднодоступности. В Вологодской области к таким экосистемам относится река Сухона, так как основные исследования были связаны с озёрами, где наблюдается $pH < 7$ [1].

Кроме отрицательных биологических последствий повышенных концентраций ртути для гидробионтов существует опасность для здоровья человека при употреблении таких организмов в пищу. Известно, что основным и в большинстве случаев единственным источником поступления метилртути в организм человека является рыба, так как более 95% от общего содержания ртути в мышцах рыб находится в метилированной форме [6].

Сбор образцов мышечной ткани рыб осуществлялся сотрудниками Вологодского отделения ФГБНУ «ГосНИОРХ» в летний период 2016 года на реке на участках с разными гидрографическими особенностями: Верхняя Сухона – в районе г. Сокол; Средняя Сухона – д. Ноземские Исады, п. Юбилейный, г. Тотьма; Нижняя Сухона – д. Коченьга, с. Нюксеница, д. Вострое, п. Полдарса, г. Великий Устюг.

Отобранные образцы мышечной ткани рыб помещали в полиэтиленовые пакетики, этикетировали, замораживали и хранили при температуре -16°C . Всего отобрано 227 образцов мышц от 11 видов рыб (табл. 1).

Таблица 1. Объекты анализа на содержание ртути

Участок лова	Виды рыб											Всего
	густера	окунь	плотва	язь	белоглазка	лещ	ерш	голавль	елец	щука	стерлядь	
г. Сокол	12	6	18	1		1				1		39
д. Ноземские Исады	7	8	7	3		2						27
п. Юбилейный	7	6	9	3								25
г. Тотьма	10	2	10	1	1						16	40
д. Коченьга	3	5	14	6	6	1						35
с. Нюксеница		3	7		1		1					12
д. Вострое		1	5	2	8							16
п. Полдарса											17	17
г. Великий Устюг		5	4	1	2			2	2			16
Всего	39	36	74	17	18	4	1	2	2	1	33	227

Таблица 2. Содержание ртути в мышцах рыб р. Сухона

Вид	n	Длина рыбы, см	Масса рыбы, г	Содержание ртути, мг/кг сырой массы
Стерлядь (<i>Acipense rruthenus</i>)	33	22.0 ± 1.0 21.0–23.0	385.444 ± 54.077 170.0–996.0	0.093 ± 0.009^a 0.025–0.233
Голавль (<i>Leuciscus cephalus</i>)	2	0.093 ± 0.009^a 0.025–0.233	200.0 ± 26.0 174.0–226.0	0.104 ± 0.018^{abc} 0.086–0.122
Обыкновенный лещ (<i>Abramis brama</i>)	4	27.5 ± 2.327 23.0–34.0	429.5 ± 131.03 228.0–812.0	0.113 ± 0.029^{abc} 0.074–0.199
Обыкновенная щука (<i>Esox lucius</i>)	1	28.0 ± 0.0	188.0 ± 0.0	0.143 ± 0^{abc}
Язь (<i>Leuciscu sidus</i>)	17	23.529 ± 1.778 15.0–35.0	329.412 ± 71.175 48.0–836.0	0.156 ± 0.039^{bc} 0.058–0.749
Обыкновенная плотва (<i>Rutilus rutilus</i>)	74	18.27 ± 0.319 14.0–25.0	124.459 ± 7.252 48.0–328.0	0.158 ± 0.009^b 0.022–0.406
Белоглазка (<i>Ballerus sapa</i>)	18	18.059 ± 0.337 17.0–21.0	88.824 ± 5.549 64.0–152.0	0.171 ± 0.014^{bc} 0.086–0.306
Обыкновенный ерш (<i>Gymnocephalus cernuus</i>)	1	12.0 ± 0.0	30.0 ± 0.0	0.178 ± 0^{abcd}
Густера (<i>Bliccabjoerkna</i>)	39	20.462 ± 0.631 14.0–29.0	204.103 ± 19.252 52.0–550.0	0.197 ± 0.011^{bc} 0.079–0.368
Речной окунь (<i>Percafluviatilis</i>)	36	17.611 ± 0.654 14.0–34.0	112.333 ± 19.344 48.0–716.0	0.201 ± 0.028^c 0.057–0.769
Елец (<i>Leuciscusleuciscus</i>)	2	18.0 ± 0.0 18.0–18.0	88.0 ± 6.0 82.0–94.0	0.419 ± 0.086^d 0.333–0.505

Примечания: над чертой приведены средние значения и их ошибки ($x \pm mx$), под чертой – минимальные и максимальные значения показателя; a, b, c, d – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются по видам, при уровне значимости $p \leq 0,05$ (ANOVA-тест).

Содержание ртути в мышечной ткани рыб, отловленных в реке Сухоне, варьирует в широких пределах – от 0.022 в мышцах плотвы до 0.769 мг/кг сырой массы у окуня (табл. 2). При этом минимальные средние значения количества металла (мг/кг сырой массы) в мышцах отмечены для видов – стерлядь, голавль и лещ (0.09–0.113), максимальные концентрации установлены для ельца (0.419 ± 0.086) и окуня (0.201 ± 0.028).

Зависимость содержания ртути в мышцах рыб от места их отлова исследовали на примере видов – обыкновенной плотвы, густеры и речного окуня, количество которых в выборках было максимальным. Установлено, что концентрация ртути в исследованных видах рыб (плотва, густера, окунь), отловленных в верхнем течении р. Сухоны, выше, чем количество металла в соответствующих видах, отловленных в ее среднем и нижнем течении. При этом для видов плотва и густера эти различия были статистически достоверными (рисунок).

Вероятно, такая зависимость связана с различиями абиотических факторов (гидрографическими и природно-климатическими особенностями) исследованных участков, а так же со степенью развития промышленности в данных районах.

Для видов язь и белоглазка достоверных различий по содержанию ртути в мышцах рыб, отловленных в разных местах р. Сухоны не установлено.

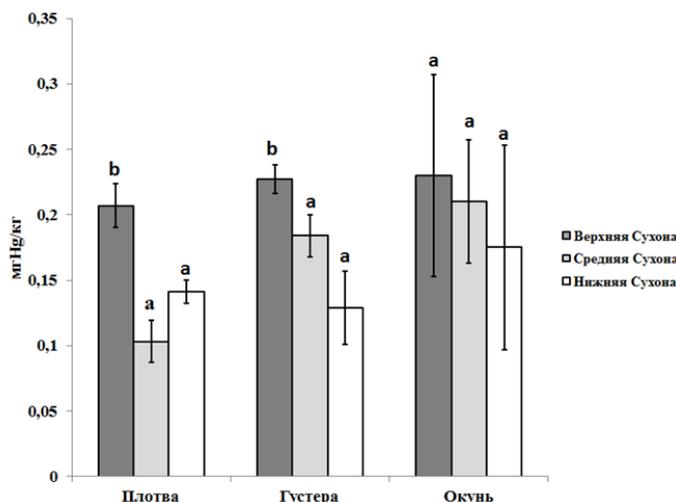


Рисунок. Содержание ртути в мышцах рыб (мг/кг, сырой массы) из разных по гидрографическим особенностям участках р. Сухоны (a, b– значения с разными буквенными индексами достоверно различаются между отдельными участками внутри одного вида, при уровне значимости $p < 0.05$ (ANOVA-тест)).

Таблица 3. Соотношение содержания ртути в мирных рыбах р. Сухоны с санитарно-гигиеническим нормативом РФ (0.3 мг/кг сырой массы)

Участок отлова	Вид рыбы	Кол-во особей с содержанием Hg < 0.199 мг/кг		Кол-во особей с содержанием Hg 0.2-0.299 мг/кг		Кол-во особей с содержанием Hg > 0.3 мг/кг	
		шт	%	шт	%	шт	%
г. Сокол	Густера	6	50	5	42	1	8
	Лещ	1	100				
	Плотва	6	33	7	39	5	28
	Язь	1	100				
д. Ноземские Исады	Густера	3	43	2	29	2	29
	Лещ	2	100				
	Плотва	5	71	2	29		
	Язь	3	100				
п. Юбилейный	Густера	5	71	2	29		
	Плота	9	100				
	Язь	3	100				
	Густера	6	60	4	40		
г. Тотьма	Язь	1	100				
	Плотва	8	80	2	20		
	Белоглазка	1	100				
	Стерлядь	16	100				
	Густера	3	100				
	Лещ	1	100				
д. Коченьга	Плотва	11	78	3	22		
	Язь	5	83			1	17
	Белоглазка	5	83			1	17
	Плотва	7	100				
с. Нюксеница	Ерш	1	100				
	Белоглазка			1	100		
д. Вострое	Плотва	5	100				
	Язь	2	100				
	Белоглазка	5	63	3	37		
п. Подарса	Стерлядь	16	94	1	8		
	Плотва	4	100				
	Язь	1	100				
г. Великий Устюг	Белоглазка	2	100				
	Голавль	2	100				
	Елец					2	100

По санитарно-гигиеническим нормам, действующим в России, концентрация ртути не должна превышать 0.3 мг/кг, сырой массы в пресноводной нехищной рыбе и 0.6 в хищной пресноводной рыбе [2].

При соотношении количества ртути в мышцах исследованных видов рыб, отловленных на разных участках реки Сухоны, отмечено что, показатели количества металла превышают рекомендованные концентрации примерно у 7% от общего количества проанализированной рыбы мирных видов и 5% проанализированных окуней (табл. 3, 4).

Показатели количества металла в мышцах рыб из реки Сухоны превышают санитарно-гигиенические нормативы (ПДК для пресноводной рыбы) примерно у 7% от общего количества проанализированной особей мирных видов и 5% проанализированных окуней.

Таблица 4. Соотношение содержания ртути в окуне р. Сухона с санитарно-гигиеническим нормативом РФ (0.6 мг/кг, сырой массы)

Участок отлова	Кол-во особей с содержанием Hg < 0.299 мг/кг		Кол-во особей с содержанием Hg 0.3–0.599 мг/кг		Кол-во особей с содержанием Hg > 0.6 мг/кг	
	шт	%	шт	%	шт	%
г. Сокол	5	83			1	17
д. Ноземские Исады	4	50	3	37	1	13
п. Юбилейный	6	100				
г. Тотьма	2	100				
д. Коченьга	4	80			1	20
с. Нюксеница	3	100				
д. Вострое	1	100				
г. Великий Устюг	2	40	1	20	2	40

Список литературы

1. Степанова И.К., Комов В.Т. Накопление ртути в рыбе из водоемов Вологодской области // Экология. 1997. № 4. С. 295–299.
2. Санитарные правила и нормы (СанПин). 2.3.2560-96. М., 1997.
3. Arctic Pollution (AMAP). Oslo. 2002. 212 p.
4. Haines T.A., Komov V.T., Jagoe C.H. Lake acidity and mercury content of fish in Darwin National Reserve, Russia // Environ. Pollut. 1992. Vol. 78. P. 107–112.
5. Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. Effects of Environmental Methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish // Ambio. 2007. Vol. 36, № 1. P. 12–18.
6. WHO. Environmental Health Criteria 101 Methylmercury. Geneva. 1990.

ГЕНО- И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (LC₅₀96) АЦЕТАТА СВИНЦА (Pb) НА ЭРИТРОЦИТЫ САЗАНА (*CYPRINUS CARPIO* L.)

Г. М. Палатников¹, М. А. Гасанова, Г. Р. Мамедова², Г. Р. Вагабова³.

¹Институт физиологии им. А. И. Караева НАН Азербайджана, г.Баку, Азербайджан, gmpal@mail.ru

²Азербайджанская Государственная Академия Физической Культуры и Спортa, г. Баку, Азербайджан,

³Азербайджанский Медицинский Университет, г. Баку, Азербайджан.

В работе исследовалось гено- и цитотоксическое влияние двух валентного ацетата свинца на молодь сазана в концентрации 800 мг/л. Установлено гено- и цитотоксическое влияние данной концентрации на эритроциты молоди сазана.

По степени воздействия на живые организмы свинец отнесен к классу высоко опасных веществ. Его опасность определяется значительной токсичностью и способностью накапливаться в организме, проявлением канцерогенных, тератогенных и мутагенных свойств. Токсичная доза свинца для человека составляет 1 мг, а летальная – 10 г.

Представители животного мира аккумулируют свинец по-разному: беспозвоночные – в основном, в твердых покровах; позвоночные – в костной ткани и, кроме того, птицы – в перьях, рыбы – в гонадах, млекопитающие – в головном мозге и печени.

Растворимость ацетата свинца в воде зависит от рН, жесткости и солёности воды. Кроме того существует видовая специфичность реакции рыб к свинцу [1].

Нитрат свинца оказывает губительное действие на рыб в концентрации 0,1–0,16 мг/л; хлорид свинца – в концентрации 0,33–1,0 мг/л; сульфат свинца – в концентрации 25,0 мг/л; ацетат свинца – на рыб в концентрации 0,4–2,8 мг/л. В слабых разведениях, соли свинца действуют гемолитически.

Количество свинца, ежегодно попадающего в мировой океан только в результате применения алкил-свинца в качестве антидетонатора дизельного топлива, оценивается, приблизительно, в 25 кт.

И в то же время, этот металл жизненно необходим для животных, они испытывают недостаток этого элемента при концентрации его в корме менее 0.05–0.5 мг/кг (в зависимости от вида животного).

Этот микроэлемент выполняет ряд немаловажных функций в организме, а именно:

- способствует улучшению роста и развития,
- принимает участие в обменных процессах костной ткани- оказывает влияние на уровень гемоглобина в крови,
- воздействует на положительные изменения в активности некоторых ферментов,
- принимает участие в обмене железа.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы было определение гено- и цитотоксического воздействия летальной концентрации 96 час (LC₅₀ 96) ацетата свинца на эритроциты крови молоди сазана.

Работа была выполнена на молоди сазана (*Ciprinus carpio* L) выращенной на Хыллынском рыбноводном заводе. Сазан широко распространен в водоемах Азербайджана, в его реках и опресненных участках Каспия, а так же является объектом прудового рыбноводства и поэтому часто используется в качестве модели в токсикологических исследованиях.

В исследовании было использовано 114 особей сазана (*Cyprinus carpio*) 6-ти месячного возраста весом 30 ± 3.7 г, длиной 13.6 ± 0.6 см. Для акклиматизации в лабораторных условиях, рыбы в течение 10 дней содержались в ваннах, аэрация воды в которых постоянно поддерживалась. Среднесуточная температура воды составляла 18 ± 1°C.

Поскольку вода в большинстве рек и водоёмов Азербайджана характеризуется повышенной жёсткостью, часть ацетатата свинца при растворении переходит в нерастворимый осадок. Поэтому, на первом этапе, методом пробит анализа были установлены LC₅₀ 24ч, 48 ч, 72ч. и 96 ч.

С этой целью, после периода акклиматизации, для определения летальных концентраций были взяты по 10 рыб на 10 произвольных концентраций ацетата свинца(II). Число погибших рыб регистрировалось каждые 24 часа. Концентрация свинца LC₅₀ 96 соответствовала 800 мг/л. Статистический расчет LC₅₀96 осуществлялся с помощью пробит-анализа.

Для продолжения исследования были взяты две группы рыб по 7 особей. Первая группа была контрольной, рыбы которой содержались в чистой воде. Рыбы второй группы находились в воде, содержащей 800 мг/л ацетата свинца.

На четвертые сутки у рыб обеих групп, из хвостовой вены с помощью инсулинового шприца, бралась капля крови и готовился мазок на предметном стекле для микроядерного анализа. Мазок высушивался на воздухе при комнатной температуре и фиксировался в метаноле. Полученные препараты окрашивались по методу Гимза-Романовского стандартным набором фирмы «Sigma».

Подсчет ядерных патологий проводился под световым микроскопом при увеличении 12×100 раз. Фотографирование проводилось цифровым микроскопом «Motic» при увеличении 10×100.

Частота встречаемости клеток с ядерными патологиями (ЧВКЯП) рассчитывалась по формуле:

$$\text{ЧВКЯП} = n / N \times 100\%,$$

где N – общее число подсчитанных клеток; n – число клеток с ядерной патологией [2].

Для статистической обработки использовали стандартную программу Microsoft Office Excel 2007.

При микроскопировании полученных препаратов микроядра были зарегистрированы в единичных случаях, в основном, в контрольной группе. В экспериментальной группе микроядра практически не регистрировались, в то же время, были зарегистрированы патологии, которые носили более серьёзный характер: деформация ядер и самих эритроцитов (рис. 1, 2, 4), гипохромазия (рис. 2, 3), ацентричность ядра (рис. 3), а также амитоз (рис. 4).

Такие нарушения в структуре клетки можно рассматривать как начальные стадии повреждения клетки предшествующие апоптозу и, чем больше клеток с такими повреждениями, тем меньше клеток с микроядрами [3].

Полученные данные обобщены в таблице 1, в которой показана общая сумма зарегистрированных микроядер и патологий эритроцитов.

Зарегистрированные нами патологии эритроцитов, можно объяснить, исходя из литературных данных, тем, что свинец в организме животных негативно влияет на синтез гема при синтезе гемоглобина, а вмешиваясь в порфириновый обмен, индуцирует дефекты мембран эритроцитов. Характерные признаки хронической токсичности свинца включают в себя изменения в параметрах крови с тяжелым повреждением эритроцитов и лейкоцитов [4].

Другие зарегистрированные клеточные аномалии отражают последствия митотических ошибок приводящих к повреждению клеток, гибели клеток, некоторые из них сопровождаются апоптозом и некрозом, которые вызваны повреждением ДНК [5].

Таблица 1. Общее число зарегистрированных патологий.

Кол-во патологий на 1000 клеток			
контроль		Pb-LC ₅₀ 96	
микроядра	патологии ядер и эритроцитов	микроядра	патологии ядер и эритроцитов
9.37 ± 2.62	0	0	33.0 ± 14.68

Так же существует мнение, что соединения свинца могут вызывать мутации не только через прямые повреждения ДНК, а так же через нарушение функции ферментов синтеза и/или репарации ДНК, или же путём изменения третичной структуры ДНК [1, 6].

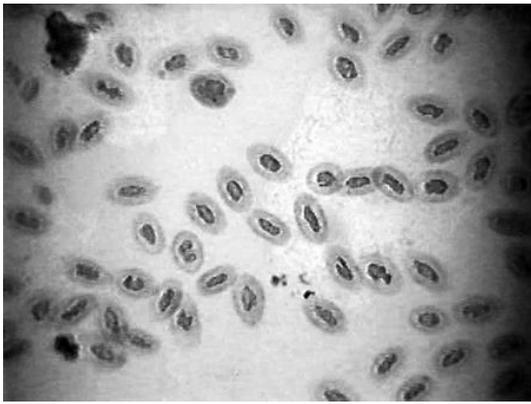


Рис.1. Патология формы ядер.

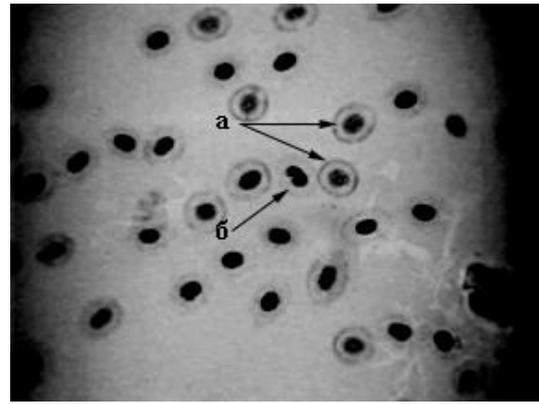


Рис.2. Гипохромазия (а) и инвагинация ядра (б).

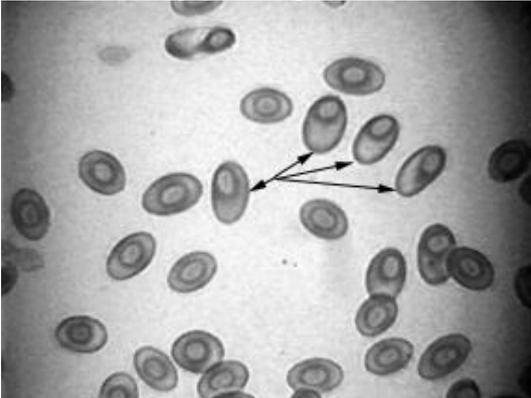


Рис.3. Гипохромазия и ацентричность ядра.

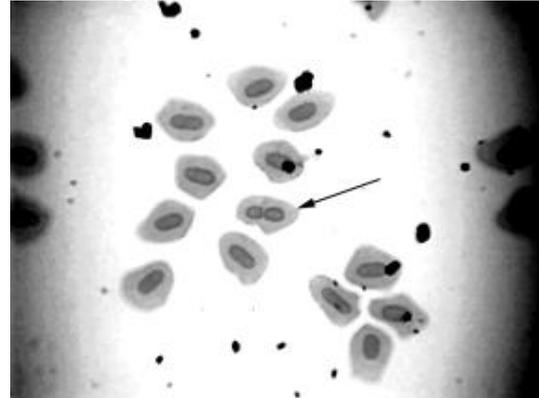


Рис.4. Амитоз и патология формы эритроцита.

Список литературы.

1. Authman MMN, Zaki MS, Khallaf EA, Abbas HH Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution // J Aquac Res Development. 2015. 6: 328. doi:10.4172/2155-9546.1000328.
2. Минеева О.В., Минеев А.К. нарушения морфологии эритроцитов периферической крови озёрной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 // Вестник Нижегородского у-та им. Н.И. Лобачевского. 2010. № 2 (2). С. 664–667.
3. Кузина Т.В. Цитофизиологические особенности крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала.// Автореф. дисс. канд. биол. наук. Астрахань, 2011. 25 с.
4. El-Badawi A.A. Effect of lead toxicity on some physiological aspects of Nile tilapia fish, *Oreochromis niloticus*. Inter. Conf. Vet. Res. Div., 2005. NRC. Cairo.Egypt.
5. Zelikoff J.T., Li J.H., Hartwig A. Genetic toxicology of lead compounds //Carcinogenesis. 1988. V.9. № 10. P. 1727–1732.
6. Hartwig A., Schleppegrell R., Beyersmann D. Effect of lead ions on DNA repair //2nd Eur. Meet. Environ. hyg., Düsseldorf, May 31–June 2. 1989. P. 62.

ОЦЕНКА ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Т. С. Пряжевская¹, С. А. Черкашин^{2,3}

¹ Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет
г. Владивосток, Россия, t.pryazhevskaya@mail.ru

² Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, г. Владивосток, Россия;

³ Морской государственный университет им. адм. Г.И. Невельского, г. Владивосток, Россия,
sergey.cherkashin@tinro-center.ru

В работе исследуется состояние прибрежных вод Амурского залива по выживаемости мизид в острых опытах 2007-2016 гг. Выявлено улучшение экотоксикологического состояния большинства исследованных акваторий залива по сравнению с ситуацией до 2009 г.

В последние десятилетия состав морских вод, оставаясь относительно неизменным в глубоководных впадинах, подвержен изменению (преимущественно антропогенного характера) в пространстве и во времени в прибрежных акваториях. Загрязнение мелководной зоны максимально вблизи крупных городов, портов, устьев рек и наносит наибольший вред в акваториях, где образуется значительная часть первичной продукции органического вещества. К таким акваториям относится и Амурский залив, являющийся северо-западной частью залива Петра Великого Японского моря. Он выбран объектом многолетнего мониторинга состояния биоты и среды ее обитания, поскольку имеет большое значение для развития мариккультуры, прибрежного промысла рыб, бес-

позвоночных животных и макрофитов. Практически во все реки западного побережья Амурского залива на нерест заходят тихоокеанские лососи и другие виды рыб. Однако на восточном побережье залива расположена столица Приморского края город Владивосток (с населением примерно 607 тыс. человек); практически по всему побережью залива расположены места отдыха населения и гостей края. В вершину залива впадает крупная река Раздольная, в долине которой ведутся сельскохозяйственные и другие работы. Поэтому загрязнение Амурского залива, особенно его внутренних районов, продолжается. В наиболее загрязненных участках залива отмечены негативные изменения состояния, снижение видового разнообразия планктонных сообществ, изменение численности и пространственной структуры индикаторных видов фитопланктона и мизид [1, 2].

Существенная роль в оперативной оценке качества природной среды принадлежит биотестированию – экспериментальной оценке состояния компонентов экосистем, основанной на регистрации тест-функции используемой биосистемы (тест-объекта). Вследствие низких концентраций большинства поллютантов в Амурском заливе для биодиагностики особенно необходимы высокочувствительные тест-организмы. Использование местных видов повышает объективность экологической оценки. По мнению многих исследователей мелкоразмерные ракообразные оказываются обычно наименее устойчивыми и весьма чувствительными к воздействию неблагоприятных факторов по сравнению с другими группами водных организмов [3–6] и поэтому часто используются для биодиагностики качества вод. Еще в 80- и 90-е гг. прошлого столетия показано, что некоторые виды таких ракообразных, как мизиды (Crustacea: Mysidacea) более чувствительны к тяжелым металлам, дизельному топливу, фенолу и другим поллютантам по сравнению с веслоногими ракообразными трех видов, личинками и молодью креветок, молодью рыб [3, 4]. Нами показано, что по своей токсикорезистентности молодь мизид сопоставима с предличинками японского анчоуса [5]. Биотестирование качества прибрежных вод выявило в ряде случаев большую токсичность вод для предличинки, в других случаях – для мизид. Это еще раз подтверждает, что нет универсальных для всех ситуаций конкретных тест-объектов.

В рамках комплексных экотоксикологических исследований зал. Петра Великого в 2007–2016 гг. продолжено биотестирование состояния прибрежных вод Амурского залива на мизидах. Пробы воды отбирали из поверхностного слоя (0.1–0.7 м) на 16 станциях с июня по сентябрь. Все пробы тестировали в трех повторностях. В различных сериях биотестирования в каждую емкость с 500–600 мл пробы помещали тест-объекты (по 5–6 мизид *Neomysis mirabilis* и *Paracanthomysis shikhotaniensis* (Mysidae, Mysidacea, Crustacea) длиной 15–20 и 9–14 мм соответственно).

Температурный режим следовал природным суточным изменениям и составлял в июне, июле, августе и сентябре 13.2–15.4; 14.0–21.8; 19.8–22.4 и 17.4–21.4°C, соответственно. Соленость проб варьировала в пределах 29.6–33.2‰ в экспериментах различных лет. Продолжительность биотестирования составляла 48–168 ч, в зависимости от времени выявления достоверных различий смертности мизид в различных пробах. Для всех трех повторностей из каждой пробы определяли среднюю долю (%) погибших рачков и стандартную ошибку. Достоверность различий влияния тестируемых растворов на выживаемость мизид определяли при уровне значимости $P = 0.05$ [7]. Признаком опасного для гидробионтов загрязнения вод являются статистически достоверные различия в смертности тест-объекта в воде из загрязненных внутренних районов по сравнению с водой из условно-фоновых районов. Внутренняя зона залива наиболее приближена к основным источникам загрязнения, внешняя (условно-фоновая) расположена у о-вов Попова и Рейнеке на границе открытых вод зал. Петра Великого.

Спад промышленного производства в Приморском крае в 1990-е гг. способствовал заметному снижению объемов сброса загрязненных вод и, как следствие, ослаблению экологической напряженности состояния зал. Петра Великого [2]. Тем не менее, эксперименты по изучению экотоксикологического состояния поверхностной воды Амурского залива выявили достоверную токсичность вод внутреннего района, прилегающего к центральной части г. Владивостока в июле 2007 г. (таблица).

Значительные, но кратковременные повышения загрязнения после залповых сбросов, случавшиеся за последнее десятилетие, незамедлительно сказывались на выживаемости мизид. Так, биотестирование, проведенное в сентябре 2008 г. после массовой гибели многих видов рыб и ракообразных во внутренней части залива, показало, что вода из этих акваторий увеличивала смертность мизид и в наших опытах. Но качество вод более загрязненной зоны в целом достоверно не отличалось от условно-фоновой зоны. Достоверная токсичность вод выявлена лишь у нефтебазы и в бухте Новик о. Русский. В воде у о. Рейнеке гибель мизид увеличилась в 1.5 раза по сравнению с предыдущим годом, но оставалась меньше, чем в других районах.

Опыты выполняли на мизидах, отловленных в прибрежной зоне о. Рейнеке зал. Петра Великого (условно-фоновый район), после акклимации в течение 48–96 ч к лабораторным условиям (освещению, температуре), согласно Методическим указаниям ... [7]. Наиболее многочисленными рачки *N. mirabilis* составляли в июне 60–98% от общей численности мизид в мелководных районах Амурского залива. Численность *P. shikhotaniensis* в июле – сентябре у о. Рейнеке достигала 47–60%, а уязвимость представителей этого вида рачков была выше, чем *N. mirabilis*. Однако, дополнительные физиологические нагрузки, такие как нерест и линька в процессе биотестирования в июне приводили к тому, что рачки *N. mirabilis* в данный период оказывались более чувствительными, чем мизиды *P. shikhotaniensis*. В течение всего эксперимента рачков не кормили.

В последующие годы в заливе выявлено улучшение экотоксикологической обстановки. В 2009–2016 гг. загрязнение Амурского залива в целом было менее опасно для мизид. Так в июне 2014 г. не выявлено токсичности проб для мизид до завершения 96-часового опыта. Опыты в июне 2016 г. показали, что качество вод залива у о. Рейнеке и соседних островов не отличалось от состояния вод внутренних районов Амурского залива, и вода не оказывала токсичного влияния на мизид до завершения 96-часовых опытов. Учитывая условия биотестирования и температурный режим, отсутствие достоверных различий смертности рачков в тестируемых пробах говорит о хорошем качестве вод в период исследований и отсутствии достоверных негативных последствий загрязнения для мизид.

Таблица. Гибель мизид (%) при биотестировании вод Амурского залива

Дата	Виды мизид	Условно-фоновый внешний район	Внутренний более загрязненный район
2007, июнь, июль*, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i>	6.7±0.0 (6.7–6.7) ²	13.3±4.7 (6.7–26.7) ²
	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	36.7±3.4 (33.3–40.0) ²	70.0±3.3 (66.7–73.3) ²
2008, июнь, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i>	26.7±5.8 (26.7–26.7) ³	56.7±5.8 (46.7–66.7) ³
	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	3.4±3.4 (0.0–6.7) ³	3.4±3.4 (0.0–6.7) ³
2009, июль	<i>Neomysis mirabilis</i>	44.5±5.5 ²	63.4±6.3 (46.7–76.7) ²
2010, июль, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i>	31.1±5.9 (20.0–40.0) ³	33.4±6.7 (26.7–40.0) ³
	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	53.3±6.7 ²	83.3±3.4 (75.0–91.7) ²
2011, июнь, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	20.0±6.7 ²	29.2±3.3 (25.0–33.3) ²
	<i>Neomysis mirabilis</i>	26.7±6.7 (20.0–33.3) ³	36.7±3.4 (33.3–40.0) ³
2012, июнь, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	26.7±6.7 (20.0–33.3) ²	50.0±16.7 (33.3–66.7) ²
	<i>Neomysis mirabilis</i>	13.3±3.4 (6.7–20.0) ²	16.7±3.4 (13.3–20.0) ²
2013, июнь, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	52.8±6.7 (40.0–66.7) ²	63.4±5.8 (60.0–66.7) ²
	<i>Neomysis mirabilis</i>	44.4±5.7 (33.3–61.1) ¹	47.4±6.7 (33.3–61.1) ¹
2014, июнь, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	61.1±11.2 (55.5–66.7) ³	63.9±3.1 (50.0–77.8) ³
	<i>Neomysis mirabilis</i>	33.3±5.7 (27.8–44.4) ³	24.1±1.8 (22.2–27.8) ³
2015, июнь, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	41.7±8.3 (33.3–58.3) ²	69.4±5.7 (58.3–75.0) ²
	<i>Neomysis mirabilis</i>	31.5±3.3 (27.8–38.9) ³	39.7±4.3 (38.9–40.0) ³
2016, июнь, июль, август	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	38.9±3.4 (33.3–50.0) ²	69.4±6.7 (58.3–75.0) ²
	<i>Neomysis mirabilis</i>	1.9±1.80 (0.0–5.6) ³	1.9±1.80 (0.0–5.6) ³
	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	40.0±3.9 (33.3–46.7) ²	71.1±9.7 (53.3–86.7) ²
		64.0±3.0 (58.3–67.7) ²	64.0±7.4 (50.0–75.0) ²

Примечания: 1 – 48-часовая экспозиция; 2 – 72-часовая экспозиция; 3 – 96-часовая экспозиция. * – Достоверное различие между гибелью мизид в условно-фоновых и загрязненных районах.

В июле смертность рачков в тестируемых пробах из внутренних районов была в среднем на 30% выше, чем в воде из островного района, однако достоверную токсичность выявили лишь для пробы, отобранной у м. Створного, в направлении которого, вероятно, произошел вынос нефтяных углеводородов после их разлива в б. Золотой Рог. В августе 2016 г. смертность мизид в тестируемых пробах из островного района в среднем не отличалась от показателей, рассчитанных для внутренних акваторий.

Основные гидрохимические показатели во внутренней и внешней зоне района исследования, характеризующие состояние прибрежных вод, продолжают заметно отличаться. Тем не менее, межгодовая изменчивость содержания растворенного в поверхностном слое вод кислорода в период биотестирования была незначительной как в загрязненном, так и в условно-фоновом районах залива. Температурный режим, насыщение кислородом и отмечаемое опреснение вод внутреннего района не оказывали существенного воздействия на качество вод. Поэтому ускоренная гибель тест-объектов в пробах воды из акваторий у центральной части г. Владивостока, вероятно, связана с повышенными концентрациями поллютантов.

Подводя итог биотестированию вод, необходимо отметить что в последние годы в Амурском заливе сохраняются признаки улучшения экотоксикологической обстановки по сравнению с ситуацией до 2009 г., вероятно, из-за снижения загрязнения. Однако происходящие периодически кратковременные, но значительные повышения загрязнения после залповых сбросов, приводят к снижению качества вод в этих районах и гибели высокочувствительных гидробионтов. Следовательно, последствия загрязнения залива нуждаются в регулярной экотоксикологической оценке. В рамках комплексных исследований для решения вопросов рационального природопользования необходимо продолжить биодиагностику состояния локальных условий и ресурсов.

Список литературы

1. Черкашин С.А., Вейдеман Е.Л. Экотоксикологический анализ состояния прибрежных экосистем залива Петра Великого (Японское море) // Вопросы рыболовства. 2005. Т. 6. №4(24). С. 637–652.
2. Лукьянова О.Н., Черкашин С.А., Симоконов М.В. Обзор современного экологического состояния залива Петра Великого (2000–2010 гг.) // Вестник ДВО РАН. 2012. № 2. С. 55–63.
3. Черкашин С.А. Биотестирование: терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсикологии // Изв. ТИНРО. 2001. Т. 128, ч. III. С. 1020–1035.
4. Черкашин С.А., Блинова Н.К. Экспериментальные исследования токсичности фенола для ракообразных (обзор) // Гидробиол. журн. 2013. Т. 49, № 3. С. 61–74.
5. Пряжевская Т.С., Черкашин С.А. Влияние меди на выживаемость мизид *Neomysis mirabilis* и *Paracanthomysis sp.* (Crustacea: Mysidacea) // Изв. ТИНРО. 2014. Т. 177. С. 219–226.
6. Holdway A.D. The acute and chronic effects of wastes associated with offshore oil and gas production on temperate and tropical marine ecological processes // Mar. Poll. Bull. 2002. V. 44. P. 185–203.
7. Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.: Росрыболовства, 2009. 124 с. (утверждены приказом Росрыболовства от 4 августа 2009 г. № 695).

ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЖАБР САЗАНА (*CYPRINUS CARPIO L.*) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАТА СВИНЦА

Н. Г. Рагимова

*Институт физиологии им. А. И. Караева НАН Азербайджана
AZ1100, г. Баку, Азербайджан, nushabaragimova@gmail.com*

В работе исследовано воздействие LC₅₀96 ацетата свинца на жабры сазана (*Cyprinus carpio L.*). Выявлены пролиферативные, циркуляторные и некротические нарушения. Полученные структурные изменения носят адаптивно-защитный характер.

По степени воздействия на живые организмы свинец относится к классу высокоопасных веществ. Его опасность определяется значительной токсичностью и способностью накапливаться в организме, проявлением канцерогенных и мутагенных свойств. При повышенном содержании свинца в водной среде возникает опасность его проникновения в организм водных животных, в частности рыб через жабры, чешую, заглатывание зараженной воды, что может привести не только морфофункциональным и биохимическим изменениям, но и стать причиной высокой смертности. Первоначальное действие тяжелых металлы оказывают на тканевом и клеточном уровнях, которое можно идентифицировать во внешних проявлениях и в поведении рыб. Жабры рыб выполняют ряд жизненно важных функций, таких как дыхание, осморегуляция, кислотно-щелочной баланс [1]. Они чувствительны к каким-либо изменениям в составе воды, поскольку имеют большую поверхность для прямого контакта с окружающей средой и тем самым служат хорошим индикатором на присутствие в ней поллютанта [2]. Источниками поступления тяжелых металлов в водоемы могут быть природные факторы, это эрозийные процессы и техногенные факторы, связанные с деятельностью сельского хозяйства, движения транспорта, сжигание топлива, добыча и переработка полезных ископаемых. Сазан является одной из распространенных промысловых рыб Каспия. В настоящее время во многих рыбоводческих хозяйствах Азербайджана сазан выращивается до товарного веса и часто используется в качестве модели в токсикологических исследованиях. Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы было исследование воздействия среднетелетальной концентрации при 96 ч экспозиции (LC₅₀96) ацетата свинца (Pb²⁺) на жабры сазана.

Работа была проведена на 114 экземплярах молоди сазана (*Cyprinus carpio L.*), выращенных на Хыллинском рыбоводном заводе (Нефчалинский район Азербайджана). Возраст подопытных рыб был 6 месяцев, длина 13.6 ± 0.6 см, вес 30 ± 3.7 г. Для акклиматизации к лабораторным условиям рыбы в течение 10 дней содержались в ваннах, в которых постоянно поддерживалась аэрация воды. Среднесуточная температура воды составляла 18 ± 1°C. До самого начала экспериментов рыб кормили два раза в день. С началом экспериментов кормление было прекращено. После периода акклиматизации для определения LC₅₀ были взяты по 10 рыб на 10 произвольных концентраций Pb²⁺. Число погибших рыб регистрировалось каждые 24 часа. С помощью метода пробит-анализа были установлены LC₅₀ 24ч, 48ч, 72ч и 96 ч. LC₅₀ 96 Pb²⁺ соответствовала 800 мг/л. Для продолжения исследования были взяты две группы рыб по 7 особей. Первая группа была контрольной, где рыбы содержались в чистой воде. Ко второй группе относились рыбы, которые находились в воде, содержащей 800 мг/л. Pb²⁺. На четвертые сутки эксперимента брались жабры с первой жаберной дуги и подвергались фиксации в 4% нейтральном формалине. Для дальнейшей обработки образцы жабр обезжизнялись в спиртах восходящей крепости (50; 70; 96 и 100 °) и смесях – хлороформа со спиртом и парафином. Заливка в парафин производилась по стандартной процедуре. Изготовленные парафиновые блоки резались на роторном микротоме «LEICA RM 2245». Толщина срезов составляла 7 мкм. Депарафинирование срезов проводилось через ксилол и спирты нисходящей крепости. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином и заключались в канадский бальзам. Полученные таким образом препараты изучались под световым микроскопом NU-2 (Karl Zeiss, Jena) и фотографировались цифровой камерой "Canon" G-9.

Результаты проведенного исследования с использованием пробит анализа позволили установить для сазана LC₅₀ 96 Pb²⁺, которая оказалась равной 800 мг/л. Выше (3000 мг/л) значение LC₅₀ 96 Pb²⁺ было выявлено для линя (*Tinca tinca*) [3], в то время, как для нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*) оно составляло 124.5 мг/л [4]. Большая вариабельность LC₅₀ 96 Pb²⁺ у рыб может быть следствием видовой специфичности в ответ на воздействие поллютанта. Однако, не исключено, что причина подобной вариабельности скрывается в качестве воды. Такие факторы, как соленость, жесткость, pH, температура воды, играют важную роль в определении токсического эффекта свинца [5]. В частности, с увеличением жесткости воды от 60 до 720 мг/л CaCO₃ LC₅₀ 96 Pb²⁺ для сазана (*Cyprinus carpio*) увеличивается от 82 до 1291 мг/л.

Результаты гистологического исследования показали, что в жабрах контрольных рыб видимых изменений не наблюдалось.

На четвертые сутки воздействия среднетелетальной концентрации свинца в жаберном аппарате сазана были установлены отслоение респираторного эпителия (рис.1) гиперплазия межламеллярного эпителия (рис. 2), телеангиэктазия (рис. 3) и дилатация сосудов первичных и вторичных ламелл, гемморагия первичных ламелл, некроз вторичных ламелл (рис. 4). Похожие данные гистопатологического эффекта свинца на жабры были получены и на других видах рыб [6, 7]. Выявленные в жабрах структурные изменения носят адаптивно-защитный характер. Гиперплазия межламеллярного эпителия и отслоение респираторного эпителия являются реакцией жаберного аппарата в ответ на воздействие ацетата свинца, адаптивная роль, которой заключается в увеличении диффузного барьера между окружающей средой и кровью. В результате происходит предотвращение или снижение попадания поллютанта в организм. Телеангиэктазия, дилатация сосудов первичных и вторичных ла-

мелл, гемморагия в первичных ламеллах, обусловлены неполноценностью сосудистого эпителия и нарушением стенки сосуда в результате непосредственного попадания свинца на ткань жабр. Показателем более глубокого токсического воздействия свинца является некроз вторичных ламелл. Олонжо Е.А. и др. [7] показали, что у африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) некроз вторичных ламелл вызывают даже хронические концентрации свинца [7].

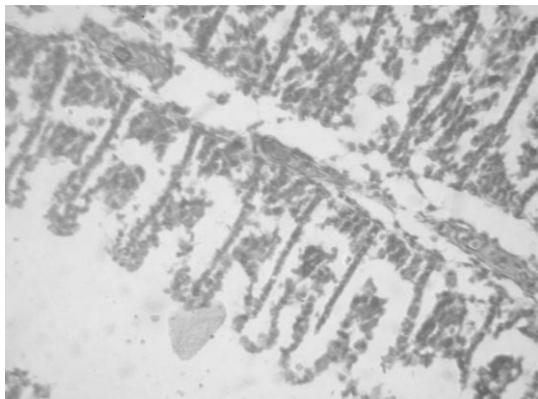


Рис. 1. Отслоение респираторного эпителия, х625.

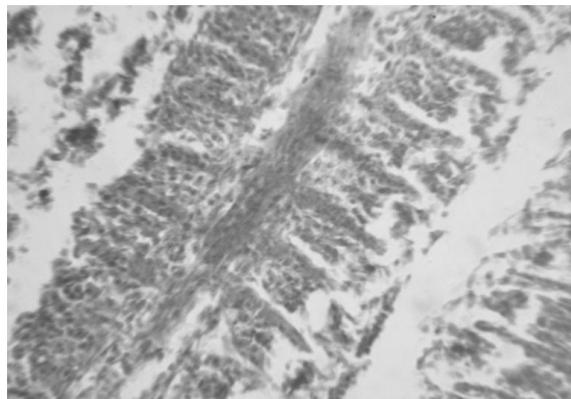


Рис. 2. Гиперплазия межламеллярного эпителия и дилатация сосудов первичных и вторичных ламелл, х625.

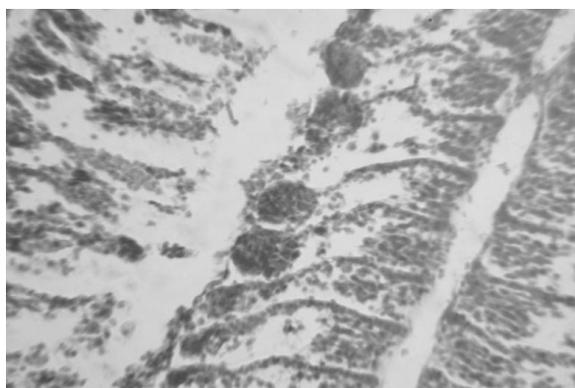


Рис. 3. Телеангиэктазия, х625.

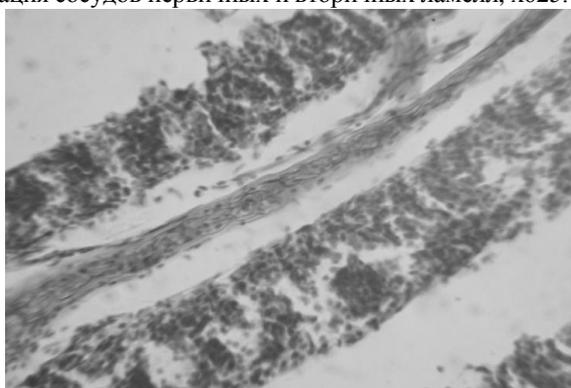


Рис. 4. Некроз вторичных ламелл, х625.

Таким образом, результаты исследования гистопатологического воздействия $LC_{50}96 Pb^{2+}$ позволили выявить пролиферативные, циркуляторные и некротические изменения в организации жаберного аппарата сазана, что может стать причиной подавления респираторной функции жабр и нарушения сопряженного с ней кислотно-щелочного и ионообменного баланса.

Список литературы

1. Evans D.N. The fish gill: site of action and model for toxic effect of environmental pollutants // J. Environmental Health Perspectives. 1987. V. 71. P. 47–58.
2. Figueiredo-Fernandes A., FerreiraCardoso J.V. Garsiya–Santos S., Monteiro S.M. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nila tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper// Pesqui. Vet. Bras. 2007. V.27. № 3. P. 103–109.
3. Shah S.L. Hematological parameters in tench *Tinca tinca* after short exposure to lead // J. Appl. Toxicol. 2006. V. 26. № 3. P. 223–228.
4. Al-Akel A.S., Shamsi J.K. A comparative study of the toxicity of lead and its impact on the carbohydrate metabolism and some hematological parameters of cichlid fish *Oreochromis niloticus* and catfish *Clarius gariepinus* from Saudi Arabia // Toxicol. Environ. Chem. 2000. V. 74. № 1–2. P. 19–28.
5. Datta S., Das R.C. Influence of some abiotic environmental factors on acute toxicity of inorganic lead to *Cyprinus carpio* var *communis* and *Catla catla* in simulated toxic aquatic environment // Toxicol. Environ. Chem. 2003. V.85. № 4–6. P. 203–219.
6. Chavan V.R., Muley D.V. Effect of heavy metals on liver and gill of the fish *Cirrhinus mrigala* // Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2014. V. 3. № 5. P.277–288.
7. Olojo E.A.A., Olurin H.B., Mibaka G., Oluwemino A.D. Histopathology of the gill and liver tissues of the African catfish, *Clarias gariepinus* to lead // Afr. J. Biotechnol. 2005. V. 4. № 1. P. 117–122.

ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ Р. БОЛЬШАЯ САРАПУЛКА (УДМУРТСКАЯ РЕСПУБЛИКА)

Ю. В. Разумова¹, Н. В. Холмогорова¹, Г. А. Пастухова¹, И. И. Томилина²

¹ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»
426034, г. Ижевск, Россия, Sport0Girl-1@yandex.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742, пос. Борок, Россия

Проведено исследование малой реки Б. Сарапулка (приток р. Камы) методами биоиндикации по организмам макрозообентоса и биотестирования на *Chironomus riparius*, *Ceriodaphnia affinis*, *Lepidium sativum*. Токсичность донных отложений не выявлена. Биоиндикация показала ухудшение состояния реки от истоков к устью.

В последнее десятилетие значительно возрос интерес к альтернативным подходам в оценке состояния природной среды в условиях антропогенного загрязнения, таким, как токсикологическая и биологическая оценка воздействия загрязняющих веществ на биоценозы водоемов. Донные отложения (ДО) играют роль аккумуляторов загрязняющих веществ, в том числе наиболее опасных и токсичных - тяжелых металлов, полициклических ароматических углеводородов, пестицидов, полихлорированных бифенилов, нефтепродуктов и др. Химический состав грунтов, в отличие от водной среды, несет информацию о природной и техногенной составляющей загрязнения за длительный период времени. При определенных условиях, приводящих к изменению гидродинамической обстановки, состава и свойств воды и других факторов, они могут стать источником вторичного загрязнения водного объекта, биоты и ландшафтов. Кроме того, ДО являются средой обитания многочисленных классов бентофауны, и накопление токсичных загрязняющих веществ может привести к изменению их видового состава и нарушению трофической цепи биоценоза. Экологическая оценка донных сообществ позволяет получить интегральную оценку состояния водной среды, вызванную действием присутствующих в ДО загрязняющих веществ.

Река Большая Сарапулка протекает по территории Удмуртской Республики, в районе города Сарапула и является правым притоком реки Кама. Берет своё начало к северо-западу от деревни Сундуково Малопургинского района. Длина реки – 46 км, площадь бассейна – 382 км². Средний расход воды составляет 1.14 м³/с, расход межени – 0.19 м³/с. Ширина русла в нижнем течении достигает 10 м, средний уклон – 2.6 м/км, скорость течения в средней и нижней части – 0.7 м/с [1]. Река не судоходна, используется для хозяйственно-бытовых нужд, рыболовства, рекреации. Основными загрязнителями вне города являются сельскохозяйственные стоки, в черте города – кожевенный завод, бывший шпалозавод (мусор от производства, смола, опил, битумная пропитка), кондитерская фабрика, бытовой мусор и стоки с городской территории.

Цель работы оценить загрязнение ДО р. Б. Сарапулка и их эколого-токсикологическое состояние методами биотестирования и биоиндикации.

Сбор макрозообентоса проводился в 2012-2013 гг. на 10 станциях в июне, июле и августе, донных отложений – в мае 2017 г. на 9 станциях по общепринятым методикам [2]. Для сборов макрозообентоса и донных отложений использовался гидробиологический скребок. Всего отобрано 9 образцов грунта и 118 проб макрозообентоса.

Долю органических веществ в ДО определяли озолением в муфельной печи при температуре 900 °С. Определение тяжелых металлов проводили в лаборатории почвенной экологии УдГУ на атомно-абсорбционном спектрофотометре «КВАНТ – З.ЭТА – Т» по 4 элементам: Mn, Zn, Fe, Ni. Для оценки состояния водотоков использовали гидробиологические показатели: индекс видового разнообразия Шеннона–Уивера, выравненность по Пиелу [3], индекс сапробности по Пантле и Букку в модификации Сладчека и биотический индекс Вудивисса.

Биотестирование водной вытяжки донных отложений (ВВДО) и цельного грунта проводили в лаборатории физиологии и токсикологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. В качестве тест-объектов использовали организмы различной систематической принадлежности: личинок комара-звонца *Chironomus riparius* Meigen, 1803, ветвистоусых ракообразных *Ceriodaphnia dubia (affinis)* Richard, 1894 и семена кресс-салата *Lepidium sativum* L.

Эксперименты проводили по стандартным методикам в двух повторностях при температуре 20 ± 2 °С, рН 7.0-7.5, общей жесткости 4.0-4.5 мМэкв/л Са²⁺ и Mg²⁺ и содержании растворенного кислорода на уровне насыщения. Контролем во всех экспериментах служили интактные тест-организмы, содержащиеся в лабораторных условиях. Критерий токсичности для хирономид – смертность, изменение линейных размеров; цериодафний – смертность, плодовитость; кресс-салата – всхожесть семян, изменение длины корня и побегов.

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок (x±SE). Результаты обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excell и STATGRAPHICS Plus 2.1.

Содержание органических веществ в ДО варьировало от 3.32 до 14.27 % в верхнем течении реки, за счет образовавшейся запруды выше д. Сундуково. Концентрации тяжелых металлов в ДО возрастали с увеличением доли органического вещества (p < 0.05). Выявлены фоновые уровни содержания цинка, железа и никеля и более высокие концентрации марганца.

При биотестировании цельного грунта установлено, что самый высокий процент гибели личинок хирономид наблюдали на ст. 7 (г. Сарапул, выход из обводного канала) (табл. 1). Для остальных станций этот показатель достоверно слабо отличался от контрольного, на ст. 3 (п. Дубровка, верхнее течение), 5 (г. Сарапул, СНТ

«Пищевик») и 8 (0.5 км выше устья) – был сопоставим с контролем. В тоже время при биотестировании исследованных грунтов отмечено достоверное по сравнению с контролем повышение темпов роста тест-организмов, за исключением ст. 1 (истоки, д. Сундуково) и 6 (г. Сарапул).

Таблица 1. Токсичность донных отложений р. Б. Сарапулка для гидробионтов различной систематической принадлежности

Станции	Цельный грунт, тест-объект <i>Chironomus riparius</i>		ВВДО, тест-объект <i>Ceriodaphnia affinis</i>	
	Показатели, % от контроля		Показатели, % от контроля	
	Выживаемость, за 14 суток	Изменение длины	Выживаемость за 8 суток	Плодовитость, среднее кол-во молоди на 1 самку
1	89.8	98.79	0	16.6
2	98.8	123.76	70	59.8
3	100.0	136.19	70	39.2
4	98.8	129.89	30	61.7
5	100.0	138.01	30	42.5
6	99.4	95.96	40	70
7	88.0	135.13	30	45.8
8	100	138.14	70	78.3
9	94.4	136.45	100	140

Примечания: здесь и далее жирным шрифтом выделены станции, в ДО которых обнаружена токсичность.

При биотестировании ВВДО на цериодафниях было выявлено нарушение двигательной активности рачков в пробе со ст. 1 (д. Сундуково), а также 100% гибель рачков и частичная гибель потомства. Среднее количество молоди на 1 самку составляло 16.6% т контроля. Возможно токсический эффект связан с повышенным содержанием в грунте железа 6225 мг/кг и марганца 1169.5 мг/кг. Однако эти металлы имеют естественное происхождение: высокое содержание железа связано с накоплением глинистых минералов, а повышенное содержание марганца характерно для почв Удмуртии.

При биотестировании ВВДО и цельного грунта на семенах кресс-салата *Lepidium sativum* установлено, что процент всхожести семян на всех станциях менялся незначительно и практически не отличался от контрольных значений. Установлены достоверные отличия в средних показателях длин корней и побегов, как между станциями, так и в сравнении с контрольными значениями. На всех станциях зарегистрированы более высокие показатели изменения биомассы и длины корня кресс-салата, чем в контроле. Только в районе п. Дубровка (пригород Сарапула) и в устье реки отмечена токсичность цельных ДО по показателю длина побега (табл. 2).

В составе макрозообентоса зарегистрировано 126 видов и таксонов более высокого систематического ранга. Ведущей по видовому составу группой являются моллюски (27 видов) и жуки (23 вида). Также выявлено 17 видов двукрылых, 18 – ручейников, 11 – кольчатых червей, 12 – поденок, 7 – стрекоз, 6 – клопов, 1 – ракообразных. Максимальное число видов (76) было отмечено на песчано-илистых грунтах. Видовое богатство постепенно сокращалось от истоков к устью за счет смены реофильных сообществ лимнофильными и воздействия городской среды. Наибольшая плотность макрозообентоса отмечена на глинисто-илистых, а биомасса на песчано-каменистых грунтах [4].

Диапазон изменения индекса Шеннона за 2 года составил от 0.57 бит/экз до 2.3 бит/экз, выравненности от 0.21 до 0.79. Минимальные средние показатели индекса Шеннона отмечаются на станции № 10 (устье, г. Сарапул), здесь сообщество макрозообентоса было представлено 13 видами, преобладал по численности олигохетно-тубифицидный комплекс (табл.3). Отмечена положительная корреляция между показателями индекса Шеннона и скоростью течения ($r_s = 0.41$; $n = 60$; $p < 0.001$), так как число оксифильных организмов (личинки ручейников, подёнок и веснянок) на течении возрастает.

Таблица 2. Токсичность донных отложений р. Б. Сарапулка по кресс-салату

Станции	<i>Lepidium sativum</i>					
	Показатели, % от контроля					
	ВВДО			Цельный грунт		
	Всхожесть семян	Длина корня	Длина побега	Всхожесть семян	Длина корня	Длина побега
1	94.4	115.62	98.12	97.8	161.43	115.36
2	100.0	134.04	96.39	95.6	173.13	82.85
3	100.0	140.52	94.19	97.8	147.43	70.51
4	92.3	123.48	103.3	94.5	201.27	120.62
5	94.4	117.81	107.47	94.5	161.98	94.18
6	97.8	120.54	99.28	98.8	201.84	117.27
7	98.8	122.48	97.29	90.1	159.68	99.69
8	96.7	147.56	91.13	97.8	138.52	105.79
9	100.0	130.03	100.95	90.1	134.87	74.06

Показатели биотического индекса Вудивисса менялись от 1 до 8, что соответствует качеству воды от «чистой» до «грязной». Средние показатели варьировали от 2.67 до 5.50, т.е. от загрязненных вод в устье реки до чистых в верхнем и среднем течении (табл. 3).

По индексу сапробности качество воды изменялось от β -мезосапробной зоны (умеренно загрязненная) в верхнем и среднем течении до α -мезосапробной (грязная) в нижнем течении. В 2013 г. одна станция реки (поселок Уральский) относилась к олигосапробной зоне. Среднее число видов макрозообентоса в пробе также уменьшалось от истоков к устью.

По результатам биотестирования отмечено, что совпадение результатов по трем тестам на разных организмах не выявлено ни на одной из 9 станций. Таким образом, можно заключить, что донные отложения р. Б. Сарапулка в общем не являются токсичными, и не могут на данный момент являться причиной вторичного загрязнения водной составляющей реки.

Таблица 3. Результаты биоиндикации загрязнения реки Б. Сарапулка по организмам макрозообентоса (усреднённые показатели)

№ станции от истоков к устью	Индекс Шеннона, бит/экз	Выравненность	Индекс сапробности по Пантле-Букку	Биотический индекс Вудивисса	Число видов в пробе
1	2.11	0.77	2.05	4.67	14.00
2	2.31	0.90	2.19	5.33	12.33
3	1.97	0.75	1.98	5.50	9.33
4	1.85	0.63	2.07	5.33	11.33
5	1.64	0.77	1.92	5.00	9.67
6	1.86	0.90	2.37	4.00	7.33
7	1.36	0.77	3.27	3.00	5.67
8	1.88	0.83	2.68	4.67	9.33
9	0.75	0.50	3.23	3.00	3.00
10	1.49	0.90	3.08	2.67	5.00

Биоиндикация по организмам макрозообентоса показала ухудшение состояния реки от истоков к устью: сокращается число таксонов, снижаются показатели индекса Шеннона и Биотического индекса Вудивисса, показатели индекса сапробности возрастают.

Вероятно, что причиной несовпадения результатов, полученных различными методами биологического анализа, может служить как невысокая степень антропогенного загрязнения донных отложений реки Б.Сарапулка, так и разные периоды проведения исследований. Методы биоиндикации и биотестирования взаимно дополняют, но не заменяют друг друга, поэтому, как правило, их используют совместно для оценки экологического состояния водного объекта.

Список литературы

1. Удмуртская республика: Энциклопедия. Ижевск: Удмуртия, 2000. 24с.
2. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: Зообентос и его продукция / Под ред. Ю.А. Барулина. Л.: ГосНИОРХ, 1984. 51 с.
3. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 181 с.
4. Холмогорова Н.В., Пастухова Г.А. Макрозообентос реки Большая Сарапулка (Удмуртская Республика) // Вестник УдГУ. Сер. Биологическая. Т. 27. Вып. 2, 2017. С. 199–206.

ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИБРЕЖНЫХ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ (НА ПРИМЕРЕ БУХТ СЕВАСТОПОЛЯ)

И. И Руднева

*Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
299011, г. Севастополь, Россия, svg-41@mail.ru*

В статье рассмотрены основные принципы экотоксикологического мониторинга морской среды и их применение с использованием рыб прибрежных районов Черного моря.

В последнее время анализ последствий загрязнения морской среды не только не утратил своей значимости, но и приобрел еще большую актуальность. Это обусловлено тем, что, с одной стороны, хозяйственная деятельность людей направлена на улучшение качества их жизни в результате разработки и внедрения новых технологий, но, с другой стороны, их применение постоянно создает дополнительные опасности для окружающей среды. Особое внимание привлечено к прибрежным акваториям морей и океанов, где проживает почти два миллиарда человек [1]. Однако, оценка экологического состояния прибрежных морских экосистем имеет определенные трудности. К ним, в частности, следует отнести их пространственную и временную изменчивость, синергические и кумулятивные эффекты и процессы, наличие нескольких путей (прямых и непрямых) действия комплекса загрязнителей [2].

Хозяйственная деятельность населения, включающая промышленность, сельское хозяйство, рыболовство, марикультуру, туризм, разработку нефтяных и газовых месторождений, коммунальную инфраструктуру, транспорт, оказывает значительное влияние на морскую среду, в том числе Черного моря. Активная эксплуатация человеком водных ресурсов неизбежно приводит к загрязнению тяжелыми металлами, биогенами, нефтью

и нефтепродуктами, радионуклидами, пестицидами, хлор- и фосфорорганическими соединениями и, как следствие, к ухудшению качества среды и истощению ее запасов. В ближайшем будущем урбанизация побережья морей и океанов будет расти и сопровождаться усилением антропогенной нагрузки на приморские акватории. Это может привести к деструкции морских экосистем, характеризующейся переловом рыбы, загрязнением вод, вторжением вселенцев, развитием процессов эвтрофикации, изменением климата. Помимо этого, в этих районах неизбежны природные и техногенные катастрофы, связанные с авариями на очистных сооружениях, морском транспорте, газо- и нефтепроводах. Прогнозируется и возникновение конфликтов, обусловленных национальными и геополитическими причинами.

Для анализа состояния морской среды экотоксикологический подход представляет наибольшую ценность, так как позволяет дать комплексную диагностику статуса морских акваторий, разработать систему оценки экологического риска, определить опасность для здоровья человека ее ресурсов, разработать мероприятия по восстановлению экосистем и устранить опасные факторы [3]. В этом отношении рыбы являются наиболее важными объектами, так как относятся к позвоночным и занимают вершину трофической цепи. Находящиеся в среде загрязнители попадают в организм рыб и аккумулируются в тканях, что вызывает развитие ранних биологических эффектов, проявляющихся в основном на молекулярном и клеточном уровнях. Накопление этих изменений приводит к нарушению структуры или функций органов, тканей и систем, затем через определенное время развиваются патологии и морфологические аномалии и дефекты. Экотоксикологическая оценка предполагает изучение комплекса подобных изменений с применением соответствующих биоиндикаторов и биомаркеров.

Информация об ответных реакциях биоты на действие комбинированного загрязнения, обусловленного хозяйственной деятельностью, крайне недостаточна. Особенно это касается механизмов защитных реакций, лежащих в основе развития толерантности (устойчивости) организма к действию неблагоприятных факторов и возможности защищаться от них. Физиолого-биохимические изменения, происходящие в организме под действием комплексного антропогенного воздействия, остаются до конца неясными. В связи с этим получение данных о влиянии разных видов деятельности человека и их последствиях для живой природы является важнейшей и приоритетной задачей современной экологии в целом и гидробиологии частности. Разработка методов и поиск индикаторов, характеризующих состояние среды обитания с использованием характерных параметров здоровья обитающих в этой среде организмов, является актуальным направлением, которое активно поддерживается во всем мире. Использование биомаркеров в этом случае позволяет получить адекватную информацию о состоянии организмов и их местообитаний, в том числе для определения экологического риска.

В настоящее время применение биомаркеров для анализа экологической ситуации акваторий узаконено в международных и национальных мониторинговых программах: в Международной программе по химической безопасности ВОЗ (IPCS), Агентством по охране окружающей среды США, Европейской Комиссией и Организацией экономического сотрудничества и развития для разработки интегральной оценки риска для человека и среды его обитания. Биомаркеры внедрены в мониторинговые программы в Северной Америке, Европе, Австралии и Новой Зеландии. Однако, подобная практика не использована в мониторинговых программах оценки экологического состояния прибрежной части Черного моря и его биоресурсов, включая рыб. В связи с этим остро стоит проблема разработки соответствующих экотоксикологических программ, адаптированных к морской среде в новых условиях глобальных и локальных изменений, в том числе Черноморской экосистемы вблизи крупных городов с развитой сложной инфраструктурой. Важной тенденцией, наметившейся в последнее время в морских экотоксикологических исследованиях, является и анализ последствий антропогенной деятельности в сочетании с естественными процессами, происходящими в экосистеме. Изменение климата и связанные с ними температурные флуктуации в значительной степени модифицируют отклики биоты на загрязнение [4]. При этом анализ литературы 2014–2017 гг. показал, что, параметры окислительного стресса, возникающего в организме под влиянием негативных факторов, в том числе химического загрязнения, продолжают оставаться актуальными [5, 6].

Специфика бухт Севастополя, обусловленная их географическим положением и разным уровнем загрязнения, позволяет понять основные универсальные тенденции антропогенной изменчивости экосистем и особенности протекания процессов в морских акваториях с учетом их природных условий и характера антропогенного воздействия. Исследование биомаркеров рыб, обитающих в разных бухтах города, дает возможность определить основную стратегию и механизмы структурно-функциональных изменений в организме разных видов гидробионтов при адаптации их к условиям антропогенно-трансформированных экосистем.

В тканях морского ерша *Scorpaena porcus*, выбранного в качестве мониторингового вида, (в печени, где происходят интенсивные обменные процессы, включая биотрансформацию ксенобиотиков, поступающих из среды в организм, и в крови – многофункциональной связующей системы, куда прежде всего попадают токсиканты и осуществляется их транспорт к органам и тканям) исследовали биомаркеры – показатели окислительного стресса (содержание ТБК-реактивных продуктов, уровень хемилюминесценции (ХЛ), содержание окисленных модифицированных форм белков (ОМБ)) и параметры, характеризующие состояние защитной антиоксидантной системы (активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПЕР), глутатион-редуктазы (ГР), фермента второй фазы биотрансформации глутатион-S-трансферазы (ГСТ)). Результаты показали, что показатели окислительного стресса в экстрактах печени морского ерша из наиболее загрязненной Стрелецкой бухты значительно превосходили соответствующие параметры в печени рыб из более экологически благополучных бухт Карантинной и Александровской, что свидетельствует об усилении процессов свободнорадикального окисления в организме рыб из сильно загрязненной акватории. Вместе с тем, несмотря на имеющиеся различия природных условий и интенсивности хозяйственной деятельности в бухтах Карантинной и Александровской, это не оказало существенного влияния на величины тестируемых биомаркеров печени морского ер-

ша. Можно заключить, что, несмотря на разную антропогенную нагрузку, условия существования в данных акваториях не вызывали у рыб выраженных негативных реакций.

Рыбы из самой экологически неблагополучной Стрелецкой бухты способны активно противостоять окислительному стрессу, инициированному неблагоприятными условиями среды обитания, путем повышения активности антиоксидантных ферментов в печени. Однако, отклик ферментов антиоксидантной системы в печени рыб, обитающих в бухтах с разным уровнем загрязнения, не был одинаков. Наиболее чувствительной оказалась активность СОД в печени рыб из Стрелецкой бухты, которая была увеличена более, чем в 2 раза по сравнению с соответствующим значением у рыб из б. Карантинной. Такая же тенденция, но выраженная в большей степени, установлена для активности КАТ. В то же время величины активности ПЕР и ГР в печени рыб из трех бухт проявляли одинаковую тенденцию, отличную от двух предыдущих ферментов. Поскольку активность ПЕР сопряжена с активностью ГР, то динамика активности этих двух ферментов в печени рыб из тестируемых акваторий совпала. Весьма показательны величины активности ГСТ, которые возрастали в печени рыб в ряду б. Карантинная → б. Александровская → б. Стрелецкая. Это свидетельствует об интенсивных процессах детоксикации и биотрансформации, происходящих в печени рыб с увеличением уровня загрязнения среды обитания и, следовательно, способности активно адаптироваться к условиям существования.

Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови рыб из трех бухт также была различна, но тенденции были иные, чем в печени. Активность СОД была в 2 раза ниже в крови рыб из б. Стрелецкой, тогда как существенных различий между особями из двух других акваторий не обнаружено. Активность КАТ последовательно снижалась в крови рыб из б. Карантинной, Александровской и Стрелецкой, а активность ПЕР имела сходные значения в крови рыб из трех тестируемых акваторий, активность ГР была увеличена в 2 раза в эритроцитах морского ерша из б. Александровской, а активность ГСТ была снижена почти в 2 раза в крови рыб из наиболее загрязненной акватории. Таким образом, уменьшение активности большинства антиоксидантных ферментов в крови рыб из наиболее загрязненной Стрелецкой бухты свидетельствуют о выраженном токсическом эффекте, который может привести к снижению резистентности морского ерша к действию неблагоприятных условий существования в наиболее загрязненной акватории. Клетки крови в первую очередь испытывают токсическое действие загрязнителей, и в случае их высоких концентраций в среде обитания защитные системы крови не всегда способны обеспечить в полной мере их детоксикацию, которая более эффективно осуществляется в гепатоцитах.

На основании проведенных экотоксикологических исследований морского ерша, выбранного в качестве мониторингового вида, обитающего в прибрежных акваториях Севастополя с разным уровнем антропогенной нагрузки, можно заключить, что популяционные и морфофизиологические параметры морского ерша, отловленного в трех севастопольских бухтах с разной степенью загрязнения, оказались малоинформативными для оценки состояния рыб и среды их обитания. Вероятно, для более детального анализа и последующих выводов о пригодности этих биоиндикаторов в мониторинговых программах следует провести долговременные исследования с выявлением характерных трендов их изменчивости и причин, их вызывающих.

Наиболее информативными биомаркерами, отражающими здоровье рыб в различных бухтах Севастополя, являются параметры, характеризующие степень окислительного стресса. Их величины в печени морского ерша из наиболее загрязненной акватории значительно превосходили соответствующие показатели рыб из менее загрязненных бухт. Особо следует отметить содержание окисленных модифицированных форм белков, характеризующее накопление в организме ОМБ в результате долговременного влияния неблагоприятных условий. Однако, несмотря на то, что антиоксидантные ферменты широко применяются во всем мире в качестве биомаркеров состояния организма и среды его обитания, изменения их активности у рыб, обитающих в бухтах с разным уровнем загрязнения, не были однозначными.

Активность большинства ферментов в печени рыб из самой загрязненной бухты была повышена по отношению к показателям рыб из менее загрязненного района и относительно экологически благополучной акватории, что свидетельствует об активации защитных систем. В эритроцитах крови картина иная: у особей из наиболее загрязненной бухты активность ферментов снижалась, а в крови рыб из менее загрязненной акватории – увеличивалась. Это означает активизацию защитных систем крови рыб при ухудшении условий обитания (б. Александровская), но их истощение при нарастании загрязнения вплоть до экстремальных ситуаций (б. Стрелецкая). Таким образом, при отсутствии существенных изменений на популяционном и организменном уровне морского ерша из тестируемых бухт, исследуемые молекулярные параметры отреагировали на различие условий существования, проявляя при этом тканеспецифический дифференцированный ответ.

На основании наших исследований можно заключить, что программа анализа состояния представителей ихтиофауны севастопольских бухт, которая может быть использована для прогнозирования различных сценариев изменяющейся антропогенной нагрузки на бухты Севастополя, в том числе для разработки критических технологий мониторинга прибрежной части Черного моря, должна состоять из следующих разделов:

1. Анализ ихтиофауны заданной акватории.
2. Выбор биомонитора по рейтинговой системе (приоритет при выборе видов-биомониторов отдается оседлым донным формам, широко распространенным массовым видам с хорошо изученной биологией, доступных для сбора и имеющих относительно крупные размеры).
3. Анализ популяционных и морфофизиологических параметров биомонитора.
4. Выбор и анализ адекватных биомаркеров с учетом их рейтинга и значимости.
5. На основании полученных данных делается заключение о здоровье рыб – биомониторов.
6. По характеру откликов биомаркеров определяется резистентность/чувствительность рыб к действию возможных неблагоприятных факторов среды обитания.
7. Делается заключение о степени антропогенного воздействия на акватории и его последствиях.

В перспективе последующие исследования должны быть направлены на анализ долговременных эффектов комплексного мультифакторного загрязнения морской среды и биоты прибрежных вод Севастопольского региона для выявления многолетних трендов и последствий этих эффектов для ихтиоценозов и других морских ресурсов с использованием многих параметров, полученных разными методами. В прибрежной городской зоне, находящейся в районе сброса коммунальных сточных вод, у рыб развивается окислительный стресс, сопровождающийся увеличением в тканях продуктов ПОЛ и ОМБ, а также активацией антиоксидантной системы. При этом остаются актуальными и изменения морфофизиологических параметров рыб, которые также отражают последствия их жизни в экологически неблагоприятных условиях. В последнее время исследователи стали больше обращать внимания на биологические и экологические особенности тестируемых гидробионтов, от которых во многом зависит характер ответной реакции на действие неблагоприятных факторов. В частности, отклики биомаркеров зависят от естественной активности рыб, пищевого поведения, принадлежности к экологической группе. Кроме того, особый интерес представляет определение наиболее чувствительных биомаркеров к комплексному загрязнению или к конкретному токсиканту.

Для решения этих вопросов необходимо осуществлять поиск новых информативных биомаркеров и биоиндикаторов, имеющих интегральное значение, отражающих наиболее общие процессы в организме, происходящие под действием изменяющихся условий среды, включая антропогенное загрязнение. При этом все большую значимость приобретают работы, направленные на изучение действия на биоту комплексного загрязнения коммунальными стоками, попадающими непосредственно в водную среду вблизи крупных городов [7], включая Севастополь и другие черноморские приморские районы. Это позволит определить характер реагирования организма на разных уровнях его биологической организации с учетом биологических и экологических особенностей видов-биомониторов, их физиологического состояния и возраста в решении поставленных задач, связанных с выявлением биоиндикаторов, отражающих влияние антропогенной нагрузки на рыб и определением стратегии повышения их адаптивного потенциала, что является актуальным, особенно для прибрежной части Черного моря, информация о которой практически отсутствует.

Список литературы

1. The World Health Report 2002. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
2. Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine system // *Marine Pollut. Bull.* 2005. Vol. 51, № 8–12. P. 649–657.
3. Neri-Cruz N., Gómez-Oliván L.M., Galar-Martínez M., del Socorro Romero-Figueroa M., Islas-Flores H., García-Medina S., Jiménez-Vargas J.M., SanJuan-Reyes N. Oxidative stress in *Cyprinus carpio* induced by hospital wastewater in Mexico // *Ecotoxicology*. 2015. V. 24 (1). P. 181–193.
4. Kimberly D.A., Salice Ch.J. Complex interactions between climate change and toxicants: evidence that temperature variability increases sensitivity to cadmium // *Ecotoxicology*. 2014. V. 23 (5). P. 809–817.
5. Stampfli N., Knillmann S., Noskov Y., Schäfer R.B., Liess M., Beketov M.A. Environmental stressors can enhance the development of community tolerance to a toxicants // *Ecotoxicology*. 2014. V. 23(9). P. 1690–1700.
6. Ababouch L. Assuring fish safety and quality in international fish trade // *Marine Pollution Bull.* 2006. Vol. 53. P. 561–568.
7. Fuzinato C.F., Flohr L., Melegari S.P., Matias W. G. Oxidative stress and hypermethylation induced by exposure of *Oreochromis niloticus* to complex environmental mixtures of river water from Cubatão do Sul, Brazil // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015. V. 114. P. 190–197.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ В ПЕРИОД ЦВЕТЕНИЯ СИНЕЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ МЕТОДАМИ ДИСТАНЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ВИДИМОГО ДИАПАЗОНА

Б. Л. Сухоруков^{1,2}, Н. В. Решетняк², Г. Е. Ковалёва^{1,2}

¹ ИОО ИВП РАН, ² ФГБУ «Гидрохимический институт»,
344090, г. Ростов-на-Дону, Россия, bls-phys@yandex.ru

Представлены спектры коэффициентов спектральной яркости (СКСЯ) восходящего от воды излучения в диапазоне длин волн от 420 до 750 нм с разрешением 1 нм. Используя СКСЯ по биооптической модели оценена концентрация фикоцианина фитопланктона. Обсуждено понятие потенциальной токсичности водного объекта (ВО) и перспективы продолжения работы по уточнению модели.

Современная гиперспектральная аппаратура, устанавливаемая на природоресурсных спутниках, позволяет регистрировать спектры яркости водных объектов (ВО) в видимой области с высоким разрешением. Поэтому решение задачи оценки состояния водного объекта по спектральной информации верхнего уровня на базе знаний, полученных на нижнем уровне не только актуально. В этой связи, тем более актуальны работы по детальному изучению информативности СКСЯ нижнего уровня, качество и достоверность результатов которых увеличиваются с появлением современных спектрометров нового поколения.

В настоящем сообщении рассматриваются вопросы мониторинга ВО по трансформированному экосистемой Солнечному излучению, восходящему от воды в видимом диапазоне электромагнитного спектра: пассивный дистанционный мониторинг. К оптически активным (видимым) компонентам традиционно относят минеральные взвешенные и растворенные органические вещества, а также хлорофилл *a* фитопланктона, который

и характеризует фитопланктон в целом. Добавление к списку оптически активных веществ фикоцианина не традиционно и позволяет предложить использование метода дистанционной спектроскопии для оценки токсичности ВО.

Хлорофилл *a* определяет процесс фотосинтеза во всех растительных клетках, присутствует во всех фитопланктонных сообществах, но не менее заметную роль в ассимиляции солнечной энергии играют вспомогательные пигменты фитопланктона: всевозможные хлорофиллы, главные из которых хлорофиллы *b* и *c*, а также фикобилины. Видовое разнообразие фитопланктона, его структурный состав, и определяется наличием в его клетках этих пигментов. В свою очередь, именно пигменты фитопланктона являются компонентами, определяющими селективные свойства восходящего от воды излучения.

Современная спектральная аппаратура позволяет получать СКСЯ одновременно в более, чем 1000 каналах видимого спектра с разрешением около 1 нм в течение 3-5 сек. Наличие таких спектров позволяет уверенно использовать не только хорошо изученную область длин волн, связанную с хлорофиллом *a*, его красным максимумом поглощения около 675 нм, но также уверенно наблюдать изменения величины КСЯ в области около 630 нм, и оценивать содержание фикоцианина. Фикоцианин является пигментом-маркером синезеленых водорослей. Его максимум спектра показателя поглощения находится на длине волны около 630 нм. Следовательно, при интерпретации данных дистанционных спектроскопических измерений появляется дополнительная возможность – наблюдать не только за изменением концентрации хлорофиллом *a*, по которой рассчитывают концентрацию фитопланктона, но также оценивать изменение видового состава фитопланктона. Наличие же в экосистеме синезеленых водорослей позволяет своевременно предсказывать потенциальную токсификацию водного объекта.

Синезеленые водоросли широко распространены в природе. Среди массово разрастающихся в водохранилищах доминируют пять – шесть видов [1]. Все они являются планктонными формами, и в большинстве случаев проявляют токсические свойства. В наших исследованиях в реке Дон обнаружены следующие виды: *Anabaena flos-aque*, *Aphanizomenon flos-aque*, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria*, *Phormidium tenue*, *Gomphosphaeria*, *Merismopedia minima*. В Таганрогском заливе и Азовском море: *Gomphosphaeria lacustris*, *Lyngbya limnetica*, *Merismopedia minima*, *Merismopedia tenuissima*, *Microcystis pulveria*, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria*. В Цимлянском водохранилище были найдены – *Microcystis pulveria*, *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aque*, *Anabaena flos-aque*, *Oscillatoria* (жирным шрифтом выделены токсичные виды).

В работе [2] представлен алгоритм (полуэмпирическая биооптическая модель) расчета концентрации фикоцианина $C_{фц}=f(ПП)$ по КСЯ:

$$C_{фц} = 476.33 * PP_3 + 96.16 \quad (1)$$

где PP_3 – «трехволновой» радиационный параметр, выражаемый через значения КСЯ, ρ_λ , на трех длинах волн следующим образом:

$$PP_3 = [\rho_{629}^{-1} - \rho_{659}^{-1}] * \rho_{724} \quad (2)$$

КСЯ измеряли на нижнем уровне (без использования летательных аппаратов) на прудах аквакультуры с высоким содержанием синезеленых микроводорослей. Одновременно с высокими концентрациями фикоцианина (до 3000 мкг/дм³) в эксперименте наблюдались чрезвычайно высокие концентрации хлорофилла *a*. Измерения проводили спектрометром в области длин волн от 400 до 900 нм с разрешением менее 1 нм.

В настоящей работе проанализированы результаты экосистемных (спектроскопических, выполненных совместно с аналитическим определением химических и биологических показателей в отобранных пробах воды) съемок р. Дон, включая Цимлянское водохранилище и Таганрогский залив Азовского моря, в различные гидрологические сезоны в течение 2010–2016 гг. Выбранный нами массив СКСЯ принципиально отличается от массива СКСЯ, использованного для построения биооптической модели (1). В работе [2] все СКСЯ, использованные для получения алгоритма (1), однородны и, в соответствии с градацией СКСЯ, предложенной в работе [3], относятся к VI категории, гиперэвтрофным ВО, где концентрация хлорофилла *a* больше 100 мкг/дм³, в то время, как СКСЯ экосистемы р. Дон достаточно разнородны и относятся к различным категориям, от II до VI, где концентрация хлорофилла *a* по данным аналитических измерений изменяется от менее 2 до 300 мкг/дм³. Тем не менее, мы использовали модель (1) для оценки $C_{фц}$, понимая ее возможные недостатки.

По СКСЯ рассчитывали концентрации фикоцианина используя модель (1) [2]. Концентрацию хлорофилла *a* определяли в синхронно со спектроскопической съемкой отобранных проб воды стандартным методом [3]. Видовой состав и биомассу фитопланктона определяли в соответствии с [4]. По биомассе рассчитывали долю синезеленых микроводорослей и, в соответствии с работой [1], долю токсичных синезеленых.

В таблице представлены результаты оценки $C_{фц}$ по (1) совместно с результатами аналитического определения $C_{хл-а}$ и отношение $C_{фц}/C_{хл-а}$.

Смысл полученных результатов становится ясным при анализе спектроскопической информации. Разобьем СКСЯ на группы в порядке возрастания $C_{фц}/C_{хл-а}$. На рис. 1а–г представлены СКСЯ четырех групп. Многочисленную группу (рис. 1а) составляют СКСЯ в которых $C_{фц} > 100$. Для этой группы $PP_3 > 0$, т.е. $\rho_{629} < \rho_{659}$, или в СКСЯ наблюдается типичный минимум на длине волны около 630 нм. Отношение $C_{фц}/C_{хл-а}$ находится в диапазоне от 0.7 до 3.07, что соответствует результатам, приведенным в работах [6, 7].

Особо следует выделить СКСЯ, приведенные на рис. 1б. На этом рисунке видно, что СКСЯ удовлетворяет условиям с $PP_3 < 0$, $\rho_{629} > \rho_{659}$, в том случае, если КСЯ измеряют на длине волны 659 нм. Но на спектре КСЯ на длине волны около 630 нм наблюдается отчетливый минимум. Неравенство $\rho_{629} > \rho_{659}$ справедливо для длины волны 659 нм, тогда, как учитывая, что промежуточный максимум СКСЯ находится на длине волны 650 нм неравенство меняет знак $\rho_{629} < \rho_{650}$ что с очевидностью указывает на присутствие в ВО фикоцианина. Соотношение ρ_{min} и ρ_{max} настолько чувствительно к изменению длины волны, на которой проводят измерения, что спек-

тральное разрешение прибора должно быть не более 2 нм. Сдвиг положения канала уже на 9 нм, может давать погрешность в оценке концентрации фикоцианина на 100%. Эта группа СКСЯ дает оценку $96.16 > C_{\text{фц}} > 0$ (мкг/дм³).

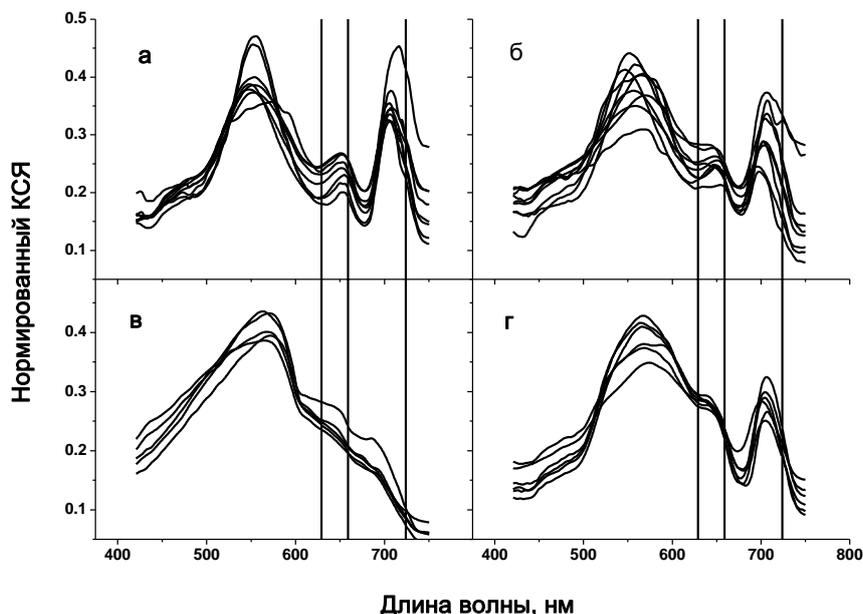


Рис. 1. СКСЯ Нижнего Дона, зарегистрированные в 2010–2016 гг.

а) $C_{\text{фц}} > 100$ мкг/дм³, $RP_3 > 0$, т.е., $\rho_{629} < \rho_{659}$, $0.72 < C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}} < 2.68$; б) $96 > C_{\text{фц}} > 50$ (мкг/дм³), $RP_3 < 0$, $\rho_{629} > \rho_{659}$, $0.92 < C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}} < 5.25$; в) $C_{\text{фц}} < 100$ мкг/дм³, $RP_3 < 0$, $28 < C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}} < 540$; г) $C_{\text{фц}} < 35$ мкг/дм³, $RP_3 < 0$, $-0.79 < C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}} < 0.53$. Вертикальными линиями отмечены длины волн 629, 659 и 724 нм.

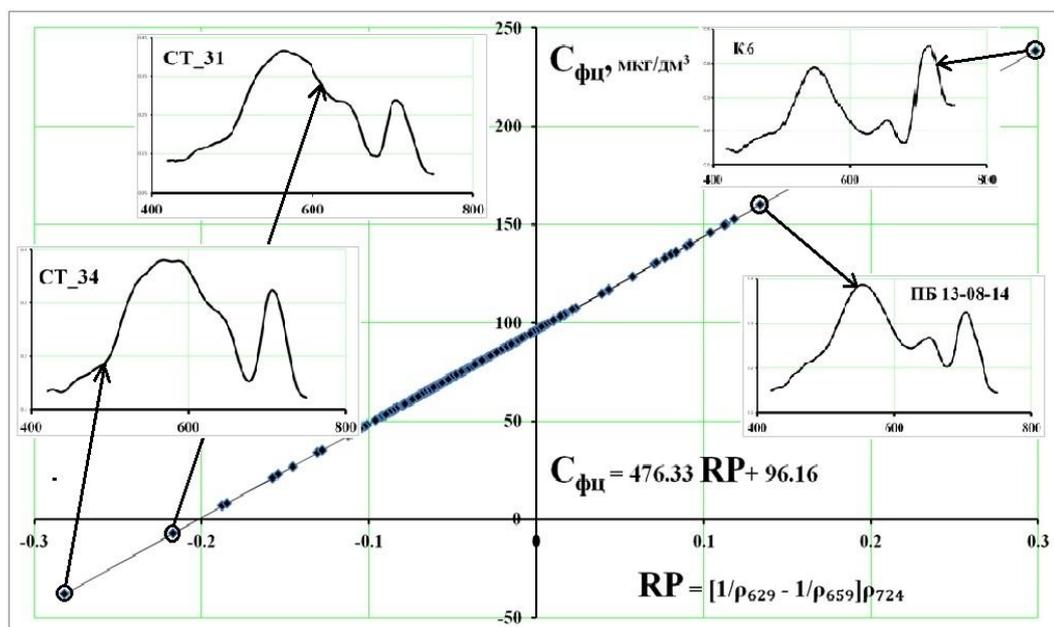


Рис. 2. Уравнение регрессии трёхполосного алгоритма для гиперспектральной аппаратуры по [2].

Смысл полученных результатов становится ясным при анализе спектрометрической информации. Разобьем СКСЯ на группы в порядке возрастания $C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}}$. На рис.1 а-г представлены СКСЯ четырех групп. Многочисленную группу, рис. 1 а, составляют СКСЯ в которых $C_{\text{фц}} > 100$. Для этой группы $RP_3 > 0$, т.е. $\rho_{629} < \rho_{659}$ или в СКСЯ наблюдается типичный минимум на длине волны около 630 нм. Отношение $C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}}$ находится в диапазоне от 0.7 до 3.07, что соответствует результатам, приведенным в работах [6,7].

Особо следует выделить СКСЯ, приведенные на рис. 1 б. На этом рисунке видно, что СКСЯ удовлетворяет условиям с $RP_3 < 0$, $\rho_{629} > \rho_{659}$, в том случае, если КСЯ измеряют на длине волны 659 нм. Но на спектре КСЯ на длине волны около 630 нм наблюдается отчетливый минимум. Неравенство $\rho_{629} > \rho_{659}$ справедливо для длины волны 659 нм, тогда, как учитывая, что промежуточный максимум СКСЯ находится на длине волны 650 нм

неравенство меняет знак: $\rho_{629} < \rho_{659}$, что с очевидностью указывает на присутствие в ВО фикоцианина. Соотношение ρ_{\min} и ρ_{\max} настолько чувствительно к изменению длины волны, на которой проводят измерения, что спектральное разрешение прибора должно быть не более 2 нм. Сдвиг положения канала уже на 9 нм, может давать погрешность в оценке концентрации фикоцианина на 100%. Эта группа СКСЯ дает оценку $96,16 > C_{\text{фц}} > 0$ (мкг/дм³).

Таблица. Концентрация фикоцианина (по модели (1)), хлорофилла *a* фитопланктона, доля синезеленых и токсичных синезеленых в по биомассе фитопланктона [5] в порядке возрастания $C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}}$.

Станции наблюдения, дата (чч-мм-гг)	$C_{\text{фц}}$, мкг/дм ³	$C_{\text{хл-а}}$, мкг/дм ³	$C_{\text{фц}} / C_{\text{хл-а}}$	Синезеленые, %	Токсичные синезеленые, %
Ст_34, 29-03-16	-38.11	48.1	-0.79	н/опр	н/опр
Ст_31, 29-03-16	-7.27	58.1	-0.13	н/опр	н/опр
Ст_15, 29-03-16	6.85	55.16	0.12	7.7	11.7
Ст_12, 30-03-16	22.78	64.69	0.35	0.5	9.1
Ст_20, 29-03-16	26.88	51.6	0.52	н/опр	н/опр
Ст_39, 29-03-16	33.89	64.2	0.53	н/опр	н/опр
ПБ, 13-08-14	114.88	159.44	0.72	н/опр	н/опр
К6, 16-08-10	238.35	294.75	0.81	н/опр	н/опр
Ст_4, 28-06-16	50.45	54.67	0.92	24.3	32
К7, 16-08-10	103.09	106.64	0.97	68.4	5.1
ЛБ, 13-08-14	135.95	131.08	1.04	82	18
Ст_54, 28-06-16	98.19	89.4	1.10	67	81
Е10, 15-08-10	132.78	115.73	1.15	н/опр	н/опр
Т 23, 26-06-13	89.34	68.8	1.30	69	97
Ст_7, 30-06-16	95.75	66.26	1.45	н/опр	н/опр
Т 25, 08-10-11	145.87	93.62	1.56	89	100
К3, 18-08-10	94.53	55.77	1.69	н/опр	н/опр
ЛБ, 16-09-13	42.75	23.71	1.80	4.1	100
Е8, 15-08-10	83.13	42.04	1.98	н/опр	н/опр
Т 23, 08-10-11	129.84	61.02	2.13	59.4	86
Ст_23, 29-06-16	123.63	46.18	2.68	н/опр	н/опр
Ст_21, 29-06-16	64.49	18.45	3.50	70.4	58
ЛБ, 27-08-15	91.14	17.36	5.25	н/опр	н/опр
ПБ, 17-11-11	60.36	2.12	28.47	3	100
ПБ, 28-11-13	58.74	1.7	34.55	50	98
ФВ, 28-02-13	62.12	1.2	51.77	11.7	32
ПБ, 02-07-14	64.46	1.07	60.25	н/опр	н/опр
ПБ, 28-02-13	54.38	0.1	543.75	2.8	64

Примечания: Ст_2–Ст_54 – станции отбора проб, Таганрогский залив, Азовское море. ПБ, ЛБ, ФВ – р. Дон, Западный мост, соответственно правый берег, левый берег фарватер (ФВ). К1–К9 – рукав р. Дон, х. Колузаево. Е1–Е12 – рукав р. Дон, ст. Елизаветинская. Т19–Т69 – станции Росгидромета на Цимлянском водохранилище.

Меньшую группу образуют СКСЯ, приведенные на рис. 1 в, где $C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}}$ изменяется от 28 до 540. В этой группе $C_{\text{фц}} < 100$ за счет того, что $\text{РП}_3 < 0$, т.е. $\rho_{629} > \rho_{659}$ или в СКСЯ отсутствует минимум на длине волны около 630 нм. Это спектры I и II категории, соответствующие олиготрофным и олиготрофно-мезотрофным водным объектам. Для таких ВО характерно малое содержание фитопланктона, что подтверждается данными по $C_{\text{хл-а}}$ и высокие значения $C_{\text{фц}}/C_{\text{хл-а}}$, скорее всего, объясняются «вычислительными эффектами» за счет больших значений коэффициента при РП_3 и свободного члена в выражении (1). По нашему мнению, определение $C_{\text{фц}}$ в спектрах такой формы не имеет смысла.

Еще более обособленную группу СКСЯ составляют спектры, зарегистрированные в Таганрогском заливе Азовского моря, рис 1 г. Эти спектры уникальны тем, что наряду высоким $C_{\text{хл-а}}$ не наблюдается минимума в области 630 нм. Спектры такого типа свидетельствуют о том, что ВО находится в эвтрофно-полиэвтрофном

состоянии, но синезеленых микроводорослей в этот период (конец марта) в экосистеме ВО не наблюдается. Отрицательные и небольшие положительные значения $S_{фц}$ являются «вычислительными погрешностями» модели (1), представленной на рис.2. На этом же рисунке на врезках приведены СКСЯ соответствующие указанным точкам на регрессионной зависимости.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

СКСЯ, со спектральным разрешением не более 2 нм позволяют однозначно идентифицировать наличие в составе фитопланктона синезеленых водорослей и оценивать концентрацию фикоцианина в ВО. Оценка $S_{фц}$ должна проводиться в два этапа. Первый этап – выявление СКСЯ с соотношением $\rho_{630} < \rho_{650}$, что свидетельствует о наличии в составе фитопланктона синезеленых водорослей. Вторым этапом – расчет концентрации фикоцианина. Измерение КСЯ на длине волны 630 ± 2 нм обязательно, тогда, как длина волны $\rho_{мин}$ вблизи 650 нм может быть уточнена для ВО с меняющимся составом фитопланктона.

Получив данные о $S_{фц}$ невозможно однозначно оценивать уровень токсичности водного объекта. Даже при относительно высоком $S_{фц} = 103$ мкг/дм³, (ст. К7 табл.), токсичность может быть незначительна. Но на большинстве станций доля токсичных видов синезеленых велика и может достигать даже 100 % при высоких концентрациях фикоцианина, см. ст. Т25, $S_{фц} = 146$ мкг/дм³, и уровень токсичности ВО становится опасным. Следовательно, оперативная дистанционная оценка концентрации $S_{фц}$ может рассматриваться как величина вероятной или потенциальной токсичности ВО. Учитывая малозатратность, оперативность и обзорность метода, основанного на использовании спектрометрической информации его, после незначительных доработок алгоритма модели, следует рекомендовать к внедрению в практику мониторинга ВО.

Список литературы:

1. Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. Киев: Наукова Думка. 1988. 256 с.
2. Mishra S., Mishra D. R. A novel remote sensing algorithm to quantify phycocyanin in cyanobacterial algal blooms // Environ. Res. Lett. 9 (2014) 114003 (9pp).
3. Сухоруков Б.Л., Ковалёва Г.Е., Новиков И.В. Оценка трофности водных объектов по данным дистанционной спектрометрии высокого разрешения видимого диапазона // Водные ресурсы. 2017. Т.44. № 1. С.79–90.
4. Ritchie R. J. Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents // Photosynthetica. 2008. vol. 46. p. 115–126.
5. Вассер С.П., Кондратьева Р.В., Масюк Р.П. и др. 1989. Водоросли. Справочник. Киев: Наукова думка. 608 с.
6. Simis S. G. H., S. M. Peters, and H. J. Gons. Remote sensing of the cyanobacterial pigment phycocyanin in turbid inland water // Limnology and Oceanography. 2005. vol. 50. p. 237–245.
7. Yacobi Y. Z., J. Köhler, F. Leunert, A. Gitelson. Phycocyanin-specific absorption coefficient: Eliminating the effect of chlorophylls absorption // Limnology and Oceanography: Methods. 2015. vol. 13. p. 158–167.

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ КИШЕЧНИКА У РЫБ РАЗНЫХ ВИДОВ

А. Ф. Тарлева¹, В. А. Шептицкий¹, В. В. Кузьмина²

¹Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко
3300, Тирасполь, Молдова, kobka_85@mail.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742, пос. Борок, Россия, vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru

Фенол (5.9 – 47.1 мг/л) и гербицид "Раундап" (0.1 – 100 мг/л в расчете на глифосат) в условиях *in vitro*, как правило, оказывают ингибирующий эффект на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника и химуса у рыб разных видов. Устойчивость протеиназ к фенолу видоспецифична.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению последствий антропогенного воздействия разной химической природы на гидросферу, которое значительно влияет на физиологические процессы у рыб и других гидробионтов [4]. Известно, что в естественных условиях фенолы образуются в процессе метаболизма водных организмов, а также при биохимическом распаде и трансформации органических веществ, протекающих в воде и в донных отложениях. Наибольшее внимания заслуживают фенолы, которые используются в химической промышленности в качестве компонентов или предшественников синтетических смол, пластификаторов, поверхностно-активных и дубильных веществ, ядохимикатов, стабилизаторов, антисептиков и других. Однако в наибольших концентрациях фенолы поступают в воду со стоками предприятий нефте- и сланцеперабатывающей, коксо- и лесохимической, а также анилинокрасочной промышленности [6]. Токсичность фенолов в значительной мере обусловлена образованием свободных радикалов. После проникновения в клетки, фенолы подвергаются активному превращению, главным образом при участии цитохрома P450 (цитохром P450-зависимой монооксигеназы). Иногда процессы преобразования приводят к повышению токсичности отдельных соединений путем образования электрофильных метаболитов, повреждающих ДНК или ферменты. Фенол и его производные вызывают гистопатологические изменения, мутагенность, иммунотоксический, канцерогенный и другие эффекты [6].

Гербициды активно применяются для уничтожения сорняков в сельском хозяйстве, а также для борьбы с зарастанием водохранилищ, прудов и каналов. Попадая в воду, а затем в организм гидробионтов, они включа-

ются в метаболизм и могут вызывать нарушения процессов жизнедеятельности [1]. Так, после внесения в воду одного из озер Польши глифосата в концентрации 0.09 мг/дм³ значительно уменьшилась численность хирономид (на 41%), олигохет (на 43%), брюхоногих моллюсков (на 75%), пиявок (на 75%), *Asellus aquaticus* (на 77%), *Gammarus pulex* (на 38%) и *Dreissena polymorpha* (на 42%). При этом концентрация глифосата в тканях беспозвоночных колебалась в диапазоне 7.3–10.2 мкг/кг [7].

Цель работы – исследование влияния фенола и гербицида "Раундап" на активность протеиназ слизистой оболочки и химуса у рыб с разным типом питания в условиях *in vitro*.

Объекты исследования: бентофаг густера *Blicca bjoerkna* (L.) массой 375 ± 54 г., ихтиофаг судак *Sander lucioperca* (L.) массой 568 ± 41 г. и ихтиофаг-факультативный бентофаг окунь *Perca fluviatilis* (L.) массой 60 ± 8 г., выловленные в Рыбинском водохранилище. Рыб после поимки в течение 1 ч доставляли в лабораторию. Сразу проводили биоанализ, изымали пищеварительный тракт и замораживали. Для получения ферментативно активных препаратов кишечник рыб помещали на ледяную баню, очищали от жира, разрезали вдоль, изымали содержимое и специальным скребком снимали слизистую оболочку среднего отдела кишечника. Слизистую и содержимое (химус) тщательно перемешивали. Затем отбирали требуемое количество материала для приготовления исходного гомогената. Для приготовления растворов токсикантов использовали химически чистый кристаллический фенол и коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название "Раундап" (произведен и расфасован ЗАО фирма "Август" (Россия) по лицензии фирмы "Monsanto Europe S.A." (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-ный водный раствор глифосата. Возможные инертные ингредиенты, усиливающие действие активного элемента или облегчающие использование гербицида, в аннотации не указаны. Выбор тестируемых концентраций (0.1–100 мг/л) был обусловлен установленными значениями ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов (0.001 мг/л), а также значениями 96-ч LC₅₀ Раундапа для рыб (от 86 до 168 мг/л). Конечное разведение фенола соответствовало 0.06 – 0.5 ммоль/л или 5.9–47.1 мг/л.

Для оценки влияния фенола и Раундапа на активность протеиназ пищеварительного тракта рыб предварительно 0.25 мл гомогената и 0.25 мл одного из токсикантов инкубировали в течение 1 ч. Затем добавляли 0.5 мл субстрата и инкубировали смесь в течение 30 мин. Протеолитическую активность оценивали по увеличению концентрации тирозина методом Ансона [5] в некоторой модификации. В качестве субстрата использовали 1% раствор казеина (рН 7.4). Данные обработаны статистически с использованием приложения EXCEL программы MS Office XP. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента для малых выборок при $p \leq 0.05$.

Опыты показали, что под влиянием фенола активность казеинлитических (трипсиноподобных) протеиназ слизистой оболочки кишечника у густеры снижается в пределах 11–27.7% по сравнению с контролем при концентрациях 5.6 и 11.8 мг/л, соответственно (рис. 1).

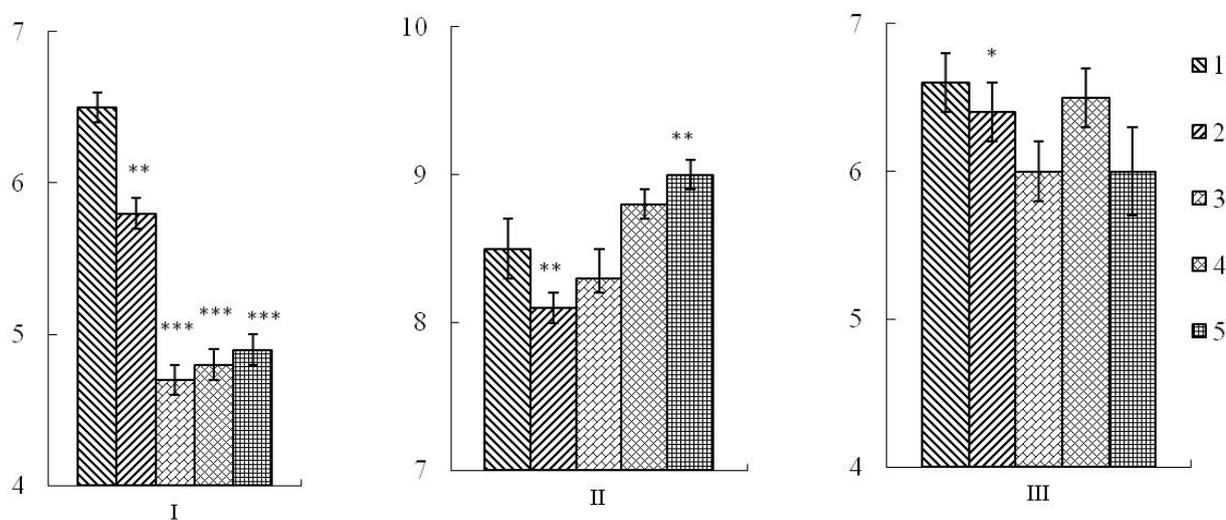


Рис. 1. Влияние фенола на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов. По оси абсцисс – виды рыб: I – густера; II – судак; III – окунь. По оси ординат – активность протеиназ, мкмоль/(г·мин). 1–5 – концентрация фенола: 1 – 0; 2 – 5.9; 3 – 11.8; 4 – 23.5; 5 – 47.1 мг/л. Приведены средние и ошибки средних ($M \pm m$); * различия по отношению к контролю достоверны при $p < 0.05$, ** – при $p < 0.01$, *** – при $p < 0.001$.

Максимальное снижение ферментативной активности химуса составило 11% по сравнению с контролем при концентрации 47.1 мг/л. У судака активность протеиназ под влиянием фенола фактически не изменялась, максимальное достоверное снижение составило 5% по сравнению с контролем при концентрации 5.6 мг/л. Важно отметить, что помимо ингибирования наблюдалась стимуляция протеиназ. При этом модификаторные эффекты учитываются лишь в случае, если они превышают 15%. У ихтиофага-факультативного бентофага окуня под действием фенола на активность протеиназ слизистой оболочки и химуса модификаторные эффекты не превышали 15% по сравнению с контролем. Важно отметить, что полученные результаты сопоставимы с результатами ранних работ по влиянию фенола на активность казеинлитических протеиназ у этих и других видов рыб [2, 3]. Отсутствие значимых эффектов фенола на активность протеиназ слизистой оболочки у судака и оку-

ня позволили предположить, что представители сем. окуневых (Percidae) достаточно устойчивы к действию фенола и его производных [2].

При анализе полученных данных важно учитывать то обстоятельство, что в основе токсических эффектов фенола и его производных в условиях *in vivo* лежит окислительный стресс, характеризующийся образованием в клетках различных тканей активных форм кислорода, индукцией перекисного окисления липидов и окислительным повреждением ДНК. Большинство описанных во введении эффектов фенолов обусловлено именно этими процессами. Опыты, проведенные в условиях *in vitro*, позволили установить, что у представителя сем. карповых помимо опосредованного действия фенола на активность протеиназ возможно прямое воздействие. Поскольку представители сем. карповых могут длительное время существовать при самой низкой концентрации фенола, ясно, что в этом случае наблюдается как прямое, так и опосредованное его действие на пищеварительную систему.

Под влиянием Раундапа у всех видов рыб наблюдается снижение активности казеинлитических (трипсиноподобных) протеиназ слизистой оболочки кишечника (рис. 2).

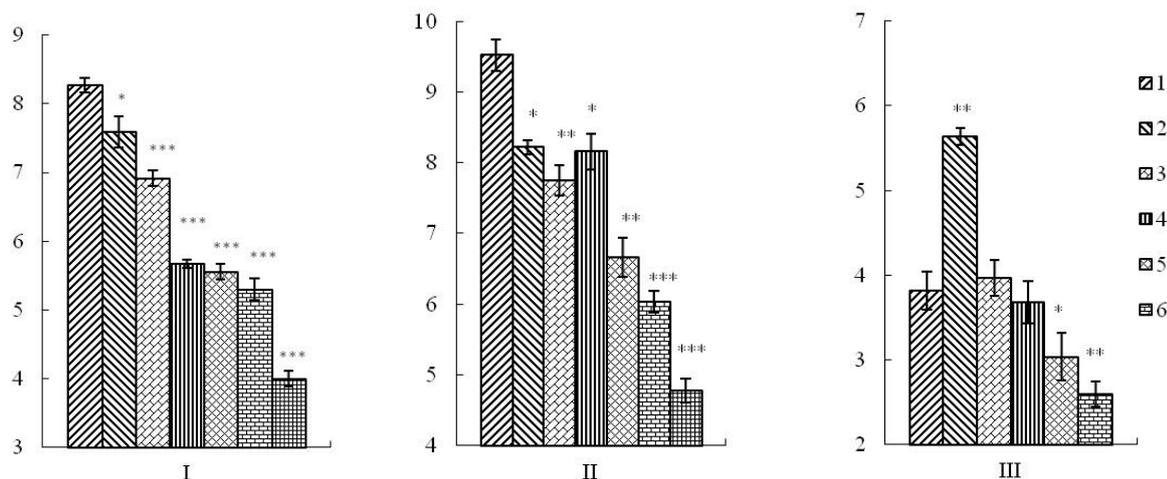


Рис. 2. Влияние Раундапа на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов.

По оси ординат – активность протеиназ, мкмоль/(г·мин), по оси абсцисс – виды рыб: I – густера; II – судак; III – окунь. 1 – 6 концентрация раундапа: 1 – 0; 2 – 0.1; 3 – 1; 4 – 10; 5 – 25; 6 – 50; 7 – 100 мг/л. Приведены средние и ошибки средних ($M \pm m$); * различия по отношению к контролю достоверны при $p < 0.05$, ** – при $p < 0.01$, *** – при $p < 0.001$.

Как показывает рисунок, под влиянием Раундапа у густеры наблюдается дозозависимое снижение протеолитической активности слизистой, с высокой степенью достоверности, $p \leq 0.001$ (рис. 2). При максимальной концентрации препарата активность протеиназ слизистой снизилась на 52% по сравнению с контролем. Снижение активности протеиназ химуса менее выражено: при максимальной концентрации раундапа ниже, чем слизистой (35%). У судака под действием всех исследованных концентраций Раундапа отмечено достоверное снижение активности протеиназ, которое наиболее ярко выражено в диапазоне концентраций 25–100 мг/л. В последнем случае уровень ферментативной активности в слизистой и в химусе снижается почти на 50% по сравнению с контролем. У окуня при концентрации препарата 0.1 мг/л отмечена достоверная стимуляция (47.6%) активности протеиназ слизистой. При увеличении концентрации препарата наблюдается снижение эффекта стимуляции, и лишь при более высоких концентрациях Раундапа – смена эффекта. При максимальной концентрации препарата активности протеиназ слизистой у окуня снижается на 32% по сравнению с контролем.

Важно отметить, что эффект стимуляции ранее был обнаружен при исследовании влияния Раундапа на активность сахаразы слизистой оболочки молоди плотвы *Rutilus rutilus* и окуня: у первого вида активность достоверно повышалась на 43–62% в диапазоне концентраций 10–50 мг/л, у второго – на 37–92% в диапазоне концентраций 1–50 мг/л. При этом уровень общей амилолитической активности у этих и других видов рыб – карпа *Cyprinus carpio*, щуки *Esox lucius* и тюлькиа *Clupeonella cultriventris* последовательно снижался [1]. Авторами было высказано предположение, что разнонаправленные эффекты Раундапа на активность ферментов, гидролизующих полисахарид крахмал и дисахарид сахарозу, обусловлены большим влиянием гербицида на активность панкреатической α -амилазы по сравнению с мембранным ферментом. Вместе с тем при исследовании молоди лепомиса *Leporinus obtusidens* было выявлено увеличение активности не только амилазы, но и панкреатических по происхождению трипсина и химотрипсина при концентрациях 1.0 и 5.0 мг/л глифосата через 90 сут. воздействия [8]. В настоящее время описаны разнообразные патологические изменения органов и тканей рыб. Однако наиболее важными представляются результаты исследования транскриптома кумжи *Salmo trutta*. Авторами было выявлено 1020 дифференциально-регулируемых транскриптов, в том числе транскрипты, кодирующие компоненты антиоксидантной системы, ряд белков стресс-реакции и про-апоптотических сигнальных молекул. Транскрипционные изменения свидетельствовали о формировании окислительного стресса и индукции компенсаторных путей ответа на стресс. При этом механизмы токсичности при воздействии глифосата и раундапа в экологически значимых концентрациях были сходными [9].

Кроме того, необходимо отметить ряд моментов. 1. Раундап токсичнее глифосата, на основе которого он создан, поскольку содержащиеся в нем поверхностно-активные вещества в 20-70 раз токсичнее для рыб, чем глифосат [10]. 2. Наблюдающиеся в природе и в хронических экспериментах многочисленные структурные и функциональные нарушения, как и в случае с фенолами, по-видимому, обусловлены окислительным стрессом. 3. Опыты, проведенные в условиях *in vitro*, позволили установить прямое действие Раундапа на молекулы протеиназ. 4. Сопоставление представленных данных свидетельствует о меньшей зависимости эффектов Раундапа от систематического положения вида по сравнению с таковыми фенола. 5. В естественных условиях помимо опосредованного действия Раундапа на активность протеиназ возможно его прямое воздействие на молекулы ферментов.

Таким образом, в условиях *in vitro* характер и степень воздействия фенола и Раундапа зависят от вида рыб, а также локализации фермента (слизистая оболочка или химус). Фенол в концентрациях 5.9–47.1 мг/л значительно снижает активность казеинлитических (трипсиноподобных) протеиназ кишечника у густеры. У судака фенол вызывает незначительное, в ряде случаев достоверное, увеличение уровня ферментативной активности. У окуня в присутствии фенола активность протеиназ фактически не изменяется. Гербицид Раундап в условиях *in vitro* оказывает ингибирующий эффект на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника и химуса у исследованных видов рыб. Устойчивость протеиназ к препарату видоспецифична. В случае слизистой оболочки кишечника наиболее устойчивы ферменты окуня, в случае химуса – густеры. При низких концентрациях (< 50 мг/л) Раундап может негативно влиять на активность пищеварительных протеиназ у большинства, а при более высоких (50–100 мг/л) – у всех исследованных видов рыб.

Список литературы

1. Голованова И.Л., Филиппов А.А., Аминов А.И., Влияние гербицида Раундап *in vitro* на активность карбогидраз молоди рыб // Токсикологический вестник. 2011 № 5. С. 31–35.
2. Кузьмина В.В., Грачева Е.Л., Тарлева А.Ф. Влияние фенола и его производных на активность пептидаз слизистой оболочки и химуса у рыб // Проблемы биологии продуктивных животных. 2015. № 3. С. 59–67.
3. Кузьмина В.В., Тарлева А.Ф., Грачева Е.Л. Влияние различных концентраций фенола и его производных на активность пептидаз кишечника рыб // Биол. внутр. вод. 2017. № 2. С. 104–111.
4. Решетников Ю.С., Шатуновский М.И. Теоретические основы и практические аспекты мониторинга пресноводных экосистем // Мониторинг биоразнообразия. М.: Наука. 1997. С. 26–32.
5. Anson M. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. 1938. V. 22. P. 79–83.
6. Michałowicz J., Duda W. Phenols – Sources and Toxicity // Polish J. Environ. Stud. 2007. V. 16. № 3. P. 347–362.
7. Rzymski P., Klimaszuk P., Kubacki T., Poniedziałek B. The effect of glyphosate-based herbicide on aquatic organisms – a case study // Limnol. Rev. 2013. V. 13. № 4. P. 215–220.
8. Salbego J., Pretto A., da Silva V.M.M., Loro V.L., Lazzari R., Gioda C.R., Baldisserotto B. Glyphosate on digestive enzymes activity in piava (*Leporinus obtusidens*) // Ciência Rural. 2014. V. 44. № 9. P. 1603–1607.
9. Cox C. Glyphosate // J.1 of pesticide reform. 2004. V. 24. № 4. P. 10–15.
10. Webster T.M.U., Santos E.M. Global transcriptomic profiling demonstrates induction of oxidative stress and of compensatory cellular stress responses in brown trout exposed to glyphosate and Roundup // BMC Genomics. 2015. V. 16. P. 32–46.

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ДОННЫХ СООБЩЕСТВ МАЛЫХ ЛОСОСЕВЫХ РЕК БАСЕЙНА РЕКИ ИЧА (ПОЛУОСТРОВ КАМЧАТКА) В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ТЕХНОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

А. В. Улатов

Камчатский НИИ рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО)
683000, г. Петропавловск-Камчатский, Россия, ti-kamchatka@ya.ru

На основе показателей видового (таксономического) состава макрозообентоса малых лососевых рек, находящихся в зоне воздействия Агинского горно-обогатительного комбината (АГОК), изучена динамика структурных изменений гидробиоценозов. Выделены наиболее чувствительные биотические индексы, отражающие качество среды на основе показателей видового разнообразия и соотношения показателей обилия крупных таксонов.

Объект исследований – макрозообентос малых лососевых рек в зоне техногенного воздействия АГОК, включая р. Ага (длина 15.9 км, приток 2-го порядка р. Ича) и р. Копылье (длина 45 км, приток 1-го порядка р. Ича). В работе обобщены и проанализированы первичные данные обработки бентосных проб, собранных сотрудниками КамчатНИРО и ВНИРО в 1995, 2005–2007, 2010–2014 гг. Река Ага является водоприемником сточных вод АГОК и подвержена загрязнению от истока до устья в результате сброса сточных вод с большим содержанием тяжелых металлов и взвешенных веществ, р. Копылье – подвержена аналогичному загрязнению на участке ниже устья р. Ага [1, 2, 3].

Исследованные участки рек расположены в горной местности (600–900 м н.у.м.). Гидроморфологические характеристики рек и типы створов представлены в табл. 1.

При отборе проб использовали бентометр Леванидова площадью облова 0,12 м² и 0,0625 м². Для достоверности оценки состояния гидробиоценозов и анализа многолетних изменений сообществ во все годы исследований сбор проб макрозообентоса проводился в близкие сроки (середина августа–начало сентября).

Таблица 1 – Гидроморфологические характеристики исследованных рек

№ створа (станции), название реки, расположение створа (станции)	Тип створа	Тип русла	Длина реки (общая/от истока/до устья), м	Средняя ширина русла, м	Характер грунта
ст. 1, р. Ага, 500 м ниже АГОК	КС	В	159/28/13.1	5	ГПП сильно заиленные
ст. 2, р. Ага, устье, 13,1 км ниже АГОК	КС	В	159/159/0	6–7	ГПП заиленные
ст. 3, р. Копылье, 200 м выше устья р. Ага	ЭС	С	435/319/11.6	20–30	ГПП
ст. 4, р. Копылье, 200 м ниже устья р. Ага	КС	С	435/323/11.2	20–30	ГПП слабо заиленные

Примечания: КС – контрольный створ; ЭС – эталонный створ; В – горное русло с неразвитыми аллювиальными формами; С – горное русло с развитыми аллювиальными формами; ГПП – галечно-гравийно-песчаные.

При анализе данных использованы стандартные качественные и количественные характеристики макрозообентоса – количество семейств (S_f), количество таксонов (S_t), численность (экз./м²: N_s – общая; n_i – отдельных таксонов), биомасса (B г/м²). При определении показателя S_f организмы, принадлежащие к каждому из таксонов *Tricladida*, *Nematoda*, *Mermitida*, *Oligochaeta*, *Hydracarina*, *Mollusca*, *Chironomidae*, рассматривались как 1 таксон. Сведения по таксономическому составу и численности макрозообентоса использованы при расчете индексов, отражающих структурные перестройки сообществ, включая:

- S_{EPT} – количество видов в группе ЕРТ;

- индекс $EPT = N_{EPT}/N_s$ – доля группы ЕРТ в общей численности бентосного сообщества;

- олигохетный индекс Гуднайта-Уитлея (OI) = N_{OI}/N_s – доля малочетинковых червей в общей численности бентосного сообщества;

- индекс Балушкиной (K_{ch}) = $(a_t + 0,5 \times a_{ch}) / a_o$, где a_t , a_{ch} и a_o – смещенные относительные численности отдельных подсемейств хирономид: *Tanypodinae* (a_t), *Chironominae* (a_{ch}), *Orthocladinae* и *Diamesinae* (a_o). $a = N + 10$, где N – относительная численность особей данного подсемейства от общей численности особей всех хирономид;

- индекс Годераша (IT) = N_{OI} / N_{Ch} – отношение численности олигохет и хирономид;

- индекс удельного видового богатства Маргалефа (d) = $(S_t - 1) / \ln N_s$;

- индекс видового разнообразия Шеннона-Уивера (H) = $-\sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i}{N_s} \cdot \log_2 \frac{n_i}{N_s} \right)$;

- индекс выравненности экологических сообществ Пиелу (E) = $H / \log_2 S_t$;

- коэффициент избыточности ($I-E$) = $I - H / \log_2 S_t$;

- индекс Тейла (RT) = $\log_2 S_t + H$;

- индекс Симпсона (D) = $\frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)}$ и его «производные» – индекс «вероятности межвидовых встреч» ($I-D$)

и индекс «полидоминантности» Вильямса ($1/D = D^{-1}$).

Интерпретацию индексов (OI), (K_{ch}) и (IT), основанных на обилии крупных таксонов, проводят в соответствии с градациями качества, приведенными для каждого индекса его авторами, либо по градации балльных оценок, приведенных в литературе [3, 4]:

- (OI) варьирует от 0 до 1.0, с градациями качества вод: 0.01–0.16 – чистая; 0.17–0.33 – условно чистая; 0.34–0.50 – слабо загрязненная; 0.51–0.67 – загрязненная; 0.68–0.84 – грязная; 0.85–1.00 – очень грязная;

- (K_{ch}) варьирует от 0.136 до 11.5, с градациями качества вод: 0.136–1.08 – чистая; 1.08–6.5 – умеренно загрязненная; 6.5–9.0 – загрязненная; 9.0–11.5 – грязная;

- (IT): в чистых водах – <1, в загрязненных – >1.

Для биотических индексов, основанных на структурных характеристиках сообществ – d , H , E , RT , $I-D$, D^{-1} – не существует общепринятых балльных градаций. Их балльная оценка проводится путем сравнения с показателями эталонных створов через коэффициент EQR (*ecological quality ratio*) – частное от деления метрики контрольного створа на метрику эталонного створа [6]. Нормирование индексов по критерию EQR позволяет учитывать региональные особенности состава и структуры бентоса [7]. С учетом того, что р. Ага подвержена загрязнению в истоке, а значит выделить для неё эталонные створы невозможно, в качестве «фоновых» использованы наиболее ранние из имеющихся характеристик макрозообентоса на ст. 1 и ст. 2, относящиеся к 1995 г. [1].

В качестве критерия оценки чувствительности биотических индексов использован коэффициент вариации (Cv) = $\sigma / X_{cp.}$, где σ – среднеквадратическое отклонение индекса; $X_{cp.}$ – среднееарифметическое значение индекса. Основное требование – низкая вариабельность индекса в фоновых условиях и, наоборот, высокая чувствительность к различным нарушениям в условиях воздействия (на контрольных створах). Чем большее количество индексов демонстрируют единообразную реакцию на изменение условий среды, тем выше их пригодность для биоиндикации [6].

Индексы видового разнообразия H , E , RT , D , $I-D$, $1/D$, как правило, используют в качестве инструмента оценки выравненности обилий таксонов, т.е. равномерности распределения объемов таксонов (эквивалентности) биоценоза. Высокую выравненность принято считать эквивалентной высокому разнообразию – в богатых сообществах эквивалентность выше, чем в деградирующих. Структурный «перекос» и «отрыв» лидеров-доминантов – признак ухудшения качества среды. Гипертрофированное доминирование одного из видов принято считать признаком «недостаточно качественной» и неустойчивой экосистемы [5].

Для оценки биоразнообразия не существует идеальных индексов, учитывающих одновременно и видовое богатство, и близость эмпирического распределения обилий видов к некоторому «экологическому эталону» [5]. В известных работах [5, 8] представлены общие рекомендации по интерпретации индексов видового разнообразия:

- индекс (D) широко используется в качестве индекса структуры доминирования (весьма чувствителен к доминированию одного или нескольких видов). По мере уменьшения выравненности объема таксонов индекс увеличивается (при максимальном доминировании $(D)=1$, при отсутствии доминирования $(D)=1/S_i$);

- у индексов ($I-D$) и (H) число видов (S_i) является определяющим фактором при $S_i < 10$, а при увеличении числа видов ($S_i > 10$) возрастает роль выравненности;

- индексы (E) и (H) при $S_i > 30$ основаны на дисперсии или энтропии обилия таксонов и оценивают только уровень равномерности распределения относительных долей, при этом не зависят от численности N_S и мало чувствительны к изменению видового богатства S_i ;

- индекс (E) оценивает «чистую выравненность» и часто даёт максимальную оценку разнообразия, несмотря на крайне бедный видовой состав S_i . (E) изменяется от 0 до 1 (при равной заселенности всех таксонов $(E)=1$);

- нет однозначности и в трактовке разнообразия двух близких индексов (H) и (RT);

- из всех индексов только индекс «полидоминантности» Вильямса (I/D) наиболее адекватно учитывает и видовое богатство, и выравненность.

- индекс (d) достаточно чувствительно регистрирует загрязнение среды снижением значений индекса.

Оценка видового разнообразия и обилия крупных таксонов макрозообентоса малых лососевых рек в районе АГОК. Качественные и количественные характеристики макрозообентоса, включая биотические индексы и простые метрики в зоне воздействия АГОК и за пределами зоны воздействия, за весь период исследований представлены в табл. 2 и 3. Оценка экологического состояния водотоков и пригодности для этой оценки различных индексов выполняли на основе абсолютных значений индексов и их вариабельности на разных створах.

Для всех станций минимальные значения коэффициента вариации (C_v) отмечены для индексов Балушкиной (K_{ch}) (0.002 на КС; 0.03 на ЭС), «вероятности межвидовых встреч» ($I-D$) (0.17 на КС и 0.01 на ЭС) и Тейла (RT) (0.12 на КС; 0.08 на ЭС). На фоне низких значений вариабельности, отсутствие различий C_v на контрольных створах и в условиях фона, и даже более высокие значения C_v для фона, указывает на непригодность индексов (K_{ch}) и (RT) для целей индикации экологического состояния горных водотоков бассейна р. Ича. Индекс ($I-D$) может использоваться в качестве дополнительного показателя.

Максимальная вариабельность отмечена для индексов Тодераша (IT) (1,59 на КС и 0,48 на ЭС), Гуднайта-Уитлея (OI) (0.9 на КС и 0.35 на ЭС) и индекса ЕРТ (0.74 на КС и 0.51 на ЭС). При этом более высокое постоянство и адекватность оценок ухудшения качества среды дают последние два индекса. Редкие «всплески» (IT) указывают на то, что данный индекс может использоваться только в качестве дополнительного.

Наиболее высокие различия средних значений коэффициента вариации для контрольных (ст. 1, 2, 4) и эталонного (ст. 3) створов отмечены для индексов: «вероятности межвидовых встреч» ($I-D$) – 11,94 крат; «полидоминантности» Вильямса (I/D) – 5,08 крат; выровненности Пиелу (E) – 4,82 крат; Симпсона (D) – 4,56 крат; Шеннона-Уивера (H) – 3,0 крат. Очевидно, что данные индексы среди прочих являются наиболее чувствительными к ухудшению условий среды и «перекосу» структуры сообществ при длительном техногенном воздействии на всех без исключения контрольных створах.

Несмотря на значительную вариацию на фоновом (ст. 3) створе индексов Маргалефа (d), Гуднайта-Уитлея (OI), ЕРТ (N_{ERT}/N_S), а также простых метрик (S_f , S_i , N , B , S_{ERT}), однотипность реакций и схожесть амплитуды колебаний этих индексов и метрик на фоновом (ст. 3) и загрязненных (ст. 1, 2, 4) участках не прослеживается (табл. 2). Следовательно, использование этих весьма информативных показателей является обязательным для индикации экологического состояния лососевых водотоков.

Большинство индексов и метрик в 1995 г. на всех речных участках показали наибольший уровень экологического благополучия, в последующие годы сохранившегося только на ЭС (ст. 3). Анализ реакций индексов и метрик (табл. 2, 3) на загрязненных створах (ст. 1, 2, в меньшей степени – ст. 4) указывает на резкое ухудшение экологической обстановки в первые годы работы АГОК (2005-2007 гг.), особенно в кризисный 2006 г., с некоторым «выравниванием» ситуации к 2011 г. и очередным ростом экологической напряженности в последующие годы (2012–2014 гг.).

Таблица 2. Качественно-количественные характеристики макрозообентоса и биотические индексы малых лососевых рек бассейна р. Ича в зоне воздействия АГОК (1995, 2005–2014 гг)

Индекс	Количество семейств (S_f)				Количество таксонов (S_t)				Численность (N_s , тыс. экз./м ²)				Биомасса (B , г/м ²)				Количество видов ЕРТ ($S_{ЕРТ}$)				ЕРТ ($N_{ЕРТ}/N_s$)			
	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.	ст.	ст.	ст.	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4
1995	16	16	–	17	39	33	–	40	15.1	11.7	–	14.6	47.7	23.9	–	32.8	7	9	–	11	0.17	0.38	–	0.40
2005	17	13	19	15	40	30	49	36	45.88	40.81	41.47	37.92	57.59	18.22	51.57	19.88	8	7	15	10	0.03	0.02	0.25	0.04
2006	8	18	–	–	14	24	–	–	3.23	8.93	–	–	0.63	7.29	–	–	4	9	–	–	0.04	0.19	–	–
2007	11	14	–	–	22	21	–	–	7.33	84.5	–	–	12.35	36.1	–	–	6	8	–	–	0.16	0.02	–	–
2010	11	–	–	–	28	–	–	–	29.52	–	–	–	9.1	–	–	–	4	–	–	–	0.01	–	–	–
2011	14	21	17	17	31	42	46	31	19.66	141.88	36.13	29.11	7.65	34.8	15.44	24.4	8	9	14	7	0.15	0.06	0.18	0.22
2012	11	16	18	18	23	28	46	31	39.32	22.34	23.22	43.62	16.8	16.24	22.28	23.1	6	8	15	9	0.06	0.10	0.20	0.32
2013	16	19	20	20	21	41	52	42	63.97	70.64	126.7	44.66	10.2	19.03	118.8	13.5	3	10	15	11	0.01	0.19	0.39	0.36
2014	–	11	15	15	–	22	22	23	–	21.488	10.50	22.83	–	9.31	36.29	33.84	–	5	9	8	–	0.19	0.56	0.38
S_v	0.25	0.21	0.11	0.11	0.33	0.27	0.28	0.21	0.74	0.92	0.96	0.37	1.02	0.51	0.85	0.32	0.33	0.19	0.19	0.17	0.91	0.84	0.51	0.47
S_{vKC}	<i>0.19</i>				<i>0.27</i>				<i>0.68</i>				<i>0.62</i>				<i>0.23</i>				<i>0.74</i>			
$S_{vKC/Э}$	<i>1.74</i>				<i>0.96</i>				<i>0.70</i>				<i>0.73</i>				<i>1.21</i>				<i>1.46</i>			
Индекс	Гуднайта-Уитлея (OI)				Видового богатства Маргалефа (d)				Балушкиной (Kch)				Тодераша (IT)				Шеннона-Уивера (H , бит/экз.)				Выровненности Пислу (E)			
Год	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.	ст.	ст.	ст.	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4
1995	0.13	0.06	–	0.10	3.9	3.4	–	4.1	0.46	0.46	–	0.45	0.23	0.13	–	0.23	4.31	4.05	–	3.95	0.82	0.80	–	0.74
2005	0.03	0.15	0.19	0.31	3.6	2.7	4.5	3.3	0.45	0.45	0.46	0.45	0.03	0.19	0.41	0.49	2.87	2.87	4.20	3.09	0.54	0.58	0.75	0.60
2006	0.01	0.16	–	–	1.6	2.5	–	–	0.46	0.45	–	–	0.01	0.29	–	–	2.08	3.38	–	–	0.55	0.74	–	–
2007	0.03	0.17	–	–	2.4	1.8	–	–	0.45	0.45	–	–	0.04	0.21	–	–	3.45	2.27	–	–	0.77	0.52	–	–
2010	0.01	–	–	–	2.6	–	–	–	0.46	–	–	–	0.01	–	–	–	3.15	–	–	–	0.66	–	–	–
2011	0.23	0.66	0.11	0.13	3.0	3.5	4.3	2.9	0.45	0.45	0.49	0.46	0.39	2.80	0.16	0.24	3.55	2.27	4.22	4.17	0.72	0.42	0.76	0.84
2012	0.75	0.39	0.24	0.33	2.1	2.7	4.5	2.8	0.45	0.45	0.46	0.45	10.83	0.95	0.75	1.18	1.65	2.88	4.09	3.64	0.36	0.60	0.74	0.74
2013	0.37	0.14	0.25	0.05	1.8	3.6	4.3	3.8	0.45	0.45	0.45	0.45	0.65	0.22	0.73	0.09	1.44	3.76	3.97	3.95	0.33	0.70	0.70	0.73
2014	–	0.34	0.13	0.36	–	2.1	2.3	2.2	–	0.46	0.47	0.45	–	0.83	0.50	1.77	–	3.27	3.49	3.36	–	0.73	0.78	0.74
S_v	1.32	0.76	0.35	0.63	0.32	0.24	0.24	0.22	0.002	0.002	0.03	0.002	2.47	1.29	0.48	1.00	0.36	0.21	0.08	0.11	0.31	0.20	0.04	0.11
S_{vKC}	<i>0.90</i>				<i>0.26</i>				<i>0.002</i>				<i>1.59</i>				<i>0.23</i>				<i>0.20</i>			
$S_{vKC/Э}$	<i>2.62</i>				<i>1.07</i>				<i>0.06</i>				<i>3.27</i>				<i>3.00</i>				<i>4.82</i>			

Примечания: S_{vKC} — средняя величина коэффициента вариации для контрольных створов (ст. 1, 2, 4); $S_{vKC/Э}$ — частное от деления средних значений коэффициента вариации для контрольных створов (ст. 1, 2, 4) и эталонного створа (ст. 3). Жирным шрифтом отмечены наибольшие отклонения от фона, выходящие за пределы естественных флуктуаций.

Таблица 3. Индексы видового разнообразия малых лососевых рек бассейна р. Ича в зоне воздействия АГОК (1995, 2005-2014 гг.).

Индекс	коэффициент избыточности (<i>I</i> -)				Тейла (<i>RT</i>)				Симпсона (<i>D</i>)				«вероятности межвидовых встреч» (<i>I-D</i>)				«полидоминантности» Вильямса (<i>D</i> ⁻¹)			
	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4	ст.1	ст.2	ст.3	ст.4
1995	0.18	0.20	–	0.26	9.6	9.1	–	9.2	0.07	0.08	–	0.08	0.93	0.92	–	0.92	14.29	11.97	–	12.59
2005	0.46	0.42	0.25	0.40	8.19	7.78	9.82	8.26	0.24	0.15	0.08	0.10	0.76	0.85	0.92	0.90	4.17	6.56	12.57	10.29
2006	0.45	0.26	–	–	5.89	7.96	–	–	0.37	0.12	–	–	0.63	0.88	–	–	2.70	8.07	–	–
2007	0.23	0.48	–	–	7.91	6.66	–	–	0.13	0.28	–	–	0.87	0.72	–	–	7.69	3.56	–	–
2010	0.34	–	–	–	7.96	–	–	–	0.18	–	–	–	0.82	–	–	–	5.56	–	–	–
2011	0.28	0.58	0.24	0.16	8.50	7.66	9.74	9.12	0.13	0.01	0.10	0.06	0.87	0.99	0.90	0.94	7.69	90.54	10.22	15.78
2012	0.64	0.40	0.26	0.26	6.17	7.69	9.61	8.60	0.57	0.09	0.11	0.04	0.43	0.91	0.89	0.96	1.75	10.63	9.22	27.45
2013	0.67	0.30	0.30	0.27	5.83	9.11	9.68	9.35	0.46	0.10	0.10	0.10	0.54	0.90	0.90	0.90	2.17	10.06	9.57	9.96
2014	–	0.27	0.22	0.26	–	7.72	7.95	7.89	–	0.05	0.11	0.03	–	0.95	0.89	0.97	–	22.10	8.83	34.72
<i>Cv</i>	0.44	0.36	0.12	0.29	0.18	0.10	0.08	0.07	0.67	0.67	0.13	0.45	0.24	0.24	0.01	0.03	0.72	1.41	0.15	0.15
<i>Cv_{KC}</i>	<i>0.36</i>				<i>0.12</i>				<i>0.59</i>				<i>0.17</i>				<i>0.76</i>			
<i>Cv_{KЭС}</i>	2.90				<i>1.39</i>				4.56				11.94				5.08			

Примечания: *Cv_{KC}* — средняя величина коэффициента вариации для контрольных створов (ст. 1, ст. 2, ст. 4); *Cv_{KЭС}* — частное от деления средних значений коэффициента вариации для контрольных створов (ст. 1, ст. 2, ст. 4) и эталонного створа (ст. 3). Жирным шрифтом отмечены наибольшие отклонения от фона, выходящие за пределы естественных флуктуаций.

Выводы. Сравнительный анализ чувствительности биотических индексов показывает:

1. Непригодность индексов Балушкиной (K_{ch}) и Тэйла (RT) для целей индикации экологического состояния малых лососевых рек бассейна р. Ича.

2. Наибольшую информативность и чувствительность к ухудшению состояния среды обитания и структуры сообществ в целом в условиях длительного техногенного воздействия проявляют индексы «полидоминантности» Вильямса (D^{-1}), Симпсона (D), «вероятности межвидовых встреч» ($I-D$), Пиелу (E), Шеннона-Уивера (H), Маргалефа (d), Гуднайта-Уитлея (OI), ЕРТ (N_{EPT}/Ns), а также простые метрики (S_f , S_r , N , B , S_{EPT}).

3. Пространственно-временные изменения значений большинства индексов и метрик на контрольных створах (ст. 1, 2, 4) свидетельствуют об улучшении экологического состояния водотоков в системе рек Ага-Копылье по мере удаления от источника загрязнения (АГОК), а также на неоднократную смену периодов реклонизации (самовосстановления) и деградации сообществ.

Автор выражает глубокую признательность д.б.н. Чебановой В.В., к.б.н. Введенской Т.Л. и Хивренко Д.Ю. за обработку проб и данные о таксономическом составе донных сообществ.

Список литературы

1. Улатов А.В. Динамика загрязнения лососевых рек в зоне воздействия Агинского горно-обогатительного комбината // «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы»: Сборник материалов V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова. Борок, 2014. Т. 1. С. 187–191.
2. Улатов А.В. Оценка экологической обстановки по состоянию бенто- и ихтиофауны лососевого водотока в зоне воздействия Агинского ГОК // «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы»: Сборник материалов V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова. Борок, 2014. Т.1. С. 187–191.
3. Жмур Н.С., Улатов А.В., Лапшин О.М. Проблемы сохранения среды обитания лососевых рыб в условиях развития минерально-сырьевой составляющей экономики Камчатского края // Биосфера. 2014. Т. 6, № 1. С. 5–16.
4. Шитиков В.К., Розенберг Г.С., Зинченко Т.Д. Количественная гидрoэкология: методы системной идентификации. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. 463 с.
5. Шитиков В.К., Розенберг Г.С. Оценка биоразнообразия: попытка формального обобщения // Количественные методы экологии и гидробиологии. Тольятти, 2005. С. 91–129.
6. Семенченко В.П. Принципы и системы биоиндикации текущих вод. Минск: изд-во «Орех», 2004. 125 с.
7. Яныгина Л.В. Зообентос бассейна Верхней и Средней Оби: воздействие природных и антропогенных факторов. Автореф. дисс.... докт. биол. наук. Новосибирск, 2014. 41 с.
8. Баканов А.И. Количественная оценка доминирования в экологических сообществах // Количественные методы экологии и гидробиологии. Тольятти, 2005. С. 37–68.

СТОХАСТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В ЭФФЕКТЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ДАФНИЙ

О. Ф. Филенко, Е. Ф. Исакова, Т. А. Самойлова

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
119991, г. Москва, Россия, ofilenko@mail.ru*

На примере эффекта дихлорацетата натрия показано, что даже концентрации, не приводящие к гибели и стимулирующие плодовитость рачков, вызвали появление во всех пометах около 1% особей с морфологическими аномалиями. Причиной может служить как мутагенное, так и эмбриотропное действие препарата.

При оценке результатов воздействия факторов среды по изменению некоторых характеристик структуры или функционирования биосистемы основное внимание уделяется нарушениям, которые, по мнению экспериментаторов, напрямую значимы для судьбы особи, популяции или биологического сообщества. Наряду с такими изменениями всегда могут быть обнаружены диагностические признаки, биологическая и экологическая значимость которых не ясна. Обычно они незначительны в количественном выражении, не всегда подтверждаются их формальная статистическая достоверность, однако такие, на первый взгляд несущественные, отклонения в более отдаленный период могут привести к фатальным последствиям для вида. Наряду с «основными» и «вспомогательными» признаками эффекта действующего фактора, такие проявления эффекта можно назвать «сопутствующими» свидетельствами воздействия.

Они не всегда устойчиво воспроизводятся, не всегда удается проследить их связь с дозой или концентрацией действующего фактора, но они, как правило, регулярно проявляются при воздействии, как один из симптомов эффекта на уровне особей и выборки организмов. Такие проявления на уровне особи называют стохастическими или вероятностными, в отличие от дозозависимых, которые называют детерминированными.

Стохастическим эффектам обычно уделяют внимание в связи с воздействием на организм ионизирующих излучений, однако, судя по всему, их проявление является закономерностью, присущей результатам и других воздействий на организм – неионизирующих излучений, потенциально токсичных веществ и др. [1, 2].

Примером стохастических эффектов могут служить появившиеся в результате некоторого воздействия злокачественные новообразования, нарушения воспроизводства, врожденные уродства или возникшие в результате мутаций нарушения в клетках организма. С точки зрения проявлений большинство стохастических

симптомов на первый взгляд выглядят неспецифично, т.е. сходно не зависимо от природы воздействующих факторов среды, однако их значимость для состояния организма и популяции может существенно различаться.

Полагают, что стохастические эффекты на уровне организма не имеют дозового порога и их тяжесть от дозы не зависит. Однако, поскольку вероятность их возникновения более или менее пропорциональна дозе воздействия, то на уровне выборок уже должна проявляться зависимость от дозы или концентрации. Вместе с тем, мы сталкиваемся с тем, что даже на уровне выборок связь с концентрацией не всегда удается проследить.

В своих исследованиях мы наблюдали проявления такого типа при действии полиэтиленмина, бихромата калия, электромагнитных воздействий на дафний [3, 4, 5].

Полиэтиленмин известен, как активный мутаген, применяемый для получения новых форм растений и животных. Наследуемые мутации были получены в наших исследованиях на ракообразных, причем в поколениях появлялись жизнеспособные карликовые особи.

Общепотребительный референтный токсикант бихромат калия вызывал у рачков разнообразные морфологические отклонения, причем особи с аномалиями антенн, как правило, потомства не оставляли. В работе [4] приведены ссылки на появления морфологических аномалий и при действии этилметансульфоната, N-нитрозо-N-метилмочевины, гербицидов прометрина, пропанида, ялана, изофоса, банлена, лаурокса, радиоактивных изотопов. Полагают, что все эти вещества обладают в разной степени мутагенным действием.

В наших исследованиях мы также получали устойчивое появление морфологических аномалий в потомстве рачков на протяжении нескольких поколений, подвергавшихся воздействию электромагнитных источников (лазер, радиочастоты).

Важно отметить, что доля аномальных особей при этих химических и физических воздействиях в широком диапазоне не зависела от действующей дозы.

Таблица 1. Действие дихлоруксусной кислоты на водные организмы

Тест-объект	Эффект	Концентрация, мг/л	Источник
Зеленые водоросли	ЛК ₅₀ 96 ч	14000	Meylan, Howard, 1999
Высшие водные растения <i>Myriophyllum spicatum</i> , <i>M. sibiricum</i> , <i>Lemna gibba</i>	ЭК ₅₀ 14 сут.	30–264	Hanson et al., 2003
Ракообразные <i>Nitocra spinipes</i>	ЛК ₅₀ 96 ч	23	Linden et al., 1979
Рыбы <i>Brachydanio rerio</i> , эмбрионы	ЛК ₅₀ 48 ч	100	Parng, et al. 2002
Рыбы	ЛК ₅₀ 96 ч	23.5	Meylan, Howard, 1999

Для сравнения с эффектом описанных воздействий мы провели исследование влияния на рачков дихлоруксусной кислоты, как вещества, по некоторым сведениям не обладающего мутагенным эффектом. Проверка генотоксичности дихлоруксусной кислоты с помощью четырех тест – систем, включая культуры клеток млекопитающих и тесты с *Salmonella* и *Escherichia coli* не выявил никаких указаний на возможность такого эффекта. Токсичность дихлоруксусной кислоты в кратковременных испытаниях исследовалась для некоторых гидробионтов (табл. 1), и результаты позволяют отнести его к веществам с умеренной токсичностью.

Целью нашей работы служило наблюдение качественных и количественных проявлений эффекта при действии на рачков *Daphnia magna* дихлоруксусной кислоты, как потенциально токсичного химического агента, в хроническом режиме.

Дафний культивировали в лаборатории в соответствии с методическими рекомендациями. Молодь рачков отбирали из культуры в возрасте не старше 24 часов. Действие препарата было исследовано в кратковременных или длительных опытах в концентрациях от 0.1 мг/л до 10 г/л. Контролем служили выборки рачков, помещенные в чистую воду.

В кратковременных опытах в опытные стаканы на 100 мл растворов препарата в 3-х кратной повторности помещали по 10 рачков. Смену воды не проводили. В длительных опытах рачков помещали по 5 экз. на 250 мл раствора при 4-х кратной повторности каждого из вариантов. В ходе опытов растворы регулярно сменяли через 2–3 суток, а рачков ежедневно кормили суспензией зеленых водорослей *Chlorella vulgaris*. Продолжительность эксперимента составила 20 суток, за которые было исследовано только одно исходное поколение дафний.

Оценка хронического действия дихлоруксусной кислоты на выживаемость, плодовитость и рост дафний показала, что даже высокие концентрации не вызывали, как видно из табл. 2, снижения выживаемости рачков. Созревание подопытных рачков проходило под действием дихлоруксусной кислоты практически одновременно с контрольными, отставание на 1 сутки отмечали только в растворах с концентрацией 1000 и 3000 мг/л. Появление молоди первого помета у дафний проходило аналогично созреванию (табл. 2). Рост рачков под действием вещества сменялся от угнетения в период созревания (при концентрациях 1000 и 3000 мг/л) до стимуляции в последующие сроки опытов, что привело к выравниванию показателей в контроле и в опыте. Из таблицы видно, что дихлоруксусная кислота вызывала стимуляцию плодовитости у дафний (на 7% – 75% выше, чем в контроле), причем наибольшей стимуляцией была при концентрации 300 мг/л.

Повышение величины плодовитости у дафний сопровождалось появлением морфологических отклонений, абортивных яиц и уродливой молоди. Аномалии проявлялись в нарушении строения антенн (отсутствие одной из антенн, отсутствие члеников и плавательных щетинок на антеннах), редукция раковинки, покрывающей тело

рачков (рис.). Уродливая молодь жила в течение 2–3-х суток. Мелкие аномалии антенн и некоторые деформации карапакса могли через несколько линек исчезнуть.

Таблица 2. Влияние дихлорацетата натрия на дафний

Показатель	Контроль (К)	Концентрация действующего вещества, мг/л					
		30	100	300	1000	3000	
Выживаемость, %	95	100	95	100	100	100	
Сроки созревания, сутки	5	5	5	5	5–6	6	
Время первого помета	7	7	7	7	7–8	8	
Реальная плодовитость	Среднее	55.35	73.20	79.05	96.15	87.25	59.50
	Дов. инт % от К	± 3.26	± 5.86	± 9.89	± 10.38	± 12.22	± 7.32
Абортивные яйца, % от плодовитости	100	132	145	175	157	107	
Морфологические аномалии в потомстве, % от плодовитости	0	0.3	0.6	0.3	0.1	12	
	0	0.6	0.3	0.2	0.9	0.8	

Таким образом, в ходе наблюдений до 20 суток в широком диапазоне концентраций дихлорацетата натрия не выявлено токсического действия на дафний по показателям выживаемости и созревания. Стимуляция плодовитости у дафний в концентрациях от 30 до 3000 мг/л во всех случаях сопровождалась появлением уродливой молоди в пометах.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что концентрации потенциально токсичных веществ, не влияющие на выживаемость тест-объекта, и даже стимулирующие некоторые тест-функции, могут нарушать нормальное развитие эмбрионов и вызывать появление морфологических аномалий, не совместимых с жизнью потомства.

Причины появляющихся аномалий могут быть различными. Вещества, действующие на геном клетки называются "генотоксическими агентами", вещества, провоцирующие появление аномалий через иные механизмы, – "эпигенетическими агентами". К числу эпигенетических эффектов следует отнести повреждение механизмов геной экспрессии, иммуносупрессию, нарушение гормонального баланса и др. В связи с особенностью причиной появления структурных аномалий и их разной ролью в дальнейшем развитии биологических процессов, редко удается проследить количественную взаимосвязь внутренних структурных нарушений с наглядными морфологическими аномалиями организма в целом. Так, повышенный уровень хромосомных аберраций в клетках эмбрионов дафний коррелировал с плодовитостью развившихся из этих эмбрионов рачков, но не приводил к видимым структурным нарушениям в потомстве [6].



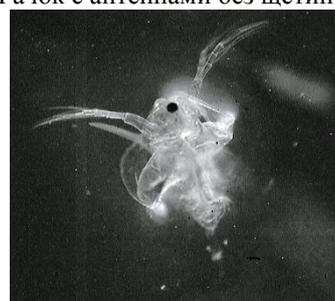
Нормальный рачок



Рачок с антеннами без щетинок



Рачок с одной антенной



Рачок с недоразвитым карапаксом

Рисунок. Морфологические изменения у дафний, подвергавшихся действию дихлорацетата натрия.

В нашем случае причиной появления нарушений могут быть и мутации, и нарушение эмбриогенеза с преждевременным выходом молоди. В последнем случае после первых линек дефект может исчезнуть. Следствием устойчивых мутаций может служить появление карликовых особей, способных размножаться и воспроизводить себе подобных, как это показано в опытах с полиэтиленмином [3].

Обычно уровень нарушений в потомстве невелик и в наших исследованиях редко превышал один процент от общего числа новорожденных.

Такие нарушения могут быть причиной последующей гибели особи или прекращения размножения, могут служить признаком происходящего неблагоприятного воздействия, но не отражают интенсивности этого воздействия на популяцию и экосистему, тем более, что неполноценные особи в естественных условиях быстро элиминируются. Однако в экспериментальных исследованиях появление аномалий дает дополнительные возможности для понимания специфики действия экстремального фактора и роли появляющихся нарушений в судьбе популяций.

Список литературы

1. Котеров А.Н., Вайнсон А.А. Биологические и медицинские эффекты излучения с низкой ЛПЭ для различных диапазонов доз // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2015. Т. 60. № 3. С. 5–31.
2. Саноцкий И.В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических, соединений на организм. М.: Медицина, 1979. 230 с.
3. Строганов Н.С., Максимова Н.Н., Исакова Е.Ф.. Отдаленные последствия действия полиэтиленмина на дафний. // Гидробиологический журнал. 1977. Т. XIII. Вып. 3. С. 87–96.
4. Исакова Е.Ф., Коломенская Е.Е. Морфологические отклонения у *Daphnia magna* Straus в поколениях при кратковременном воздействии бихромата калия // Экологические системы и приборы. 2002. №7. С.31–34.
5. Воробьева О.В., Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф., Юсупов В.И., Зотов К.В., Баграташвили В.Н. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения десятиметрового диапазона на морфо-функциональные показатели *Daphnia magna* Straus // Биофизика. 2016. Т. 61. Вып. 6. С. 1202–1207.
6. Филенко О.Ф., Лазарева В.В. Влияние токсических агентов на общебиологические и цитогенетические показатели у дафний // Гидробиол. журнал. 1989. Т. 25. № 3. С. 56 – 59.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГЛИКОЗИДАЗ СЕГОЛЕТОК ПЛОТВЫ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ В ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

А. А. Филиппов, И. Л. Голованова, В. В. Крылов

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742, пос. Борок, Россия, andron@ibiw.yaroslavl.ru*

Установлено, что чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к *in vitro* действию тяжелых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}) в концентрации 25 мг/л, и мальтазы к действию Zn^{2+} и Pb^{2+} у сеголеток плотвы усиливается после воздействия гипоманнитных условий на стадии эмбриона и предличинки.

В настоящее время многие водоемы подвержены загрязнению тяжелыми металлами (ТМ). Содержание ТМ и их соединений в воде и гидробионтах часто в десятки и сотни раз превышает ПДК, установленные для рыбохозяйственных водоемов [1]. Cd, Pb, Cu и Zn – одни из самых опасных в экотоксикологическом отношении элементов. При этом Cu и Zn – необходимые микроэлементы, в то время как Pb и Cd таковыми не являются. Попадая в организм рыб вместе с водой и пищей [2], они могут оказывать прямое и опосредованное влияние на функциональные характеристики пищеварительного тракта [3].

Углеводы играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене организма. Об эффективности начальных этапов переваривания углеводов можно судить по активности гликозидаз – ферментов, гидролизующих ди- и полисахариды. Ранее было показано, что активность гликозидаз кишечника рыб может меняться в присутствии солей ТМ [3], при этом чувствительность гликозидаз к действию Cu, Zn и Cd изменяется при действии разных факторов, включая магнитные поля [4].

Исходя из того, что геомагнитное поле (ГМП) является одним из важных экологических факторов, можно предположить, что длительное пребывание в условиях ослабления ГМП, то есть в гипоманнитных условиях (ГМУ) может оказать неблагоприятное воздействие на организм. В ряде работ выявлена высокая чувствительность эмбрионов некоторых видов животных к данному фактору [5, 6]. Поскольку закладка пищеварительной системы у рыб происходит в эмбриональном периоде, а её формирование завершается к концу личиночного периода, представляет интерес оценка действия ГМУ как на стадии эмбриона, так и на стадии предличинки. Сведения об отдаленных последствиях действия ГМУ в период раннего онтогенеза на чувствительность пищеварительных гликозидаз к действию ТМ отсутствуют.

Цель настоящей работы – изучить активность гликозидаз и их чувствительность к действию ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Cu}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$, Pb^{2+} , Cd^{2+} , $\text{Pb}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* (L.), подвергавшихся действию ГМУ на стадии эмбриона и предличинки.

Экспозиции в ГМУ подвергались развивающиеся эмбрионы плотвы. Половые продукты получены от 3 самок и 3 самцов, отловленных неводом на нерестилище Рыбинского водохранилища в мае 2014 г. Осеменён-

ную сухим способом икру (около 3 тыс. шт. в каждом варианте опыта) помещали в кристаллизаторы с речной водой, которую меняли дважды в сутки. Развитие эмбрионов проходило при температуре 16–19°C. Опыты проводили во время спокойной геомагнитной обстановки.

Схема эксперимента включала 2 варианта воздействия ГМУ: 1) от оплодотворения до вылупления предличинки (0–163 ч. после оплодотворения (п.о.)); 2) от вылупления предличинки до появления у них плавательного пузыря (163–211 ч. п.о.). Эмбрионы и предличинки из контрольного варианта находились в условиях естественного ГМП (интенсивность 51.7 мкТл, наклонение 72.05°). Для создания ГМУ были использованы три пары взаимно ортогональных колец Гельмгольца (диаметр 0.5 м) и три источника постоянного тока (АКИП-1103, Manson Engineering Industrial Ltd., Китай). Перед каждым экспериментом с помощью трехкомпонентного магнитометра НВ0302А (НПО ЭНТ, Санкт-Петербург) определяли напряженность и направление вектора ГМП в месте проведения экспериментов. После этого систему колец Гельмгольца размещали таким образом, чтобы оси системы совпали с направлением трех компонент ГМП. Для создания ГМУ на обмотку каждой пары колец Гельмгольца подавали ток такой силы, чтобы генерируемое магнитное поле было равным по силе и противоположно направленным вектору ГМП по каждой компоненте. При этом генерируемое в центре системы колец Гельмгольца постоянное магнитное поле в значительной степени компенсировало ГМП за счет суперпозиции. Непосредственно перед экспериментом и после него ГМУ в центре системы колец Гельмгольца контролировалось с помощью магнитометра НВ0302А (НПО ЭНТ). По результатам измерений неоднородность ГМУ в рабочем объеме колец Гельмгольца, занимаемом кристаллизатором с развивающимися эмбрионами, составила 0 ± 200 нТл.

Отдаленные последствия влияния ГМУ на активность гликозидаз и их чувствительность к действию ТМ оценивали у 4-х месячной молоди плотвы. По 30 экз. сеголеток из контрольной и экспериментальных групп использовали для биохимического анализа. Активность гликозидаз определяли в суммарных гомогенатах медиального отдела кишечника от 6 экз. рыб каждой экспериментальной группы, которые считали за одну повторность. Гомогенаты готовили при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный до 2–4°C раствор Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl, 1.9 мМ KCl, 1.3 мМ CaCl₂, pH 7.4) в соотношении 1 : 9. Растворы субстратов (растворимый картофельный крахмал в концентрации 18 г/л, а также мальтоза в концентрации 50 ммоль/л) готовили на таком же растворе Рингера. Инкубацию гомогената и субстрата проводили в течение 20–30 мин при температуре 20°C, pH 7.4 и непрерывном перемешивании. При изучении влияния ТМ гомогенаты предварительно инкубировали в присутствии солей меди CuSO₄ · 5H₂O, цинка ZnSO₄ · 7H₂O, свинца Pb(NO₃)₂ или кадмия CdSO₄ или их смесей (в соотношении 1 : 1) в течение 1 ч. Концентрация ионов Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ и Cd²⁺, рассчитанная по общему содержанию металла в соли, составляла 25.0 мг/л. Такая концентрация металлов встречается в тканях рыб и объектов их питания [1].

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал – α-амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20, оценивали по приросту гексоз модифицированным методом Нельсона [7]. Для определения активности мальтазы глюкооксидазным методом применяли набор для клинической биохимии «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin&Elmer, США) при длине волны 670 нм (амилолитическая активность) и 505 нм (активность мальтазы). Активность ферментов определяли в пяти повторностях с учётом фона (количества конечных продуктов реакции в исходном гомогенате) и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчёте на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/г·мин).

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$). Нормальность распределения исследуемых показателей проверяли с помощью теста Шапиро-Уилка. При сравнении результатов проводили однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующей оценкой достоверности различий при помощи Dunnet-теста, $p \leq 0.05$.

Активность гликозидаз в отсутствие ионов металлов у рыб, развивавшихся в ГМП, и подвергнутых действию ГМУ на стадии эмбриона не различалась (рис.). После воздействия ГМУ на стадии предличинки амилолитическая активность была ниже контроля на 18%, активность мальтазы – на 13%.

Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ и Cd²⁺ у сеголеток плотвы, как правило, увеличивается при действии ГМУ как на стадии эмбриона, так и предличинки (рис.), за исключением вариантов опыта с ионами Zn²⁺ и Pb²⁺ после действия ГМУ на эмбрионы. Так, амилолитическая активность в присутствии ионов Cu²⁺ после действия ГМУ на стадии эмбриона и предличинки была ниже контроля на 93 и 95% соответственно. Ионы Zn²⁺ вызывают меньшее снижение амилолитической активности (до 56% контроля), чем ионы Cu²⁺, а их совместное действие не оказывает кумулятивного эффекта. Снижение амилолитической активности в присутствии ионов Pb²⁺ составляет 15 и 27% по сравнению с контролем, ионов Cd²⁺ – 23 и 25% соответственно у рыб, развивавшихся в ГМУ на стадии эмбриона и предличинки. Совместное действие Pb²⁺ и Cd²⁺ не превышает суммы эффекта отдельных ионов.

Чувствительность мальтазы к действию ионов Zn²⁺ и Pb²⁺ усиливается при действии ГМУ на стадии эмбриона и предличинки, ионов Cd²⁺ и Pb²⁺ + Cd²⁺ – лишь на стадии эмбриона. При действии ГМУ на эмбрионы активность мальтазы снижается в присутствии ионов Zn²⁺ на 17%, ионов Cu²⁺ + Zn²⁺ на 13%, ионов Pb²⁺ на 20%, ионов Cd²⁺ на 30%, ионов Pb²⁺ + Cd²⁺ на 16% по сравнению с контролем. В присутствии ионов Cu²⁺ активность мальтазы не изменялась ни в одном из вариантов опыта.

Ранее было установлено, что пребывание в ГМУ негативно влияет на процессы раннего эмбриогенеза у млекопитающих [5] и земноводных [6]. При действии ГМУ на эмбрионы плотвы в период от оплодотворения до вылупления предличинки (0–163 ч. п.о.) не выявило изменений активности пищеварительных гликозидаз. Однако, пребывание в ГМУ на стадии предличинки (163–211 ч. п.о.) приводит к снижению амилолитической активности и активности мальтазы в кишечнике сеголеток. Вероятно, это может быть связано влиянием ГМУ

на развитие гепатопанкреаса и щеточной каймы клеток кишечного эпителия во время формирования необходимого набора ферментов для переваривания углеводов к концу стадии предличинки.

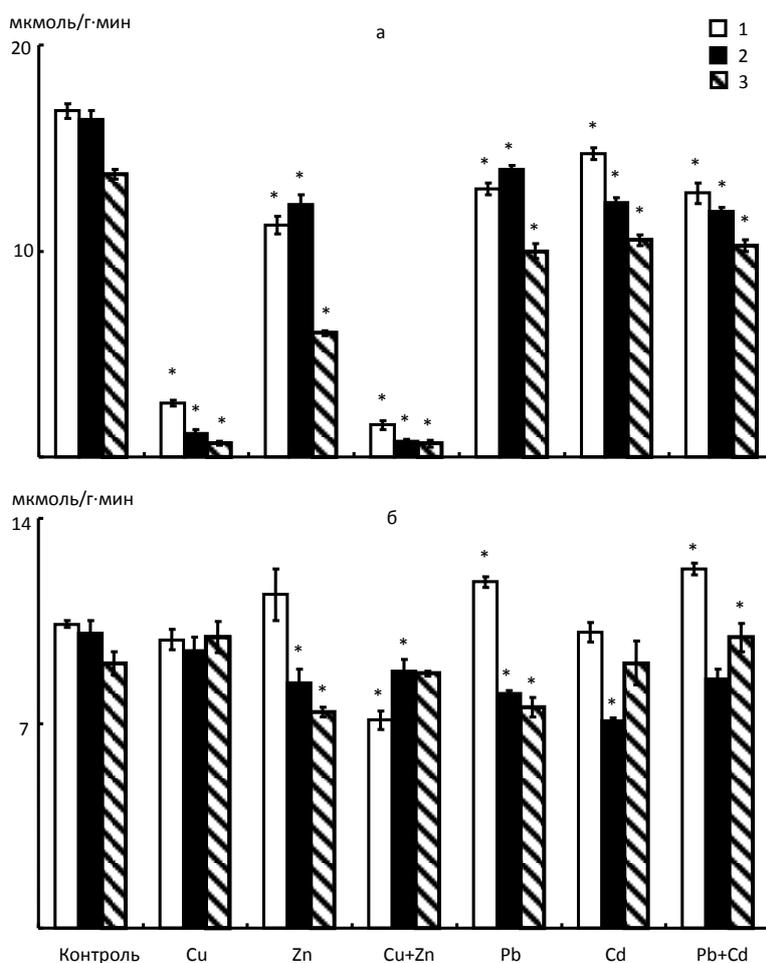


Рис. Амилолитическая активность (а) и активность мальтазы (б) в кишечнике молоди плотвы контрольной (1) и экспериментальных групп: действие ГМУ на эмбрионы (2) и предличинки (3) в присутствии ионов тяжелых металлов (25 мг/л) *in vitro*. * – статистически значимые различия между показателями относительно контроля (отсутствие металлов).

Чувствительность кишечных гликозидаз к действию ТМ может меняться при действии ряда биотических и абиотических факторов [3, 4]. Устойчивость гликозидаз к действию ионов Cd повышается с возрастом рыб и при переходе от сытого состояния к голодному. Резкое повышение температуры воды, ацидификация водоема и хроническое действие метилртути повышают чувствительность гликозидаз к действию ионов Cd^{2+} [3]. Действие имитации магнитной бури, воспроизведенной в диапазоне частот 0–5 Гц в период 48–72 ч п.о., не меняло амилолитическую активность и активность мальтазы в кишечнике сеголеток плотвы, но повышало чувствительность гликозидаз (исключая мальтазу в присутствии ионов Cu^{2+}) к действию ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} в концентрации 0.1–25 мг/л [4].

Большая чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} по сравнению с мальтазой, выявленная в настоящей и указанной выше работе, согласуется с данными о большей чувствительности панкреатических ферментов к действию антропогенных факторов по сравнению с собственно мембранными [3]. Это может быть связано с разным влиянием факторов среды на процессы синтеза панкреатических (α -амилаза) и собственно кишечных ферментов. Поскольку существует несколько изоформ α -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы, нельзя исключить и молекулярную разнокачественность гликозидаз, функционирующих в кишечнике сеголеток плотвы контрольной и опытных групп.

Эффект совместного действия ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} или Pb^{2+} и Cd^{2+} на активность гликозидаз в кишечнике сеголеток плотвы после действия ГМУ в период эмбриогенеза, как правило, не превышал суммы эффектов отдельных металлов или даже эффекта одного из металлов. Усиление совместного действия ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} в концентрации 25 мг/л на амилолитическую активность и активность мальтазы показано лишь у сеголеток, развивавшихся в условиях ГМП.

Полагают, что взаимовлияние ионов ТМ на токсичность связано со способностью конкурентно занимать определенные сайты в биологически значимых макромолекулах, приводя к изменению их функционирования. При этом токсичность определяется ионами, обладающими наибольшим сродством. Механизм токсического действия Cu, Zn, Pb и Cd на пищеварительные ферменты до сих пор не изучен, и, по-видимому, неспецифичен.

Общее токсическое действие ТМ заключается в блокировании различных биохимических реакций посредством связывания функциональных –SH-групп белков или вытеснения микроэлементов из активных центров ферментов. Торможение активности кишечных гликозидаз в присутствии ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} может приводить к снижению утилизации пищи, уменьшая скорость метаболизма и, как следствие, скорость роста рыб.

Таким образом, действие ГМУ в течение первых 163 ч. п. о. (стадия эмбриона) не меняет активность гликозидаз в кишечнике сеголеток плотвы; действие этого фактора в период от вылупления предличинки до появления у них плавательного пузыря (163–211 ч. п. о., стадия предличинки) снижает амилотическую активность и активность мальтазы по сравнению с особями, развитие которых проходило в условиях ГМП. Экспозиция эмбрионов плотвы в ГМУ, как правило, повышает чувствительность гликозидаз в кишечнике молоди к действию ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} в концентрации 25 мг/л *in vitro*. Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, к действию ионов указанных металлов, и мальтазы к действию Zn^{2+} и Pb^{2+} усиливается после действия ГМУ как на эмбрионы, так и на предличинки. Чувствительность мальтазы к ионам Cd^{2+} и комбинации ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} была выше лишь после воздействия ГМУ на эмбрионы. Эффекты совместного действия ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} , а также Pb^{2+} и Cd^{2+} не превышают суммы эффектов отдельных металлов.

Список литературы

1. Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. СПб.: Гос. науч.-исслед. ин-т озер. и реч. хоз-ва, 1999. 228 с.
2. Bury N.R., Walker P.A., Glover C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish // J. Exp. Biol. 2003. V. 206. № 1. P. 11–23.
3. Голованова И.Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутр. вод. 2008. № 1. С. 99–108.
4. Filippov A.A., Aminov A.I., Golovanova I.L. et al. Effect of magnetic storm on the sensitivity of juvenile roach intestinal glycosidase to heavy metals (Cu, Zn) and the herbicide Roundup // Inland Water Biology. 2015. V. 8. № 4. P. 417–420.
5. Осипенко М.А., Межевкина Л.М., Крацс И.В. и др. Влияние «нулевого» магнитного поля на рост эмбриональных клеток и ранних зародышей мыши в культуре *in vitro* // Биофизика. 2008. Т.53. № 4. С.705–714.
6. Mo W.-Ch., Liu Y., Cooper H.M., He R.-Q. Altered Development of Xenopus Embryos in a Hypogeomagnetic Field // Bioelectromagnetics. 2012. V. 33. № 3. P. 238–246.
7. Уголев А.М. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз / Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ СПИКАРЫ *SPICARA FLEXUOSA* (Rafinesque, 1810) ДЛЯ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ

И. И. Чеснокова

ФГБУН ИМБИ РАН, 299011, г. Севастополь, Российская федерация, mirenri@bk.ru

В работе рассмотрена возможность применения биомаркеров спикары для оценки качества прибрежных вод на примере бухт г. Севастополя. Показано увеличение активности ферментов (аминотрансфераз и щелочной фосфатазы) в гонадах рыб в акваториях, подверженных более сильному антропогенному воздействию.

В странах Европы прибрежные воды охраняются директивой Water Framework Directive, а моря – директивой Marine Strategy Framework Directive. Государства-участники этих программ к 2020 году должны улучшить или сохранить состояние своих акваторий до «good environmental status». Несмотря на то, что Российская Федерация не является членом данных программ, проблема сохранения устойчивого состояния морских экосистем является одной из актуальнейших в настоящее время в нашей стране. Решение данного вопроса тесно связано с развитием новых методологических подходов для идентификации, оценки и управления риском для гидробионтов со стороны возрастающего антропогенного воздействия, в частности химического загрязнения. Одним из приоритетных направлений в данной сфере является мониторинг состояния окружающей среды. Мониторинг химического загрязнения акваторий может быть представлен двумя направлениями: непосредственное измерение органических и неорганических соединений в среде и оценка влияния токсикантов на состояние гидробионтов. Оба метода имеют как свои достоинства, так и недостатки, тем не менее, в последнее время исследователи все чаще используют показатели разного уровня организации, отражающие воздействие среды на организм, в том числе и негативное, называемых биомаркерами.

Для диагностики наиболее ранних изменений в организмах гидробионтов применяются физиолого-биохимические биомаркеры, к ним относятся активность антиоксидантных ферментов, нарушение целостности ДНК, уровень кортизола и стероидных гормонов, активность трансаминаз и др. На суборганизменном уровне в большинстве случаев исследования проводят в крови, печени, мышцах, реже в жабрах, мозге, гонадах и других тканях. Одной из проблем применения биомаркеров является их малая экологическая значимость, связанная с привязанностью наиболее высокоспецифичных биомаркеров к низким уровням организации. Однако, при удачном подборе показателя возможна его экстраполяция на более высокие биологические уровни. Такими эффективными биомаркерами, например, могут быть показатели гонад гидробионтов, так как от состояния данного органа зависит репродуктивный успех как отдельной особи, так и выживание целой популяции и вида. Признанными биомаркерами состояния гонад являются наличие вителлогенина в плазме крови самцов и активность ароматазы в тканях представителей обоих полов. Однако, определение данных показателей достаточно трудоемко и дорогостояще, в связи, с чем возникает необходимость поиска более доступных биомаркеров. Та-

ковыми могут быть сравнительно простые и недорогие биохимические показатели - активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы (ЩФ).

Трансаминазы, ферменты, участвующие в процессах переаминирования аминокислот, связывающие водно-белковый и углеводный обмен, являются непосредственными участниками как роста и развития всего организма гидробионтов, так и созревания гонад. В свою очередь, щелочная фосфатаза вовлечена в различные метаболические процессы, такие как проницаемость, рост и дифференциация клеток, синтез белков, абсорбция и транспорт нутриентов. Данный фермент играет важную роль в обеспечении доставки неорганического фосфора к тканям, который необходим для синтеза ряда метаболитов образующихся при созревании гонад [1].

Среди черноморских видов рыб интересным объектом исследования с точки зрения патологии развития гонад является спикара. Спикара относится к гермафродитам: молодые особи рождаются самками, а в возрасте 3-4 лет становятся самцами. Этот естественный процесс может быть легко нарушен под действием разного рода загрязнителей.

Таким образом, целью настоящей работы являлось исследование возможности применения биомаркеров (активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы) гонад спикары для оценки качества водной среды.

Для проведения исследования отбирались особи спикары ($n = 123$) с гонадами, находящимися на стадии покоя (осенне-зимний период). Рыб отлавливали в 3-х акваториях г. Севастополя: Балаклавской ($n = 43$), Александровской ($n = 31$) и Карантинной ($n = 49$). Бухта Александровская является частью большой Севастопольской бухты, и классифицируется по качеству донных осадков как одна из наиболее загрязненных бухт г. Севастополя. Это обусловлено тем, что бухта Севастопольская является полузамкнутой акваторией с затрудненным водообменом, которая длительное время подвергается антропогенному воздействию. Орудия лова в бухтах Карантинной и Балаклавской находятся на выходе из данных акваторий. Здесь осуществляется интенсивный водообмен с прилегающими частями моря, следовательно, несмотря на наличие источников загрязнения, таких, как например, аварийный выпуск хозяйственно-бытовых сточных вод в самих бухтах, уровень токсикантов в районах исследования существенно ниже, нежели в бухте Александровской [2].

Рыб подвергали полному биологическому анализу, гонады извлекали и помещали в морозильную камеру (-20°C), сроком не более чем на один месяц. Гомогенаты тканей готовили на холоду с добавлением физиологического раствора, центрифугировали в течение 15 минут при 1000 об/м для удаления остатков не разрушенных тканей. Определение активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы проводили по стандартным методикам с применением наборов реактивов «АЛТ-РФ-ОЛЬВЕКС», «АСТ-РФ-ОЛЬВЕКС», «ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-2-ОЛЬВЕКС». Полученные результаты пересчитывали на содержание белка в гомогенате, концентрацию белка также определяли с применением набора «ОБЩИЙ БЕЛОК-ОЛЬВЕКС».

У самок спикары из б. Александровской активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в 2–3 раза выше, нежели у особей, отловленных в б. Карантинная и Балаклавская (рис. 1). У самцов из б. Александровская активность АЛТ также выше, однако отличия не достоверны. Активность фермента у рыб из б. Карантинная и Балаклавская как у самок так и у самцов не различалась.

Получена достоверно более высокая активность аспаратаминотрансферазы (АСТ) у самок и самцов спикары из б. Александровской (рис. 2). В гонадах самок из б. Александровская данный показатель выше в 4 раза, нежели у особей из б. Балаклавской, у самцов – в 3 раза. У самок из б. Карантинная активность фермента выше более чем в 2 раза, по сравнению с особями из б. Балаклавской.

Активность щелочной фосфатазы была достоверно больше у рыб обоих полов из б. Александровской (рис. 3). Существенных отличий в активности ЩФ у рыб из б. Карантинная и б. Балаклавская не установлено как для самок, так и для самцов.

Полученные нами данные для трех исследуемых ферментов показывают существенное возрастание значений у рыб, отловленных в наиболее загрязненном районе - б. Александровской. Другими исследователями обнаружено, что под действием токсикантов в гонадах рыб наблюдается частичный лизис клеток, образование опухолей, атрезия, изменения в ядерной и цитоплазматической организации ооцитов, вплоть до их инволюции [3]. Установленное нами увеличение активности аминотрансфераз связано с выполняемыми данными ферментами функциями. В ответ на изменение состояния гонад под действием тех или иных условий обитания, в том числе загрязнения, активизируются процессы, направленные на поддержание нормального функционирования органа, в частности усиливается синтез белков и, следовательно, возрастает потребность в различных аминокислотах.

Снижение содержания белка в гонадах рыб под действием токсикантов показано и другими исследователями. Так, в гонадах мешкожаберного сома *Heteropneustes fossilis* содержание белка падает более чем в 2-4 раза по сравнению с контролем под действием сточных вод текстильного завода [4]. Аналогичные результаты показаны и для обыкновенного длинноперого сома *Clarias batrachus* при отравлении метилртутью [5] и для пятнистого змееголова *Channa punctatus* под действием цинка [6].

Наряду с этим важным в условиях стрессового состояния организма является поддержание надлежащего энергетического уровня метаболизма в органах. В этом случае аминотрансферазы, в частности АЛТ, являются поставщиком аланина – субстрата для синтеза глюкозы.

Повышение активности ЩФ у рыб из менее экологически благополучных районов также свидетельствует об активизации процессов, направленных на компенсирование возникших нарушений, выражающейся в повышенной востребованности различных метаболитов, в том числе и фосфорсодержащих. Увеличение активности ЩФ в гонадах под действием химических загрязнителей было показано и для других рыб, например при воздействии цинком на особей пятнистого змееголова [7].

Таким образом, активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в гонадах спикары является в достаточной мере чувствительной к негативному воздействию и может быть рекомендована для применения в качестве биомаркеров для оценки качества водной среды.

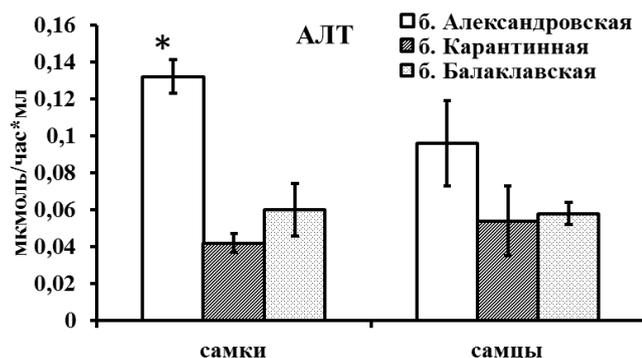


Рис. 1. Активность аланинаминотрансферазы в гонадах спикары из трех акваторий г. Севастополя.

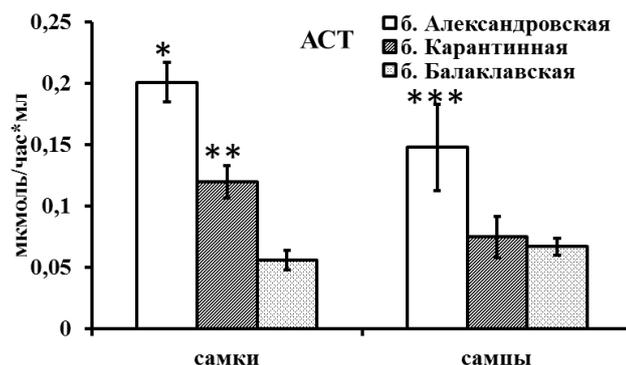


Рис. 2. Активность аспартатаминотрансферазы в гонадах спикары из трех акваторий г. Севастополя.

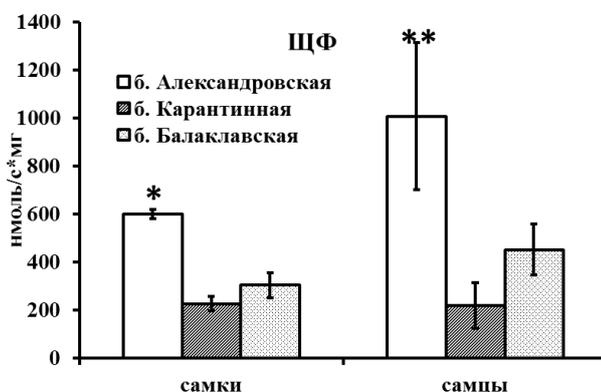


Рис. 3. Активность щелочной фосфатазы в гонадах спикары из трех акваторий г. Севастополя.

Список литературы:

1. Sharma R.K., Bhat R.A. Changes in Acid Phosphatase and Alkaline Phosphatase activity in gonads of Rainbow trout // J. Chem. Biol. Phys. Sci. Sec.: B. 2016. Vol. 6. № 4. P. 1370–1374.
2. Экоотоксикологические исследования прибрежной черноморской ихтиофауны в районе Севастополя. М.: ГЕОС, 2016. 360 с.
3. Baruah B.K., Das M. Histopathological changes in ovary of fish *Heteropneustes fossilis* exposed to paper mill effluent // Aquaculture. 2002. Vol. 3. № 1. P. 29–32.
4. Mishra K., Khatri A. Alteration in protein and glucose level in the ovary of a fresh water cat fish *Heteropneustes fossilis* (Bloch) exposed to textile dyes // Intern. J. Res. GRANTHAALAYAH. 2015. Vol. 3, iss. 9 (sp. ed.). P. 1–4.
5. Verma B.P., Sinha A.P., Nomani M.M.R. Effect of methyl mercuric chloride (MMC) on ovarian cycle of *Clarias batrachus* // Aquaculture. 2002. Vol. 3 (1). P. 17–27.
6. Srivastava N., Verma H. Alterations in biochemical profile of liver and ovary in zinc-exposed fresh water murrel, *Channa punctatus* (Bloch) // J. Environ. Biol. 2009. Vol. 30. № 3. P. 413–416.
7. Verma H., Srivastava N. Changes in certain enzymes of the ovary and liver in *Channa punctatus* // Electron. J. Ichthyol. 2010. Vol. 6. P. 1–8.

БИОИНДИКАЦИЯ СОЛЕННЫХ ОЗЕР: ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ПРОБЛЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ ГИПЕРГАЛИННЫХ ВОДОЕМОВ КРЫМА)

В. Г. Шайда, И. И. Руднева

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН
299011, г. Севастополь, Россия, svg-41@mail.ru

Прибрежные соленые озера Крыма образовались более 6.5–7 000 лет назад, но последние 70 лет подвергаются массивному антропогенному воздействию. Изложены основные принципы организации экотоксикологического мониторинга соленых озер Крыма и возможное решение проблем, связанных с его проведением.

Гиперсоленые водоемы широко распространены по всему миру в различных географических зонах. Они характеризуются высоким содержанием соли (более 35‰), упрощенной трофической структурой и относительно низким биоразнообразием фауны, которое состоит исключительно из беспозвоночных [1]. В то же время гиперсоленые экосистемы интенсивно используются в хозяйственной деятельности для добычи соли и СПА-материалов, различных минералов для химической промышленности (бромидов, солей магния, калия, мирабилита, совелита), в лечебных бальнеологических целях, а в последнее время становятся все более популярными для туристических и рекреационных целей [2]. Цисты и биомасса доминирующего вида ракообразного артемии *Artemia sp.* являются важнейшим стартовым кормом для объектов аквакультуры, а некоторые виды микроводорослей и галофильных бактерий привлекают особое внимание исследователей для применения в биотехнологии получения биологически активных соединений и лечебных препаратов, а также в технологических циклах по биоремедиации полициклических ароматических углеводородов. Однако данные об экотоксичности соленых озер недостаточны, тогда как они важны для оценки экологического риска, разработки мер рационального использования их ресурсов и природоохранных мероприятий. При этом эти водные экосистемы очень уязвимы и чувствительны к влиянию как природных факторов, так и антропогенных, а также их совокупности [3]. Активная сельскохозяйственная деятельность, урбанизация и рекреация наряду с климатическими изменениями являются основными повреждающими факторами, негативно воздействующими на гипергалинные водоемы.

На Крымском полуострове насчитывается более 300 внутренних водоемов, среди которых 45 озер относятся к гиперсоленым экосистемам, глубина которых колеблется в пределах 1 м. Они сгруппированы в 5 групп в зависимости от географического расположения: Перекопская группа (10 озер), Евпаторийская группа (15 озер), Тарханкутская группа (10 озер), Керченская группа (7 озер) и Херсонесская группа (3 озера). Крымские соленые озера сформировались около 6.5–7 000 лет назад, и согласно их минералогической истории они подразделяются на морские и внутренние. Вода озер первой группы имеет морское происхождение, так как в отдаленные эпохи они были морскими заливами или эстуариями, затем отделились от моря песчаными насыпями, тогда как вода второй группы озер образовалась в результате углублений рельефа и последующего насыщения минеральными солями, поступающими с грунтовыми водами из почвы и осадочных пород [4]. Крымские соленые озера содержат значительные количества минералов, включая бромиды, калий, магний, мирабилит, совелит, которые широко применяются в химической, косметической и фармацевтической промышленности. Грязи Сакского озера используются в бальнеологии для лечения различных патологий опорно-двигательной системы и других заболеваний. Солепромыслы организованы на озере Сасык-Сиваш и Сиваш (в настоящее время не функционирует), а цисты артемии добываются браконьерским способом. В последние годы крымские соленые озера становятся все более популярными для туристических и рекреационных целей.

Однако, последние 70 лет крымские соленые озера подверглись действию различных видов хозяйственной деятельности, что привело к их загрязнению химическими веществами и микрофлорой, которые в ряде случаев привели к тяжелым последствиям, выражающимся в их распреснении, эвтрофировании и загрязнении. Некоторые озера полностью исчезли, другие деградировали как гиперсоленые экосистемы, превратились в пресноводные водоемы, третьи пересохли, четвертые преобразовались в водные объекты иного типа. В результате этого если в середине 20 столетия общая площадь крымских соленых озер составляла 390 км², то к концу века она была 170 км², то есть около 45% гиперсоленых водоемов было утрачено в результате активной хозяйственной деятельности [4]. Соленые озера, постоянно подвергающиеся действию различных сточков промышленных предприятий, объектов сельского и коммунального хозяйства, становятся не пригодными для использования в рекреационных и туристических целях, а в некоторых случаях являются опасными для окружающей среды. При этом ситуация усугубляется в связи с изменением климата и существенным повышением средних годовых температур, особенно в летний период. Совершенно очевидно, что разработка основ системы биомониторинга соленых озер является актуальной и важнейшей проблемой Крымского полуострова.

Доминирующим видом в крымских соленых озерах, как и в большинстве других гипергалинных экосистемах, является жаброногий рачок артемия *Artemia sp.* [5]. Поскольку этот вид по способу питания является фильтратором, то он способен концентрировать различные загрязнители, содержащиеся в воде озер, и тем самым служить индикатором экологического состояния экосистемы. Помимо этого, различные онтогенетические стадии артемии являются отличными тест-объектами при проведении биоиндикации природных соленых вод и биотестировании различных токсикантов, в связи с чем биомаркеры артемии широко применяются в экотоксикологических исследованиях [6]. Кроме артемии для оценки состояния солонатоводных экосистем и проведения токсикологических экспериментов используются также фораминиферы, остракоды, гарпактикоиды, хириноиды и другие беспозвоночные [7].

Наши исследования были направлены на изучение трех крымских соленых озер, относящихся к Евпаторийской группе – Ойбургское озеро, Сакское озеро и озеро Конрадское, которые расположены в прибрежной части и отделены от моря песчаными пересыпями. Географическое положение озер и их характеристики приведены в табл. 1.

Таблица 1. Географическое положение и основные характеристики исследуемых озер

Озеро	Координаты	Площадь, м ²	Длина, км	Ширина, км		Глубина, м	
				средняя	максимум	средняя	максимум
Ойбургское	45°16'55.8"N 33°04'18.7"E	6.3	4.0	1.3	1.5	2.0	3.9
Конрадское	45°11'10.3"N 33°12'30.6"E	1.9	2.0	0.7	0.8	0.85	1.55
Сакское	45°07'25.8"N 33°35'09.8"E	9.7	5.5	1.6	3.0	0.6	1.52

Изучали физико-химические параметры воды озер, а также основные характеристики цист артемии, собранных на побережье водоемов в декабре 2015 г. Анализировали pH, температуру, содержание кислорода и нитратов, концентрацию калия, меди, кадмия и свинца. Определяли процент вылупления цист.

Образцы воды отбирали в 3–4 местах по периметру озера, расположение которых определяли с помощью смартфона GSM A510F/DS (Samsung Electronics. CoLtd, Южная Корея). Температуру воды измеряли непосредственно в озере термометром HANNA Instruments Check Temp–1 (Фирма Вольта, Санкт-Петербург, Россия). В исследуемый период она колебалась в пределах 12.5–14.9°C. Значения pH, уровень растворенного кислорода, концентрацию калия и нитратов измеряли на анализаторе Эксперт-001 Ecomix-Expert (Моеха CoLtd, Москва, Россия), используя соответствующие селективные электроды фирмы Вольта (Санкт-Петербург, Россия). Соленость рапы определяли на солемере PAL-06S LTA GO (Япония) и выражали в г/л (‰). Содержание Cd, Pb и Cu анализировали на Вольт-амперометрическом анализаторе ABC-1.1 фирмы Вольта с пределом определения для Cd, Pb 0.1 мкг/л и для Cu 0.3 мкг/л.

Собранные цисты артемии отмывали и высушивали согласно стандартным рекомендациям. Процент вылупления определяли общепринятыми методами посредством инкубации цист в воде соленостью 25‰, T=25°C в течение 48 ч.

Результаты обрабатывали статистически общепринятыми методами, вычисляли среднее арифметическое M и ошибку средней m . Достоверность различий анализировали по критерию Стьюдента, результаты считали достоверными, если $p < 0,05$.

Результаты исследований показали существенные различия физико-химического состава рапы трех исследуемых озер (табл. 2).

Таблица 2. Гидрохимические показатели рапы исследуемых озер ($M \pm m$)

Озера	Соленость, ‰	O ₂ , мг/л	pH	K ⁺ , г/л	NO ₃ ⁻ мг/л
Ойбургское	122.0 ± 0.8	7.8 ± 0.1	8.0 ± 0.1	3.8 ± 0.5	57.4 ± 5.2
Конрадское	232.0 ± 1.0	7.9 ± 0.1	7.6 ± 0.1	11.7 ± 1.2	220.0 ± 14.3
Сакское	223.0 ± 2.0	7.0 ± 0.1	8.2 ± 0.1	8.6 ± 0.4	120.0 ± 5.0

Как можно видеть, исследуемые озера существенно различаются по гидрохимическим показателям, несмотря на то, что находятся на близком расстоянии друг от друга. Соленость рапы Ойбургского озера была самой низкой по сравнению с соответствующими параметрами двух других водоемов, где она была почти в 2 раза выше ($p < 0,01$). Содержание кислорода варьировало незначительно, при этом отрицательная корреляция была установлена между соленостью рапы и уровнем кислорода ($r = -0,77$). Значения pH были выше в Ойбургском озере по сравнению с Сакским и Конрадским. Установлена существенная корреляция между величинами pH и соленостью рапы ($r = -0,86$). Самые низкие концентрации ионов K⁺ и NO₃⁻ были отмечены в воде Ойбургского озера, самые высокие – в Конрадском, показатели Сакского озера имели промежуточные значения. Высокая корреляция обнаружена между соленостью и содержанием ионов K⁺ ($r = 0,79$), тогда как связь с концентрацией NO₃⁻ была существенно ниже ($r = 0,39$).

Содержание тяжелых металлов в рапе исследуемых соленых озер представлено в табл. 3. Как можно видеть, наиболее высокая концентрация меди отмечена в Ойбургском озере (1.2 ± 0.3 мг/л), самая низкая – в Сакском озере (0.3 ± 0.05 мг/л), в Конрадском озере содержание меди имело промежуточные значения (0.9 ± 0.2 мг/л). Уровень Pb был одинаков в Ойбургском и Конрадском озере, тогда как в Сакском озере его значения были выше в 4 раза. Cd был обнаружен только в рапе Сакского озера в незначительных количествах, в воде других водоемов он отсутствовал.

Результаты исследований позволили установить различия в показателях выклева цист артемии (рис.). Наименьшие величины выклева цист установлены для образцов, собранных в Ойбургском озере ($1.4 \pm 0.3\%$),

тогда как вылупление науплиев из цист артемии из Конрадского и Сакского озера было существенно выше и составило $10.9 \pm 1.3\%$.

Таблица 3. Содержание тяжелых металлов в воде исследуемых озер (мг/л, $M \pm m$)

Озера	Cu	Pb	Cd
Ойбургское	1.2 ± 0.3	0.04 ± 0.005	–
Конрадское	0.9 ± 0.2	0.04 ± 0.005	–
Сакское	0.3 ± 0.05	0.177 ± 0.02	0.006 ± 0.001

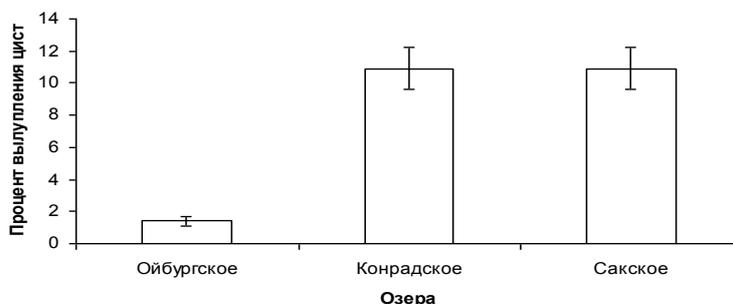


Рисунок. Процент вылупления цист артемии из трех исследуемых озер, $M \pm m$.

Исследуемые крымские соленые озера характеризуются высоким уровнем солености в течение всего года, хотя некоторые из них пересыхают в летний период. Соленость и pH являются важнейшими факторами в экосистеме соленых озер, которые в значительной степени определяют их биоразнообразие и условия существования биоты. pH в исследуемых водоемах варьировал в пределах 7.7–8.2, что в основном обеспечивается за счет присутствия карбонатов (96%) и в меньшей степени за счет боратов (4%). Однако, в результате испарения происходит осаждение арагонита и роль боратов в установлении pH становится доминирующей. Таким образом, в летний период, когда температура воздуха повышается выше 35°C , происходит резкое нарастание солености и изменение физико-химических условий в экосистеме. Наши исследования показали, что концентрация иона калия выше в озерах с высокой соленостью – Конрадском и Сакском ($r = 0.79$). Совершенно очевидно, что увеличение солености, а также концентрации ионов, в том числе тяжелых металлов, может представлять опасность для биоты, включая различные жизненные стадии артемии. Таким образом, изменение солености, pH и концентрации ионов в рапе может быть естественными стрессорами для биоты в случае повышения температуры и интенсивного испарения, что было отмечено и для других гиперсоленых экосистем [2,3].

Другим важнейшим параметром является концентрация кислорода в воде, которая варьировала в пределах 7.0–7.9 мг/л. Содержание нитратов было значительно выше в Конрадском озере (220.0 ± 14.3 мг/л) по сравнению с Сакским (120.0 ± 5.0 мг/л) и Ойбургским (57.4 ± 5.2 мг/л). Основными источниками биогенов, попадающих в эти водоемы, являются сельскохозяйственные и коммунальные стоки, представляющие существенную опасность для гиперсоленых озер, прежде всего для их биоты. Помимо этого, повышение концентрации биогенов приводит к сильному эвтрофированию, что ежегодно наблюдается на соленых озерах Крыма в теплый период года.

Присутствие тяжелых металлов в воде исследуемых крымских озер является следствием как естественных процессов, так и антропогенной деятельности, что наблюдается повсеместно [1]. Нами были отмечены высокие концентрации меди в рапе крымских соленых озер 0.3–1.2 мг/л. Cd был обнаружен только в воде Сакского озера в незначительных количествах (0.006 мг/л), содержание свинца было также выше в данном водоеме по сравнению с двумя другими (0.177 мг/л против 0.40 мг/л соответственно).

Гиперсоленые озера являются экстремальными и изменяющимися экосистемами, и организмы, обитающие в них, должны иметь специальные приспособления для поддержания своей жизнедеятельности. С другой стороны, нарастание антропогенной активности создает дополнительные стрессовые ситуации, влияющие на их жизненные функции и нарушающие их. Артемия – широко распространенный и доминирующий вид в гиперсоленых экосистемах, и ее состояние может отражать условия обитания в них. В то же время различные жизненные стадии артемии являются объектами экотоксикологии и широко используются в токсикологических определениях.

Наши исследования показали, что процент вылупления цист артемии из исследуемых крымских озер относительно невысок, что зависит от многих природных факторов, таких как специфика водоема, состав рапы, кормовая база, период годового цикла, но также на эти характеристики может оказывать влияние антропогенная деятельность. В частности, самки артемии из озер с выраженными экстремальными условиями, включая загрязнение в результате хозяйственной деятельности, продуцируют менее жизнеспособные цисты, период диапаузы которых длится значительно дольше. Нельзя исключать и того, что взрослые особи артемии, являясь фильтраторами, накапливают значительные количества токсикантов, которые аккумулируются в цистах и негативно влияют на выклев и развитие личинок.

Таким образом, результаты исследований показали, что природные и антропогенные факторы, а также их сочетание в современных условиях изменения климата могут являться стрессовыми для биоты гиперсоленых озер. Учитывая тот факт, что ресурсы этих экосистем активно используются человеком в различных отраслях его хозяйственной деятельности, разработка основ мониторинга этих водоемов является важной и актуальной задачей экотоксикологии.

Список литературы

1. Varo I., Redon S., Garcia-Roger E.M., Amat E., Guinot D., Serrano R., Navarro J.C. Aquatic pollution favor the success of the invasive species *A. franciscana* // *Aquat. Toxicol.* 2015. V.161. P. 208–220.
2. Shadkam S, Ludwig F, van Vliet T.H., Pastor A., Kabat P. Preserving the world second largest hypersaline lake under future irrigation and climate change // *Sci. Total Environ.* 2016. V. 559. P.317–325.
3. Wooldridge T.H., Adams J.B., Fernandes M. Biotoc responses to extreme hypersalinity in an arid zone estuary, South Africa. // *South Africa J. of Bot.* 2016. V. 107. P. 160–169.
4. Гулов О.А. Экоцид крымских соляных озер. Теория и практика восстановления внутренних водоемов. СПб.: «Лема», 2007. С. 60–78
5. Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments (Review) // *World J. Microbiol. Biotech.* 2016. V. 32, is. 8. P. 135.
6. Barut I.F., Nazik A., Balkis N., Aksu A., Erşan MS. Ostracoda as bioindicators of anthropogenic impact in Salt lakes, salt pans, and a lagoon: A case study from the Gulf of Saros coast (NE Aegean Sea) // *Turkey Revue de micropaleontology.* 2015. V. 58. P. 351–367.
7. Libralato G., Prato E., Migliore L., Cicero A.M., Manfra L. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia spp.* // *Ecological Indicators.* 2016. V. 69. P.35–49.

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРОМЫСЛОВЫХ ВИДАХ РЫБ ВОЛГОГРАДСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Е. А. Шашуловская, С. А. Мосияш

ФГБНУ Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства
им. Л. С. Берга, Саратовское отделение
410002, г. Саратов, Россия, shash.elena2010@yandex.ru

Представлены результаты ихтио-токсикологического мониторинга содержания тяжелых металлов (кадмия, свинца, цинка, меди и марганца) в мышцах и печени основных промысловых видов рыб Волгоградского водохранилища.

Волгоградское водохранилище является замыкающим водоемом комплексного назначения в огромном Волжско-Камском каскаде, формирование рыбных ресурсов в котором в значительной степени происходит в условиях антропогенного пресса. К числу приоритетных загрязняющих веществ водных экосистем прежде всего относят соединения тяжелых металлов (ТМ), которые в силу особенностей биоаккумуляции и биомagniфикации приводят к негативным последствиям. Употребление рыбной продукции с повышенными концентрациями токсичных элементов может, в конечном итоге, отразиться на здоровье человека. Следовательно, оценка безопасности пищевой продукции имеет не менее важное значение, чем вопросы ее пищевой ценности. Все вышесказанное и определяет актуальность исследования, результаты которого могут быть использованы для эколого-рыбохозяйственного мониторинга поверхностных водных объектов.

Материалом для настоящих исследований послужили пробы органов основных промысловых видов рыб Волгоградского водохранилища – леща *Abramis brama* (Linnaeus) и судака *Stizostedion lucioperca* (L.), отобранных в осенний период 2013–2016 гг. из траловых уловов. Отбор проб проводили по стандартным мониторинговым разрезам в верхней, средней и нижней зонах водохранилища. Для анализа использовали усредненные пробы мышц и печени от 5–10 особей каждого вида, в результате чего было обработано около 240 экз. рыб. Средний возраст рыб составил для леща и судака соответственно 9.3 ± 0.6 и 6.1 ± 0.6 лет.

Содержание цинка, кадмия, свинца и меди определяли методом инверсионной вольтамперометрии на приборе АКВ-07 МК (изготовитель г. Москва). Определение марганца проводили на фотометре Spectroquant NOVA-60 стандартными методами.

Наиболее важен контроль за содержанием в объектах рыболовства соединений техногенных элементов, таких как кадмий и свинец. Эти ТМ являются наиболее токсичными, и их содержание в рыбном сырье нормируется санитарными нормами [1]. Высокие концентрации Pb и Cd в клетках организмов оказывают эмбриотоксическое действие, обладают канцерогенными свойствами, парализуют центральную нервную систему, нарушают синтез белков и вызывают некротические изменения в гонадах.

Цинк, медь и марганец являются биофильными элементами, но и они в высоких концентрациях становятся ядами для гидробионтов. Поэтому контроль за содержанием этих металлов в органах и тканях рыб также необходим для оценки экологического состояния ихтиоценоза водохранилищ. Кроме того в условиях комплексного влияния загрязняющих веществ в водоемах имеет место антагонистическое или синергическое действие между ними. С одной стороны, может наблюдаться избыток некоторых соединений в результате аккумуляции, с другой стороны – недостаток эссенциальных элементов в результате разрушения ферментных систем, выведения или замещения в организме важных для жизнедеятельности микроэлементов другими, более токсичными [2].

По результатам наших исследований, кадмий в мышцах основных промысловых видов рыб обнаружен только в районе г. Саратова в количестве 0.027–0.08 мг/кг сырой массы. Экстремальные концентрации этого

токсичного элемента были характерны для судаков и достигали 0.23 мг/кг, что в пределах нормы (0.2 мг/кг). Накопление кадмия в мышцах рыб в этом районе связано, очевидно, с влиянием промышленного комплекса.

Известно, что интенсивность накопления ТМ гидробионтами обусловлена их физико-химическими свойствами, содержанием в окружающей среде и потребляемой пище [3].

Очевидно, что в силу значительной однородности водной среды таксономически близкие гидробионты должны иметь определенное сходство в микроэлементном составе. Однако видовые специфические особенности, характер питания, локальные загрязнения в водоемах обуславливают различия в содержании микроэлементов в их тканях и органах.

Проведенные нами исследования показали, что наибольшие количества свинца, одного из наиболее токсичных элементов, обнаружены в мышцах судаков количестве 0.81 мг/кг сырой массы (рис.1 А), что ниже допустимых санитарных уровней для пищевых продуктов (1.0 мг/кг).

В мышцах этого вида рыб средняя концентрация марганца достигала 2.95 мг/кг, что почти в 2 раза выше, чем у лещей. Накопление меди, наоборот, было максимальным в мышечной ткани лещей и составило 1.23 мг/кг. Содержание цинка в мышцах у исследованных представителей ихтиофауны водохранилища было одинаковым (см. рис. 1А).

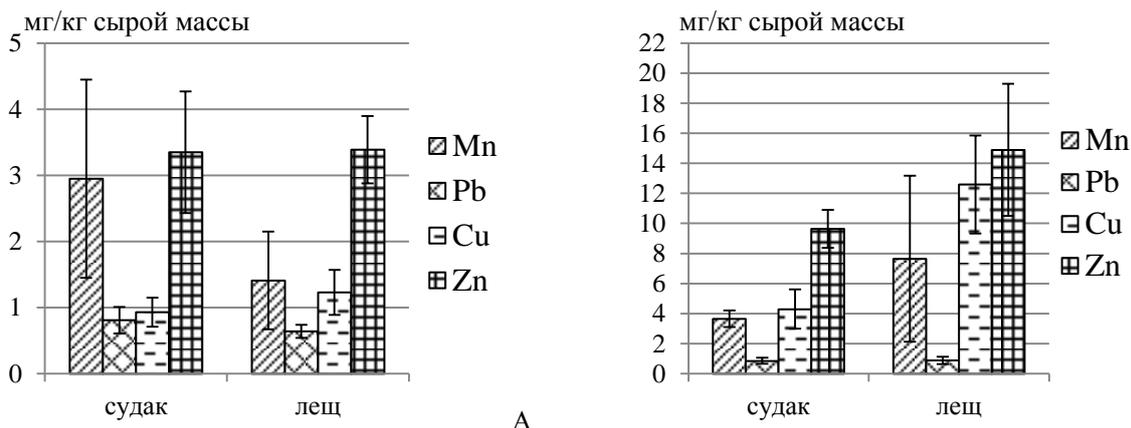


Рис. 1. Содержание некоторых металлов (среднее и доверительный интервал) в мышцах (А) и печени (В) основных промысловых видов рыб Волгоградского водохранилища в 2013–2016 гг.

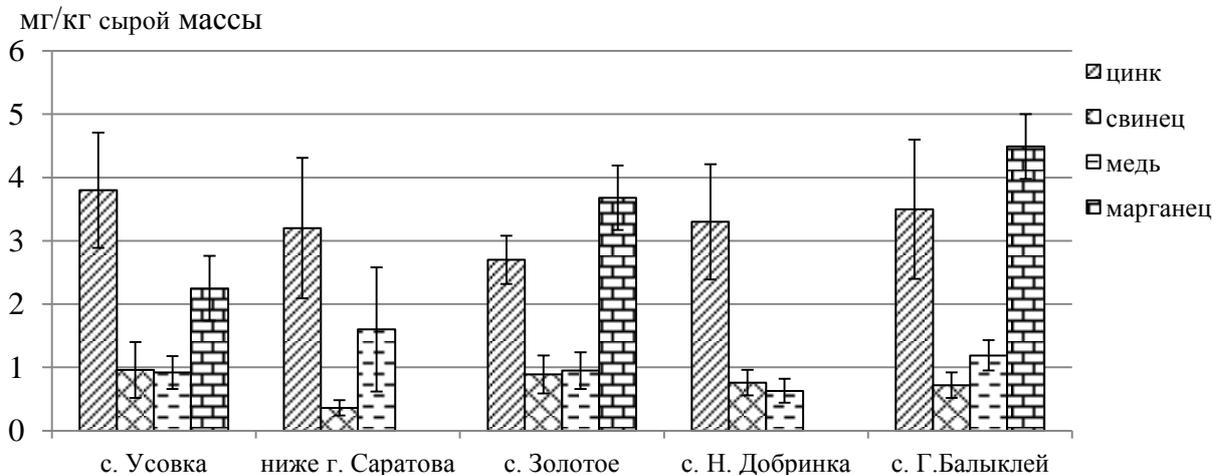


Рис. 2. Содержание некоторых металлов (среднее и доверительный интервал) в мышцах основных промысловых видов рыб по продольной оси Волгоградского водохранилища в 2013–16 гг.

Проведенные нами ранее работы [4], а также экспериментальные данные других исследователей [5, 6] свидетельствуют о том, что поглощающая способность тканей рыб различна в силу их функциональных и морфологических особенностей. Многие авторы акцентируют свое внимание на печени рыб, которая выполняет в организме роль активного биологического барьера между организмом и окружающей средой.

Наши результаты выявили наибольшее содержание в печени проанализированных видов рыб цинка и меди (рис. 1 В), что хорошо согласуется с литературными данными других исследователей [2, 3, 6]. Находящиеся в печени специфические белки металлотронеины образуют комплексы с медью и цинком, что является регуляторным механизмом приобретенной толерантности рыб к высоким концентрациям этих элементов [7]. Накопление свинца в печени рыб отмечено в интервале 0.85–0.88 мг/кг (см. рис. 1В), что свидетельствует, вероятно, о других механизмах концентрирования этого неэссенциального элемента.

Наименьшие концентрации в печени характерны для кадмия и обнаружены у судаков в доверительном интервале 0.16 ± 0.06 , у лещей – 0.34 ± 0.10 мг/кг сырой массы. Концентрирование этого токсичного элемента в

печени в меньшей степени угрожает здоровью человека, т.к. в пищу преимущественно употребляется мышечная ткань.

Накопление исследованных металлов в мышцах рыб по продольной оси водохранилища носит неоднозначный характер (рис. 2). Различия обусловлены, вероятно, физико-химическими условиями среды, индивидуальными особенностями особей и ролью элементов в метаболических процессах.

По сравнению с периодом 1990–91-х гг., который явился началом спада промышленного производства и, как следствие, уменьшения антропогенного влияния на водоем, средние концентрации меди, марганца и цинка в мышцах рыб понизились в 2–5 раз. Свинец, в отличие от указанных выше металлов, встречался преимущественно в верхней и средней зонах водохранилища в широком диапазоне от 7.1 мг/кг сырой массы до аналитического нуля [8]. В настоящее время максимальные концентрации этого элемента в мышцах рыб понизились, наблюдается и более равномерное распределение по акватории. Кадмий по-прежнему встречается в единичных пробах. Однако, если в начале 90-х годов прошлого столетия минимальные концентрации этого элемента находились в диапазоне 0.1–0.2 мг/кг, то в настоящее время более чувствительное аналитическое оборудование позволяет обнаруживать содержание Cd в мышцах на уровне 0.020–0.025 мг/кг.

Таким образом, проведенные исследования показали, что средние концентрации кадмия и свинца в мышцах рыб Волгоградского водохранилища не превышают допустимых санитарных уровней для пищевых продуктов. Наибольшие концентрации металлов содержатся, как правило, в печени рыб, что в меньшей степени угрожает здоровью потребителей, т.к. в пищу преимущественно употребляется мышечная ткань.

Список литературы

1. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Введ. 1.09.2002. [Электрон.ресурс]. URL:<http://base.garant.ru> (Дата обращения: 01.06.2017).
2. Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты. Институт водных проблем РАН. М.: Наука, 2009. 400 с.
3. Жадко Е.А., Стеблевская Н.И., Полякова Н.В., Чусовитина С.В. Микроэлементы в тканях некоторых видов гидробионтов залива Петра Великого // Научные труды Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета, 2013. Т. 30. №1. С. 19–27.
4. Шашуловская Е.А., Мосияш С.А., Филимонова И.Г., Кузина Е. Г. Соединения тяжелых металлов в биогидроценозе Ириклинского водохранилища// Рыбохозяйственные водоемы России: материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию ГосНИОРХ. [Электрон.ресурс]. СПб, 2014. С. 1132–1139. URL: http://mail.niorh.ru/download.pub/Conference/Fishery_ponds_2014.pdf (Дата обращения: 01.06.2017).
5. Бияк В.Я., Хоменчук В.А., Курант В.З., Грубинко В.В. Видовые особенности распределения тяжелых металлов в организме рыб Западного Подолья // Гидробиол. журн. 2009. Т.45. №3. С. 55–64.
6. Новиков В.В., Маркова Н.Н. Содержание тяжелых металлов в наиболее распространенных промысловых рыбах Волгоградского водохранилища // Аграрная наука. 2009. №1. С. 27–28.
7. Кашулин Н.А., Решетников Ю.С. Накопление и распределение никеля, меди и цинка в органах и тканях рыб в субарктических водоемах // Вопр. ихтиологии. 1995. Т. 35. № 5. С. 687–697.
8. Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. СПб.: ГосНИОРХ, 1999. 228 с.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МОНИТОРИНГЕ АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ УЧАСТКОВ РЕКИ ОБИ В АКВАТОРИИ ГОРОДА СУРГУТА

Е. А. Шорникова, И. Т. Хайруллова, Т. О. Шведюк

*БУ ВО ХМАО–Югры Сургутский государственный университет
628400, г. Сургут, Россия, saricin72@mail.ru*

В работе представлены результаты микробиологических исследований, которые выполнялись в рамках постоянных наблюдений качества воды реки Оби в акватории города Сургута в период 2003–2006 и 2012–2016 гг. Полученные результаты были использованы для определения характера, интенсивности и длительности загрязнения водного объекта.

В среднем течении Оби в пределах Ханты-Мансийского округа–Югры есть интересный участок акватории, который несет свои воды в широтном направлении из Томской области, так называемый широтный отрезок Средней Оби. На данном участке характерной особенностью является беспрецедентный рост интенсивности антропогенной нагрузки, связанной с нефтегазовым освоением территории водосбора, водными грузопассажирскими перевозками, в том числе углеводородных ресурсов, постоянным приростом площади урбанизированных территорий, ростом численности населения, прогрессирующим сбросом хозяйственно-бытовых, промышленных и ливневых сточных вод. В акватории крупнейшего в пределах ХМАО–Югры города Сургута в пойме Оби расположены комплексы очистных сооружений города и объектов нефтепереработки, автомобильные и лодочные гаражные кооперативы, снежные полигоны и другие техногенные объекты. В свете постоянных перемен в водоохранном законодательстве, с вступлением в силу ФЗ №416 «О водоснабжении и водоотведении» [1], реализации Водной стратегии РФ до 2020 года [2] не теряют свою актуальность вопросы организации мониторинга на одном из крупнейших рыбохозяйственных участков РФ – в бассейне Средней Оби.

Данная работа является частью комплексного исследования, посвященного оценке экологического состояния реки Оби в акватории города Сургута [3], которое проводится на кафедре экологии СурГУ с 2003 года. Пробы воды на микробиологический анализ отбирались в соответствии с ГОСТ 31861-2012 [4] в стерильные емкости в 6 контрольных створах на участке протяженностью более 20 км в различные гидрологические сезоны. В пробах воды осуществляли учет численности бактерий различных эколого-трофических групп высевом десятикратных разведений пробы на питательные среды различного состава и последующим культивированием в термостатах: сапрофитные гетеротрофные бактерии (СГБ, среда МПА, культивирование при 25°С 3 суток), фенолрезистентные бактерии (ФРБ, среда МПА с добавлением фенола 1000 мг/л, 25°С 3 суток), бактерии группы кишечной палочки (БГКП, среда Эндо, 37°С, 1 сутки), углеводородокисляющие бактерии (УВБ, среда Диановой-Ворошиловой, 30°С, 14 суток) [5]. Характерные культуры бактерий изолировали, окрашивали по Граму, микроскопировали с определением морфологических характеристик и грампринадлежности. Параллельно с микробиологическими исследованиями выполнялся отбор и определение физико-химических показателей качества воды [3].

Таблица. Численность бактерий в пробах воды в различные гидрологические сезоны

Эколого-трофические группы бактерий	2003–2006 гг.						2012–2016 гг.			
	Половодье		Осенняя межень		Зимняя межень		Половодье		Осенняя межень	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
	тыс. кл/мл									
СГБ	0.87	6.03	0.13	7.11	0.25	3.84	40	322	13	660
БГКП	0	0	0	0.98	0	0	0	6.4	–	–
ФРБ	0	0	0	0.56	0	0.3	0	0	0	123
УВБ	–	–	–	–	–	–	–	–	0.1	10

Примечания: пререк в ячейке означает отсутствие данных.

Важнейшими процессами в водоемах являются процессы круговорота органического вещества и биогенных элементов, обусловленные в значительной степени жизнедеятельностью микроорганизмов. Развитие и активность микрофлоры зависят от трофического статуса водоема. Редуцируя органическое вещество, микробные популяции несут основную нагрузку в процессах самоочищения водоемов. В природных водоемах микроорганизмы способны разрушать органические соединения естественного происхождения (белки, углеводы, полисахариды, целлюлозу, гумусовые соединения, фенолы и др.), а также некоторые вещества антропогенного происхождения (ПАВ, полимеры, нефтепродукты). В случае антропогенного загрязнения водного объекта вода обогащается специфическими эколого-трофическими группами микроорганизмов, использующими в процессах жизнедеятельности загрязняющие вещества. То есть в условиях антропогенной нагрузки на водный объект изменение численности бактерий характеризует отклик микробного сообщества на загрязнение. Вследствие высокой метаболической активности, соотношение эколого-трофических групп бактерий в структуре микробного сообщества может меняться достаточно быстро в соответствии с качеством редуцируемого органического вещества. На этом явлении основаны приемы микробиологической индикации загрязнения водной среды. Для оценки роли микроорганизмов в поддержании гомеостаза водных экосистем, биоиндикации загрязнения, изучения интенсивности процессов самоочищения необходимо получить сведения о качественной и количественной структуре микробного сообщества и его функциональной активности. В таблице представлен диапазон значений численности бактерий в различные гидрологические сезоны.

Сапрофитные гетеротрофные бактерии являются наиболее многочисленной и хорошо изученной эколого-трофической группой в структуре микробного населения водоемов. К данной группе относятся гетеротрофные бактерии, использующие в качестве источника питания азотсодержащие органические соединения (белки и продукты их распада). Сапрофитные бактерии утилизируют свежее органическое вещество, в особенности его легко окисляемую часть, поэтому численность бактерий данной группы является, с одной стороны, показателем качества воды, с другой, – трофического статуса водного объекта. Следует отметить значительное увеличение численности бактерий данной группы до двух порядков к 2012-2016 гг. по сравнению с 2003-2006 гг. Используя классификацию качества воды водоемов и водотоков по микробиологическим показателям [6], река Обь на исследованном участке русла была отнесена к следующим категориям: от 1 класса «очень чистые» в периоды осенней и зимней межени 2003-2006 гг. до 6 класса «очень грязные» в период половодья и осенней межени 2012-2016 гг. Наиболее загрязненными оказались участки акватории в районе речного вокзала г Сургута и в зоне влияния снежного полигона.

Бактерии группы кишечной палочки. Для оценки вероятности содержания в воде патогенной микрофлоры используют санитарно-показательные микроорганизмы, для которых постоянной средой обитания является кишечник человека и животных. Количественный учет микроорганизмов-индикаторов фекального загрязнения позволяет оценить степень бактериального загрязнения воды. В современной санитарно-микробиологической практике принято в качестве санитарно-показательных микроорганизмов использовать бактерии группы кишечной палочки. В группу БГКП входят бактерии семейства *Enterobacteriaceae* родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* В р. Оби на исследованном участке акватории кишечная микрофлора была выделена только в осеннюю межень 2003-2006 гг. и в половодье 2014-2016 гг. Максимальная численность бактерий дан-

ной группы была отмечена в районе акватории Казачьего причала в 2012 г. и составила более 6 тыс.кл/мл, что соответствует категории вод «очень грязные».

Фенолрезистентные бактерии. В условиях высокой заболоченности водосборов для таежных ландшафтов Среднего Приобья характерны высокие концентрации органических соединений фенольной природы, образующихся при разложении растительных остатков, древесины, торфообразовании. Ассортимент этих соединений разнообразен, многие из них накапливаются в водоемах вследствие дефицита растворенного кислорода, участвуют в формировании восстановительных условий в ландшафтах, могут являться токсичными для гидробионтов. Помимо фенолов природного происхождения в водоемы поступают фенольные соединения от объектов добычи и переработки нефти. В наших исследованиях бактерии данной группы не были выделены в период половодья, что объясняется питанием реки исключительно снеговыми водами, свободными от фенолов природного происхождения. Кроме того, в этот гидрологический сезон всегда отмечается высокая степень насыщения воды кислородом, который расходуется на процессы окисления органического вещества. ФРБ присутствовали в р. Оби в период осенней межени, причем численность увеличивалась до экстремально высоких значений более 120 тыс.кл/мл. Наибольшие значения численности ФРБ в структуре микробного сообщества были отмечены на участке русла в зоне влияния лодочного гаражного кооператива, а также в районе пос. Барсово.

Угледородокисляющие бактерии. Нефтяные углеводороды, присутствующие в водоемах, представлены преимущественно ароматической и полиароматической фракцией. Ответом микробного сообщества на высокие концентрации ароматических соединений в воде является увеличение численности гетеротрофных бактерий, способных использовать эти группы соединений в качестве единственного источника углерода и энергии. В практике водной микробиологии обычно принято оценивать степень углеводородного загрязнения водных объектов, выделяя угледородокисляющие бактерии, которые выращивают на минеральных питательных средах с добавлением нефтепродуктов. Мы использовали в качестве источника углерода сырую нефть с месторождений Сургутского района. Бактерии данной группы были включены нами в структуру изучаемых представителей микробного сообщества только в 2016 в связи с эпизодом экстремально высокого нефтяного загрязнения р. Оби, который привел к массовому замору ценных промысловых рыб [7]. Как видно из полученных результатов, диапазон значений численности УВБ охватывает три порядка значений. Максимум составил 10^4 кл/мл и был приурочен к акватории речного вокзала г. Сургута, высокая численность УВБ 10^3 кл/мл также наблюдалась в зоне влияния Казачьего причала, снежного полигона и г.п. Белый Яр. То есть территориально наибольшие значения численности УВБ совпадали с участком массового замора осетровых [7].

Морфологические показатели и грампринадлежность выделенных культур бактерий. Хорошим диагностическим признаком уровня загрязнения водного объекта является соотношение числа грамположительных (Γ^+) и грамотрицательных (Γ^-) форм бактерий. В незагрязненных водоемах преобладают Γ^+ формы бактерий, увеличение доли Γ^- форм свидетельствует об антропогенной нагрузке на водный объект. Количество Γ^- форм в составе выделенных культур бактерий (представлен на рис. 1) варьирует по длине исследуемого участка от 30 до 90%. Наибольшие значения выявлены в зоне влияния лодочного гаражного кооператива 90% и Казачего причала 80%. Доля Γ^+ форм бактерий варьирует от 10 до 70%. Наибольшее количество Γ^+ бактерий выделено в пробах в зоне влияния снежного полигона 70% и в районе пос. Барсово 60%.

Индикатором уровня органического загрязнения водного объекта также является соотношение морфологических форм бактерий. Так, на завершающих стадиях распада органического вещества в водоеме преобладают кокковидные бактерии, высокая численность палочковидных форм бактерий свидетельствует о большом количестве труднорастворимого органического вещества.

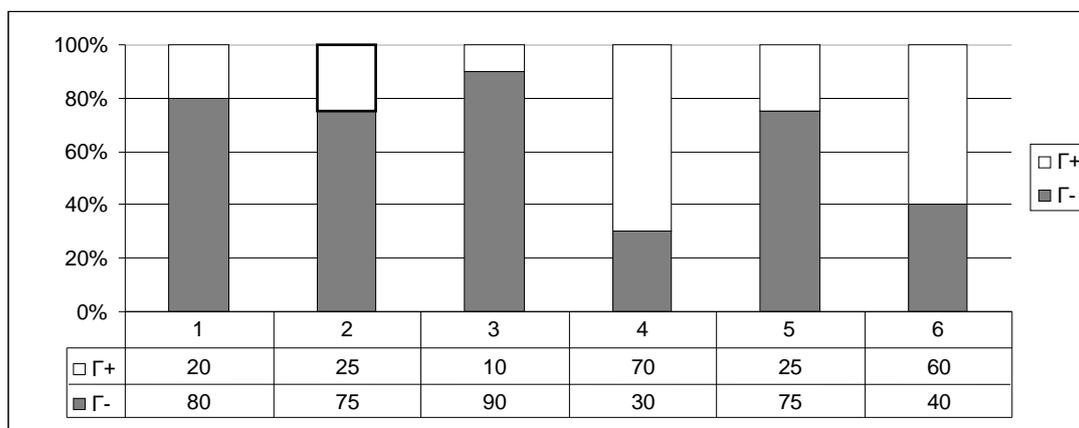


Рис. 1. Соотношение числа Γ^+ и Γ^- форм бактерий.

Соотношение морфологических форм бактерий, выделенных из р. Оби в акватории г. Сургута в 2016 г., представлено на рис. 2. Значительная доля кокков из числа выделенных культур бактерий была выявлена на участке акватории, испытывающей влияние снежного полигона и на участке русла в акватории пос. Барсово и составило по 90% на обоих участках.

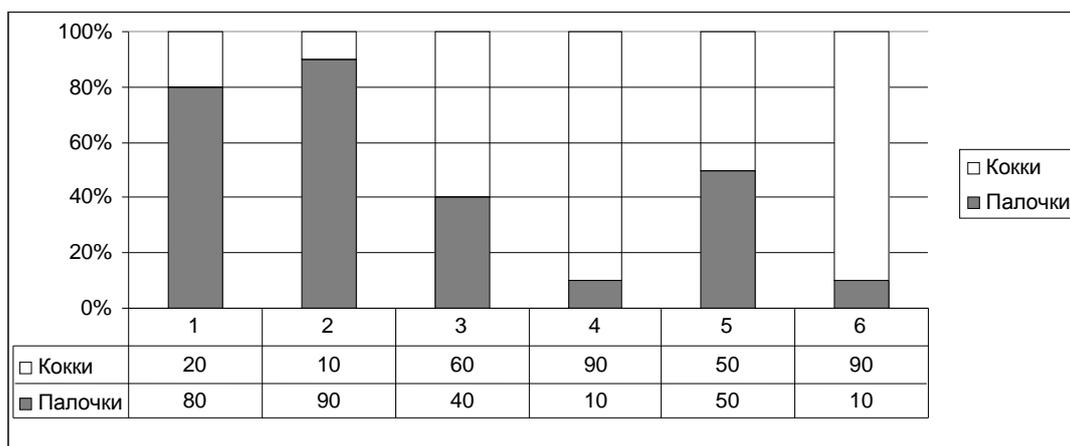


Рис. 2. Соотношение морфологических форм бактерий.

Доля палочковидных форм бактерий, изолированных из проб воды, варьирует от 10 до 90%. Максимальные значения отмечаются в пробах воды, отобранных на речном вокзале г. Сургута 90% и около Казачего причала 80%. В перечисленных точках значительную долю среди выделенных культур бактерий составляли Г-формы, исходя из этого можно предположить, что трудноразлагаемая органика, накопленная в перечисленных контрольных створах, имеет антропогенное происхождение. Это подтверждает присутствие в реке фенолрезистентных бактерий, которые являются индикаторами накопления трудно минерализуемых органических соединений фенольной природы.

По результатам корреляционного анализа полученных данных выявлены корреляционные взаимосвязи показателей органического загрязнения водного объекта и численности бактерий разной степени и направленности. Анализ корреляционных взаимосвязей микробиологических и физико-химических показателей позволил сделать заключение о сезонной направленности внутриводоемных процессов трансформации органического вещества с участием микробного сообщества. Пространственное распределение показателей структуры микробного сообщества позволило выявить участок акватории реки Оби с наиболее выраженной антропогенной нагрузкой.

Список литературы

1. ФЗ «О водоснабжении и водоотведении» от 07.12.2011 №416-ФЗ // Электронный ресурс. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_122867/.
2. Водная стратегия Российской Федерации на период до 2020 года // Электронный ресурс. Режим доступа: <http://www.mnr.gov.ru/regulatory/detail.php?ID=128717>.
3. Шорникова Е.А., Шведюк Т.О. Материалы к оценке экологического состояния реки Оби в акватории города Сургута // Экологическая безопасность территорий и акваторий: региональные и глобальные проблемы: Матер. регион. науч.-практ. конф. (Керчь, 24–28 окт. 2016 г.). Керчь, 2016. С. 215–218.
4. ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб. Межгосударственный стандарт. 63 с.
5. Шорникова Е.А. Методические рекомендации по планированию, организации и ведению мониторинга поверхностных водотоков: гидрохимические и микробиологические методы. Сургут: Дефис, 2007. 88 с.
6. ГОСТ 17.1.3.07-82. Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества воды водоемов и водотоков. М.: ФГУП "СТАНДАРТИНФОРМ", 2010. 14 с.
7. ЗАО Телекомпания «СургутИнформТВ». Массовая гибель осетровых рыб вдоль протоки Оби // Электронный ресурс. Режим доступа: <http://sitv.ru/arhiv/news/social/91305/>.

ОСОБЕННОСТИ НОРМИРОВАНИЯ НЕФТИ В ВОДЕ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РАЗНОГО ТИПА (ЛЕКЦИЯ)

Л. В. Михайлова^{1,2}

¹ФГБНУ Государственный научно-производственный центр рыбного хозяйства «Госрыбцентр»

²ФГБУ ВО ГАУ Северного Зауралья, г. Тюмень, Россия, ecotoxic@gosrc.ru

Более 120 лет нефть занимает первое место среди загрязняющих веществ по глобальности распространения и токсичности для биоты. Работами О.А. Гримма, И.Н. Арнольда, И.Д. Купциса и других (1891–1909 гг.) [1, 2, 3] по нефтяному загрязнению была заложена основа нового научного направления - водной токсикологии.

В конце 50х годов XX столетия среди первых в ГосНИОРХ (Санкт-Петербург) был разработан норматив ПДК нефтепродуктов в воде (0.05 мг/л) и официально утвержден в 1961 году.

В 1999–2001 гг. в СибрыбНИИпроекте (Тюмень) было разработано и в 2002 г. утверждено МПР России и Минсельхоз России «Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях (ДО) поверхностных водных объектов (на примере нефти)», на основании которого был впервые установлен и утвержден региональный норматив – предельно допустимый уровень нефти в донных отложениях (ПДУ_{ДО}) поверхностных водных объектов ХМАО-Югры – 20 мг/кг.

В 2016–2017 гг. в Госрыбцентре (Тюмень) был разработан дифференцированный норматив допустимого остаточного содержания нефти и нефтепродуктов в донных отложениях (ДОСН_{ДО}) после проведения восстановительных работ на водных объектах Ханты-Мансийского автономного округа – Югры.

Поток публикаций по токсическому влиянию нефти на водные экосистемы и конкретным их представителей не иссякает, а норматив 0.05 мг/л остается незабываемым. Хотя первоначальным критерием установления норматива был органолептический. Почему? Что представляет собой нефть? Нефть – это сложное природное тело, образовавшееся в прежние геологические эпохи в результате высокотемпературного, анаэробного преобразования захороненной, в основном растительной, биомассы. Поэтому ее элементный состав близок к таковому биоты. Групповой состав представлен в основном семействами углеводородов (УВ): алканы, алкены, алкины, арены, а также смолы и асфальтены, включающие гетероатомы – O, N, S, металлы. Всего более 1000 индивидуальных соединений, обладающих специфическими физико-химическими свойствами и токсичностью.

Попадая в воду, нефть образует различные миграционные формы: пленочная, эмульгированная, сорбированная на взвеси, водорослях, макрофитах, кумулированная гидробионтами, и наконец, истинно растворенная и осадочная. Все эти формы отличаются по составу и свойствам. Наиболее растворимые из УВ являются ароматические (арены). При их удельном содержании в сырой нефти 20.0 – 40.0 %, в водорастворимой фракции нефти (ВРФН) их 60.0 – 80.0 %. Остальное – это низкомолекулярные алканы и нафтены.

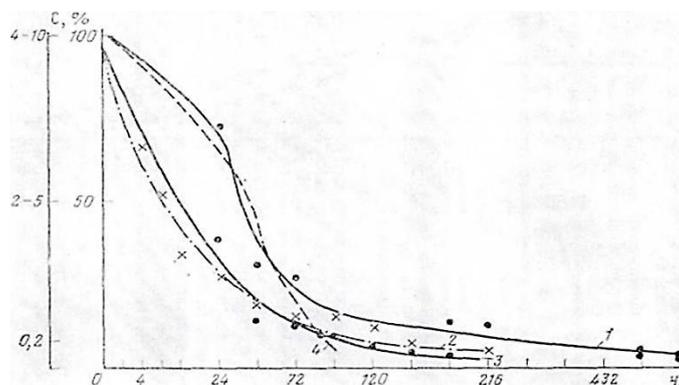


Рис. 1. Кинетические кривые деструкции ВРФН и смеси ароматических углеводородов

1 – ВРФН шаимской нефти (люминесцентно-хроматографический метод); 2 – (J131) ВРФН шаимской нефти (метод изотопной индикации); 3 – ВРФН каспийской нефти (ИК-спектро-фотометрия); 4 – ароматические углеводороды (газовая хроматография).

Анализ наших [4] и литературных данных по динамике ВРФН в воде (исходное содержание 4.0–10.0 мг/л) показало, что независимо от состава исходной нефти и ее происхождения, а также метода определения в воде характер кинетических кривых в течение 216–432 ч. однотипен (рис. 1).

Следовательно, качественный состав ВРФН обуславливается не составом исходной нефти и не ее количеством, а растворимостью УВ. Предел концентрации истинно растворимых УВ – 0.5 мг/л, выше – эмульсия.

В модельных опытах установлено, что градиент концентрации УВ возрастает в направлении к придонным слоям воды пропорционально длительности опыта [5]. Здесь локализуется сверхмедленноокисляемая фракция ВРФН (0.13–0.47 мг/л), обогащенная ПАУ, которая при наличии источника загрязнения (например, загрязненных ДО) может существовать неопределенно долго, создавая фоновое нефтяное загрязнение (0.05–0.15 мг/л). Концентрация нефтепродуктов (НП) в воде не зависит от объема сброшенной в водный объект нефти (табл. 1).

Таблица 1. Аварийность, масса загрязняющих веществ и среднегодовое содержание НП в поверхностных водах на месторождениях ХМАО

Год	Общее количество аварий с экологическими последствиями	Масса загрязняющих веществ, т				Среднегодовое содержание НП для всех водных объектов
		всего	попавших в водоемы	попавших на рельеф	в т.ч нефтепродуктов	
2001	1598	1638.4	77.7	1507.0	1463.5	0.07
2002	1771	2499.4	689.3	1810.1	1456.2	0.10
2003	2235	2188.3	230.4	1957.9	517.1	0.34
2004	3631	14233.4	91.8	14120.8	1084.4	0.18
2005	4311	27906.8	220.3	27686.5	468.2	0.15

Анализ 35484 проб воды водных объектов ХМАО за 1995–2005 гг. [6] показал, что среднее содержание нефтепродуктов в воде составляет 0.21 мг/л при коэффициенте вариации 1533% за счет проб, отобранных в период аварийных выбросов. Стабилизация ВРФН в толще воды является предпосылкой к адаптации планктонных организмов к нефтяному загрязнению низкой интенсивности.

Донная фракция представлена, в основном, высокомолекулярными алканами и нафтеноаро-матическими компонентами, ПАУ, смолами и асфальтенами. Размах колебаний концентрации нефти в ДО очень велик и зависит от объема сброса нефти, от типа водного объекта (водоток, водоем), от характера ДО (минеральные, органические), от присутствия биогенных УВ, от метода определения НП и т.д.

Основной причиной загрязнения водных объектов ХМАО являются аварии (рис. 2), а также вынос нефти с площади водосбора.

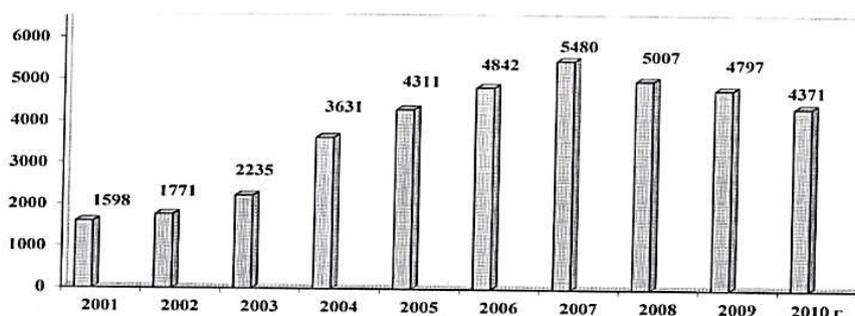


Рис. 2. Динамика аварийности на нефтепромыслах по сведениям нефтедобывающих предприятий ХМАО-Югры с 2001–2010 гг.

Локальный мониторинг на территории лицензионных участков (ЛУ) нефтедобывающих компаний проводится, в основном, на крупных реках (табл. 2).

Таблица 2. Распределение проб ДО рек и озер ХМАО по уровню загрязнения ДО нефтепродуктами (результаты мониторинга 2015 г.)

Класс	Классификация загрязнения НП		Распределение НП в ДО, %	
	Уровень загрязнения	Содержание нефтяных УВ в песчано-илистых ДО, г/кг	реки, 1252 пробы	озера, 215 проб
I	Фоновый	<0.02	22.9	7.4
II	Слабый	0.021–0.050	21.3	14.4
III	Умеренный	0.051–0.150	36.5	44.7
IV	Сильный	0.151–0.500	13.2	9.3
V	Экстремальный	0.50–5.00	5.8	21.8
VI	Критический	>5.00	0.3	2.33

Для крупных озер Сургутского и Нижневартовского районов концентрация НП в воде изменялась в пределах 0.02 – 0.16 мг/л со средним значением 0.06 мг/л вблизи ПДКр – 0.05 мг/л. Для ДО среднее содержание НП составляло 449 мг/кг с диапазоном от 5 до 4665 мг/кг. Среди озерных ДО, содержащих нефтепродуктов на уровне фона, всего 7.4 % (среди рек – 22.9 %), а экстремально и критически загрязненных озерных ДО – 24.1 % (среди рек – 6.1 %). Таким образом, удельная доля проб озер с фоновым загрязнением ДО в 2015 г. была в 3 раза меньше, а экстремально и критически загрязненных в 4 раза больше, чем в реках.

Повышенный интерес к рекам понятен, поскольку запасы ценных видов рыб (осетровые, сиговые) в Обь-Иртышском бассейне достигли критически низких величин, несмотря на искусственное воспроизводство и зарыбление рек.

Вместе с тем на территории ХМАО – Югры находится около 290 тыс. озер. За 50-летний период развития нефтегазового комплекса в почвах и ДО водных объектов накопилось колоссальное количество нефти.

Сотни малых рек и тысячи озер потеряли рыбохозяйственное значение, их экосистемы зачастую необратимо нарушены. Остро стал вопрос об инвентаризации и восстановлении нарушенных водных объектов.

В Законе «Об охране окружающей среды» (2002 г.) [7] предписывается разработка и использование нормативов качества окружающей среды, которая «устанавливается в целях сохранения естественных экологических систем, генетического фонда растений, животных и других организмов».

Недостатком Российской системы мониторинга и управления водными ресурсами является отсутствие нормативов химического состава ДО. Несмотря на наличие руководящих документов, применяемых в рамках Единой государственной системы мониторинга за состоянием окружающей природной среды (РД 52.24.609-2013) [8], в котором указано, что «информация о состоянии водных объектов без учета сведений о загрязнении ДО может привести к ошибочным выводам, поэтому наблюдение за ДО становятся неотъемлемой частью мониторинга водных объектов», характеристика химического состава и степень загрязнения ДО невозможны при отсутствии оценочных критериев.

ДО – это многокомпонентные природные объекты, отражающие в своей структуре и свойствах все разнообразие внутриводоемных, бассейновых и планетарных гидрофизических и биохимических процессов, непосредственно влияющих на функционирование пресноводных экосистем через взаимодействие между водой, седиментами и биотой [9]. Первый норматив – предельно допустимый уровень нефти и нефтепродуктов (ПДУ_{ДО}) был разработан нами для песчано-илистых ДО водных объектов и апробирован на реках Обь-Иртышского бассейна [10], а также подтвержден литературными данными для других речных бассейнов и утвержден как региональный в ХМАО - Югре [11].

ПДУ_{ДО}, так же как и ПДК для воды, – это ориентир экологической опасности загрязнения и важнейший инструмент контроля и законодательного ограничения поступления загрязняющих веществ в водный объект. ПДУ_{ДО} – это экспериментально определенный и утвержденный в установленном порядке норматив, при котором твердая часть ДО и интерстициальная влага не отдают его в придонный слой воды в количестве, превышающем ПДК нормируемого вещества в воде, и не вызывают гибели, нарушения жизнедеятельности и отдаленных последствий на потомство организмов бентоса и рыб-бентофагов, а также порчи товарных качеств промысловых гидробионтов при непосредственном контакте их с загрязненными ДО и через пищевые цепи – детрит–бентос–рыба [12].

На основании выполненных экспериментальных и полевых исследований нами была разработана классификация уровней загрязняющих песчано-илистых ДО компонентами нефти (табл.3).

Таблица 3. Классификация уровней загрязнения песчано-илистых ДО водотоков компонентами нефти по состоянию бактерио- и макрозообентоса

Балл	Уровень загрязнения	Содержание нефтяных компонентов, г/кг	Характеристика состояния донного сообщества
0	Фоновое	<0.02 ПДУ _{ДО} =0.02	Не отмечается изменений видового разнообразия и количественных показателей бентического сообщества.
1	Слабое	0.021–0.050	Незначительные изменения количественных показателей бентоса (численность, биомасса). Стимуляция численности и биомассы сапрофитных и нефтеокисляющих микроорганизмов, увеличение видового разнообразия и численности хирономид.
2	Умеренное	0.051–0.150	Пороговое состояние: выпадение из сообщества чувствительных видов и перестройка в сторону преобладания наиболее устойчивых видов хирономид, олигохет, пик плотности олигохет р. <i>Limnodrilus</i> . Встречаются наиболее устойчивые виды поденок, ручейников, пиявок.
3	Сильное	0.151–0.500	Область нарастающих изменений: снижение видового разнообразия, замена мелких форм хирономид на крупные устойчивые виды рода <i>Chironomus</i> , массовое развитие олигохет рода <i>Limnodrilus</i> . Снижение количественных показателей, как отдельных групп, так и зообентоса в целом.
4	Экстремальное	0.501–5.000	Резкое обеднение донного сообщества. Пик плотности устойчивых хирономид и олигохет. Выпадение из сообщества чувствительных видов ручейников, поденок, вислокрылок, моллюсков, жуков, слепней, нематод, остракод, пиявок, двустворчатых моллюсков. Стимуляция размножения нефтеокисляющих бактерий и снижение численности сапрофитов.
5	Критическое	>5.0	Нарушение сообщества по всем структурно-функциональным показателям, резкое снижение количественных показателей, доминирование только устойчивых видов хирономид рода <i>Chironomus</i> , и олигохет рода <i>Limnodrilus</i> , снижение численности нефтеокисляющих микроорганизмов.

При определении НП в ДО было установлено, что в органогенных грунтах большая для УВ, определяемых как НП, принадлежит к биогенным, то есть продуктам метаболизма и трансформации биоты озер. Поэтому вторым критерием дифференциации норматива был аналитический метод определения НП в ДО – ИК-фотометрия (не селективный по отношению к УВ любого происхождения), флуориметрия (более селективный по отношению к нефтяному УВ).

На основании собственных и литературных данных по исследованию озер, находящихся вне прямого действия объектов нефтяной отрасли, были установлены фоновые величины содержания НП: для минеральных ДО – 0.13 мг/кг (ИК-фотометрия) и 0.05 мг/кг (флуориметрия), для органогенных ДО соответственно 3.1 и 0.95 г/кг.

Результаты натурального моделирования и исследований на хронически загрязненной нефтью реке совпали по грациям воздействия на биоту с данными лабораторных исследований (табл. 4).

Таблица 4. Средние величины токсических эффектов представителей разных звеньев донных биоценозов в ответ на нефтяное воздействие

Звено	LC ₅₀ , г/кг	ЕС ₅₀ , г/кг	ПК, г/кг	МДК, г/кг
Лабораторные эксперименты				
Концентрация, г/кг диапазон	0.06–62.5	0.12–30.0	0.03–0.9	0.021–0.3
средняя величина	34.3	4.75	0.24	0.06
уровень воздействия	критический	экстремальный	умеренный	слабый
Река Ватинский Еган				
Концентрация, г/кг диапазон	31.6–69.7	4.2–16.4	0.13–0.14	0.02–0.03
число видов	8 -5	12–10	19 -22	34
уровень воздействия	критический	экстремальный Мезокосмы	умеренный	слабый
Концентрация, г/кг диапазон	5.0–10.0	0.5–1.0	0.05–0.15	0.012–0.028
число видов	24	31	38	47–45
уровень воздействия	критический	экстремальный	умеренный	слабый

Объединив полученные нами данные по уровням токсических эффектов на нефтяное воздействие, видим, что летальные концентрации (по LC₅₀) находятся в диапазоне средних значений – 5–34 г/кг, эффективные, сублетальные (ЕС₅₀) – 4.8–31, пороговые (минимально действующие) – 0.05–0.24 и максимально допустимые (МДК) – 0.02–0.06 г/кг. Минимальные значения величин МДК (по наиболее чувствительным звеньям) положены в основу ПДУ для песчано-илистых ДО водотоков.

Фоновые величины концентрации нефтепродуктов в песчано-илистых ДО озер совпадает с пороговыми концентрациями (0.05–0.24 г/кг) биологических эффектов, действие которых может быть скомпенсировано на уровне физиолого-биохимических механизмов гидробионтов, а также на уровне внутри- и межпопуляционных взаимодействий в водном объекте.

Таким образом величина ДОСН должна соответствовать верхней границе диапазона фоновых концентраций нефтепродуктов в ДО каждого типа, определенной для сходных по генезису озер на обследованной территории, и ограничиваться снизу (по шкале г/кг) данными по пороговой концентрации ответных реакций индикаторных тест-объектов (по совокупности).

Анализ токсикологических данных, лабораторных и натуральных исследований в том числе состояния экосистем 27 озер ХМАО-Югры, позволило получить современную характеристику фоновых и загрязненных водоемов, различающихся содержанием нефти в ДО, и установить нормативы нефти в ДО водных объектов.

Выводы

1. ПДУ_{ДО} нефти установлена по наиболее чувствительным звеньям в соответствии с минимальными значениями величин МДК (максимально допустимые концентрации).

2. Величина ДОСН_{ДО} для двух типов ДО и двух методов контроля углеводородных загрязнений соответствует верхней границе фоновых значений, характерных для 90.0–95.0 % исследованных озер на территории ХМАО и совпадает с пороговой границей токсичности для разных уровней организации гидробионтов при лабораторном и натурном моделировании, а также коррелирует с таксономическим разнообразием бентосного сообщества фоновых озер.

3. Предлагаемые нормативы ДОСН_{ДО} для минеральных ДО – 0.2 г/кг (любой метод) и 1.0 г/кг для органогенных (торфяных) ДО (метод флуориметрии) или 4.0 г/кг (метод ИК- фотометрии) с учетом биогенных углеводородов. Для смешанных ДО ДОСН рассчитывается по предлагаемой формуле или графической номограмме. Такое количество НП гидрофобно и еще безопасно удерживается на границе «ДО – вода», вызывая сублетальные (компенсируемые на уровне популяций и сообществ) эффекты в биоценозе дна.

4. Озера с содержанием НП 0.2 г/кг в минеральных и 1.0 г/кг в органогенных ДО (на уровне ДОСН) не отличаются от условно чистых водоемов, где содержание НП в ДО не превышает средние фоновые значения (0.95 г/кг для органогенных и 0.05 г/кг для минеральных ДО при флуориметрическом методе контроля).

5. Содержание растворенных нефтепродуктов в воде не коррелирует с их количеством в ДО, а зависит от растворимости нефтяных углеводородов (определяется совокупностью физических и химических факторов); при любом содержании НП в ДО выше ПДУдо (0.02 г/кг), содержание их в воде может быть на уровне современного фона – 0.05 – 0.15 мг/дм³.

6. Содержание НП в ДО на уровне ДОСНДО и выше не влияет на состояние планктона (структура и количественные показатели). Показатели бактерио-, фито- и зоопланктона статистически достоверно коррелируют с содержанием в воде и ДО биогенов (минеральных форм азота, фосфора, железа), органических веществ, но не коррелирует с содержанием НП.

7. В связи со стабилизацией концентрации НП в воде (за счет низкого предела растворимости), планктонные (короткоживущие) популяции быстро адаптируются как на уровне физиологической приспособляемости, так и генетического отбора устойчивых форм. Поэтому планктон не может быть объективным критерием оценки загрязненности ДО и эффективности восстановительных работ.

8. Наиболее адекватными показателями влияния НП в ДО на экосистему водного объекта на уровне норматива ДОСН и выше, является: состояние бентоценоза (таксономическое разнообразие, количественные показатели); суммарный индекс токсичности (СИТ), биоиндикационные показатели (интегральный индекс), которые коррелируют между собой и с содержанием НП в ДО (отрицательная зависимость).

Список литературы

1. Арнольд И.Н. Загрязнение вод нефтяными продуктами и его влияние на рыбные богатства. Спб. 1903. 63 с.
2. Grimm O.A. Каспийско-волжское рыболовство. Спб. 1896. 184 с.
3. Купчис И.Д. Дальнейшие исследования относительно вредных свойств нефти и ее продуктов для рыб и животных // Вестник рыбопромышленности, рыбоводства и рыболовства. 1901. 379 с.
4. Михайлова Л.В. Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок. Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки: Материалы конференции и школы-семинара, 11-16 ноября. Борок, 2008. Ч. 1. С. 112–127.
5. Михайлова Л.В., Шорохова О.В. Особенности состава и трансформации водорастворимой фракции (ВРФ) двух видов Тюменской нефти // Водные ресурсы. 1992. №2. С. 130–139.
6. Бабушкин А.Г., Московченко Д.В., Пикунов С.В. Гидрохимический мониторинг поверхностных вод Ханты-Мансийского автономного округа – Югры. Новосибирск: Наука. 2007. 152 с.
7. Федеральный закон «Об охране окружающей среды» от 10 января 2002 г. №7-ФЗ.
8. РД 52.24.609-2013 Руководящий документ. Организация и проведение наблюдений за содержанием загрязняющих веществ в донных отложениях водных объектов (утв. Росгидрометом 07.08.2013).
9. Законнов В.В. Генетическая классификация грунтового комплекса равнинных водохранилищ // Комплексные исследования водохранилищ: межвузовский сб. науч. тр. Перм. гос. нац. исслед. ун-т. Пермь, 2014. С 23–30.
10. Михайлова Л.В., Исаченко-Боме Е.А. Разработка и апробация норматива содержания нефти в донных отложениях поверхностных водных объектов // Водные ресурсы. 2012. Т. 39. № 5. С. 530–536.
11. Постановление Правительства Ханты-Мансийского автономного округа – Югры № 442-п от 21 ноября 2014 г.
12. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. 133 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Е.Н. Бакаева МЕТОДИКО-МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОД ПО НАБОРУ БИОТЕСТОВ	3
Е.Н. Бакаева, Игнатова Н.А., Тарадайко М.Н. НЕОБХОДИМОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАБОРА БИОТЕСТОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД	6
Е.С. Бродский, Шелепчиков А.А., Мир-Кадырова Е.Я., Калинин Г.А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВКЛАДА В «УГЛЕВОДОРОДНЫЙ ИНДЕКС» ЭНДОГЕННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ ТОРФЯНЫХ ОЗЕР	9
А.Р. Гайсин, Л. В. Новикова, Н. Ю. Степанова ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ РЫБ РАЗЛИЧНОГО ТРОФИЧЕСКОГО УРОВНЯ В МЕШИНСКОМ ЗАЛИВЕ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	12
Д.М. Гершкович ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА РАКООБРАЗНЫХ <i>CERIODAPHNIA AFFINIS (DUBIA)</i> ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ВНЕСЕНИЯ	15
О.В. Гладкова, Н.И. Ходоровская, Т.В. Еремкина МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРЫ ФИТОПЛАНКТОНА ШЕРШНЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	17
И.Л. Голованова, А.И. Аминов ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИХ ПЕСТИЦИДОВ НА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЕ ГЛИКОЗИДАЗЫ МОЛОДИ РЫБ	21
Ю.С. Григорьев, Г.Р. Величко, Н.К. Артына ВОПРОСЫ, ВОЗНИКАЮЩИЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ	24
И.Л. Григорьева, Л.И. Хрусталева СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ВОДЕ ВОДОХРАНИЛИЩ ВЕРХНЕЙ ВОЛГИ	25
Т.В. Еремкина, Н. Б. Климова, Н. В. Чечулина ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РУЧЬЯ МАРГАНЦОВЫЙ В ЗОНЕ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЗАО «ЗОЛОТО СЕВЕРНОГО УРАЛА» ПО КОМПЛЕКСУ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ	27
Н.И. Ермолаева, С.Я. Двуреченская КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО ИНТЕГРАЛЬНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ С УЧЕТОМ РЕГИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ (НА ПРИМЕРЕ НОВОСИБИРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА)	30
Е.А. Заботкина, И.Л. Голованова, В.К. Голованов ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУННОЙ И ГЕРМИНАТИВНОЙ СИСТЕМ ГОЛОВЕШКИ-РОТАНА <i>PERCOTTUS GLENNI</i> ПОД ВЛИЯНИЕМ СУБЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЕРБИЦИДА РАУНДАП®	32
Е.С. Иванова, Л.А. Тузова, В.Т. Комов СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНИЗМЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АМФИБИОНТНЫХ И НАЗЕМНЫХ ДВУКРЫЛЫХ (DIPTERA) НЕКОТОРЫХ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ	36
Я.С. Климова, Г.М. Чуйко БИОМАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ У ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ СЕМ. DREISSENIDAE	39
Т.Б. Ковыршина ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА <i>NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS</i> (PALLAS, 1814) ИЗ ЮГО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ АЗОВСКОГО МОРЯ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА	41
А.В. Комова, А.А. Мельникова, Р.А. Камышинский, Р.Д. Светогоров, З.Б. Намсараев ВЛИЯНИЕ ОКСИАНИОНОВ СЕЛЕНА И ТЕЛЛУРА НА РОСТ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ	43
И.М. Королева ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИГА В ЦЕЛЯХ БИОМОНИТОРИНГА В ВОДОЕМАХ МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ	45
Б.Г. Котегов АНТРОПОГЕННОЕ ХИМИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР ОТБОРА: ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ГИБЕЛЬ РЫБ В ЧЕМОШУРСКОМ ПРУДУ (ОКРЕСТНОСТИ Г. ИЖЕВСКА)	47

Д.Э. Кудряшова, Е.С. Иванова, В.Т. Комов СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ АМФИБИЙ ВОЛОГОДСКОЙ	51
В.В. Кузьмина, Е.А. Куливацкая ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛОВ (ЦИНК, МЕДЬ) НА АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РЫБ. ЭФФЕКТ СЕРОТОНИНА И ОСВЕЩЕННОСТИ	54
Р.А. Ложкина, И.И. Томилина, М.В. Гапеева, В.Т. Комов, Е.В. Щедрова ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	57
В.И. Лошенко, Т.А. Шнайдер, Д.А. Копылов РАДУЖНАЯ ФОРЕЛЬ КАК БИОИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ВОДОЕМА	60
Ю.А. Лубяга, М.С. Трифонова, К.П. Верещагина, Е.С. Кондратьева, Ж.М. Шатилина, Д.В. Аксенов-Грибанов, Е.С. Задереев, А.Н. Гурков, М.А. Тимофеев СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ПРЕСНОВОДНЫХ АМФИПОД <i>GAMMARUS LACUSTRIS</i> И <i>GMELINOIDES FASCIATUS</i> ИЗ ОТДАЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ	62
О.Н. Лукьянова, В.Ю. Цыганков, М.Д. Боярова СТОЙКИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА В МОРСКИХ ОРГАНИЗМАХ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ	63
Л.В. Малахова, Е.Н. Скуратовская, Т.В. Малахова, В.С. Лобко ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ КСЕНОБИОТИКИ В ОРГАНАХ МОРСКОГО ЕРША <i>SCORPAENA PORCUS</i> ИЗ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ	67
М.А. Михеев, В.И. Ипатова ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ БИХРОМАТА КАЛИЯ В СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	71
Н.С. Некрутов, В.А. Подгорная, В.К. Голованов, Г.М. Чуйко ВЛИЯНИЕ НАГРЕВА ВОДЫ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ КАРПА <i>CYPRINUS CARPIO</i> , АККЛИМИРОВАННОЙ К НИЗКОЙ И ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ	74
О.С. Никитина, Е.С. Иванова, М.Я. Борисов СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЦАХ РЫБ ИЗ РЕКИ СУХОНА ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ	76
Г.М. Палатников, М.А. Гасанова, Г.Р. Мамедова, Г.Р. Вагабова. ГЕНО- И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕ-ЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (LC _{50/96}) АЦЕТАТА СВИНЦА (II) НА ЭРИТРОЦИТЫ САЗАНА (<i>CYPRINUS CARPIO</i> L.)	79
Т.С. Пряжевская, С.А. Черкашин ОЦЕНКА ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ	81
Н. Г. Рагимова ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЖАБР САЗАНА (<i>CYPRINUS CARPIO</i> L.) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАТА СВИНЦА	84
Ю.В. Разумова, Н.В. Холмогорова, Г.А. Пастухова, И.И. Томилина ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ Р. БОЛЬШАЯ САРАПУЛКА (УДМУРТСКАЯ РЕСПУБЛИКА)	86
И.И. Руднева ПРНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИБРЕЖНЫХ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ (НА ПРИМЕРЕ БУХТ СЕВАСТОПОЛЯ)	88
Б.Л. Сухоруков, Н.В. Решетняк, Г.Е. Ковалёва ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ В ПЕРИОД ЦВЕТЕНИЯ СИНЕЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ МЕТОДАМИ ДИСТАНЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ВИДИМОГО ДИАПАЗОНА	91
А.Ф. Тарлева, В.А. Шептицкий, В.В. Кузьмина ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ КИШЕЧНИКА У РЫБ РАЗНЫХ ВИДОВ	95
А.В. Улатов ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ДОННЫХ СООБЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ТЕХНОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ (НА ПРИМЕРЕ МАЛЫХ ЛОСОСЕВЫХ РЕК ПОЛУОСТРОВА КАМЧАТКА, БАССЕЙН РЕКИ ИЧА)	98

О.Ф. Филенко, Е.Ф. Исакова, Т.А. Самойлова СТОХАСТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В ЭФФЕКТЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ДАФНИЙ	103
А.А. Филиппов, И.Л. Голованова, В.В. Крылов ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГЛИКОЗИДАЗ СЕГОЛЕТОВ ПЛОТВЫ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЙ В ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД	106
И.И. Чеснокова ПРИМЕНЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ СПИКАРЫ <i>SPICARA FLEXUOSA</i> (RAFINESQUE, 1810) ДЛЯ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ	109
В.Г. Шайда, И.И. Руднева БИОИНДИКАЦИЯ СОЛЕННЫХ ОЗЕР: ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ПРОБЛЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ ГИПЕРГАЛИННЫХ ВОДОЕМОВ КРЫМА)	112
Е.А. Шашуловская, С.А. Мосияш МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРОМЫСЛОВЫХ ВИДАХ РЫБ ВОЛГОГРАДСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	115
Е.А. Шорникова, И.Т. Хайруллова, Т.О. Шведюк МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МОНИТОРИНГЕ АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ УЧАСТКОВ РЕКИ ОБИ В АКВАТОРИИ ГОРОДА СУРГУТА	117
Л.В. Михайлова ОСОБЕННОСТИ НОРМИРОВАНИЯ НЕФТИ В ВОДЕ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РАЗНОГО ТИПА (ЛЕКЦИЯ)	121
СОДЕРЖАНИЕ	126

Научное издание

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
VI ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ВОДНОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Д.Б.Н., ПРОФ. Б. А. ФЛЕРОВА,
С ПРИГЛАШЕНИЕМ СПЕЦИАЛИСТОВ ИЗ СТРАН БЛИЖНЕГО ЗАРУБЕЖЬЯ

И ШКОЛЫ-СЕМИНАРА ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ
ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

14 – 17 СЕНТЯБРЯ 2017 ГОДА, БОРОК

Подписано в печать 24.08.17. Формат 60x90 1/8.

Усл. печ. л 16. Заказ № 17154. Тираж 70 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Филигрань»
150049, г. Ярославль. Ул. Свободы. 91, pechataet@bk.ru