

Российская академия наук
Федеральное агентство научных организаций
Институт морских биологических исследований
имени А. О. Ковалевского
Институт океанологии имени П. П. Ширшова
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
Межведомственная ихтиологическая комиссия
Центральное Управление по рыбохозяйственной экспертизе и нормативам
по сохранению, воспроизводству водных биологических ресурсов и
акклиматизации ФГБУ «ЦУРЭН»
Российский фонд фундаментальных исследований

**ЗАГРЯЗНЕНИЕ МОРСКОЙ СРЕДЫ:
ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ, БИОИНДИКАЦИЯ,
НОРМИРОВАНИЕ**

**Всероссийская научная конференция с международным участием,
посвященная 125-летию профессора В. А. Водяницкого**

СБОРНИК СТАТЕЙ

Севастополь, 28 мая – 1 июня, 2018 г.



Севастополь
«Колорит»
2018

Печатается при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-20013

Ответственный редактор

д.б.н., проф. Руднева И. И.

Рецензент

д.б.н., проф. Филенко О. Ф.

Редакционная коллегия: д.б.н., проф. Солдатов А. А., к.б.н., доц. Залевская И. И.

3 14 **Загрязнение морской среды: экологический мониторинг, биоиндикация, нормирование** : сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 125-летию профессора В. А. Водяницкого, Севастополь, 28 мая – 1 июня, 2018 г. – Севастополь : «Колорит», 2018. – 327 с.
ISBN 978-5-60-400-20-8-7

В сборнике представлены статьи участников Всероссийской научной конференции с международным участием «Загрязнение морской среды: экологический мониторинг, биоиндикация, нормирование», посвященной 125-летию профессора В. А. Водяницкого, которая состоялась 28 мая – 1 июня 2018 г. в Севастополе. Широко обсуждаются проблемы современного статуса и тенденций экологических изменений морей Российской Федерации. Приведены сведения об источниках загрязнения, основных загрязняющих веществах, их содержании в окружающей среде и в тканях гидробионтов. Представлены результаты исследований и оценки состояния водных организмов и биологических сообществ, подвергающихся разным видам антропогенного воздействия. Рассмотрены объекты и методы биоиндикации морской среды и экологического мониторинга, а также проблемы нормирования и биотестирования загрязнения морей и океанов. Особое внимание уделено экологическим последствиям нетоксичного загрязнения морских экосистем (радиоактивное, электромагнитное, механическое и пр.).

Предназначен для широкого круга биологов, экологов, гидробиологов, специалистов в области аквакультуры, охраны окружающей среды и рыболовства.

УДК 574.24
ББК 26.221+28.080.1

Pollution of marine environment: ecological monitoring, bioassay, standardization:
collection of the papers of the Russian scientific conference with international participation devoted to 125th anniversary of prof. V. A. Vodyanitsky, Sevastopol, May 28 – June 1, 2018. – Sevastopol: "Colorit", 2018. – 327 p.
ISBN 978-5-60-400-20-8-7

The original papers of the participants of the Russian scientific conference with the international participation "Marine pollution: ecological monitoring, bioassay, norming" devoted to 125th anniversary of professor V. A. Vodyanitsky, which was held on May 28 – June 1, 2018 in Sevastopol are presented. The problems of recent state and the main trends of ecological changes of the seas of Russian Federation are discussed. The information about the pollution sources, highly distributed contaminants, their content in the marine environments and in the tissues of aquatic organisms is presented. The results of the study and the evaluation of marine organism's status and populations impacted on different kinds of anthropogenic activity are presented. The test-organisms and the bioassay methods of marine environments are shown, as well as the problems of norming and ecological evaluation of the pollution level of the seas and ocean are observed. The attention focused on the ecological consequences of non-toxic pollution of marine environment namely radioactive, electromagnetic, mechanical, etc. These papers are intended for specialists in biology, ecology, hydrobiology, aquaculture, environment protection, ichthyology, and other adjacent sciences.

Утверждено к печати Учёным советом
ФГБУН «Институт морских биологических исследований
имени А. О. Ковалевского РАН» (протокол № 3 от 03 апреля 2018 г.)

© Авторы статей, 2018
© ФГБУН ИМБИ РАН

ISBN 978-5-60-400-20-8-7

COMPARATIVE STUDY OF THE BLOOD PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE GOBY *MESOGOBIUS BATRACHOCEPHALUS* (PALLAS, 1814) FROM BLACK SEA AND SEA OF AZOV

Kovyrshina T. B.

*The A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS, Sevastopol, Russia,
mtk.fam@mail.ru*

Abstract. The results of a comparative analysis of antioxidant enzymes activities and concentration of oxidative serum proteins in the blood of knout goby *Mesogobius batrachocephalus* (Pallas, 1814) from the coastal waters of Sevastopol (the Black Sea) and the southwestern part of the Azov Sea are discussed.

Key words: antioxidant system, knout goby, Black Sea, Sea of Azov, pollution.

УДК 574.5:594.124(26)

НОВЫЙ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОРСКИХ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ: ТЕСТИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИДИЙ

¹Кузнецова Т. В., ^{1,2}Холодкевич С. В.

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН,
Санкт-Петербург, Россия*

²*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия,
kuznetsova_tv@bk.ru*

Аннотация. Предложен новый методический подход к экспресс-оценке физиологического состояния гидробионтов и экологического качества среды их обитания, основанный на неинвазивном мониторинге кардиоактивности. Оценку состояния организмов проводили с помощью тестирования их адаптивных возможностей при экспериментальном изменении солёности среды с последующим анализом восстановительного периода в кардиоритме моллюсков и ракообразных. Апробацию метода проводили в акваториях Балтийского и Чёрного морей, а также пресноводных водоёмах Финского залива.

Ключевые слова: кардиоритм, моллюски, ракообразные, качество водной среды.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях все возрастающего антропогенного воздействия на окружающую среду, особенно на водные экосистемы, существует настоятельная необходимость в выработке комплексных мер и объединения усилий ряда европейских государств для определения генеральной линии в области стратегии оценки состояния морей и океанов и координации морских биологических исследований (Directive..., 2000). Европейским Парламентом и Комитетом 17 июня 2008 г. была принята Директива Морской Рамочной Стратегии (Marine Strategy Framework Directive — MSFD). MSFD направлена на достижение хорошего экологического статуса окружающей среды (good ecological state — GES) и морских вод стран Европы к 2020 году и на защиту ресурсной базы относящихся к морским акваториям видам экономической и социальной активности.

Так, Baltic Sea Action Plan (2007) (HELCOM, 2007, 2010) определяет загрязнение окружающей среды опасными веществами как одно из четырех основных направлений таких усилий в области охраны и улучшения «здоровья» Балтийского моря. Action Plan определил ряд стратегических целей в области борьбы с загрязняющими веществами, таких как «Балтийское море, не нарушенное опасными веществами» и поставил ряд экологических задач для достижения хорошего экологического статуса окружающей среды (HELCOM, 2012).

Исходя из этого, разработка критериев для достижения хорошего экологического статуса — это «стартовые точки» для развития релевантных подходов в оценке состояния окружающей среды и, прежде всего, для определения характеристик этого хорошего статуса. Современные методы оценки антропогенных воздействий на окружающую среду, уже внедренные в практику биомониторинговых исследований, нуждаются, однако, в комплексных усилиях по их совершенствованию, развитию новых технологий для их осуществления и разработке новых методологических подходов к биодиагностике состояния среды, включая состояние биоты. Для этого актуальным является развитие и внедрение «локальных» методов, осуществляемых в on-line режиме, для оценки экологического статуса морских акваторий. Одним из подходов для оценки опасных изменений в водной среде, потенциально или реально приводящих к угрозам существования целой экосистемы, является определение физиологического состояния представителей ее биоты.

Согласно отчетам ХЕЛКОМ (HELCOM, 2010), эффекты кадмия и ртути продемонстрированы на мидии съедобной (*Mytilus edulis*) в западных субрегионах Балтийского моря и на моллюсках *Macoma balthica* в южном и восточном побережье, а также на некоторых индикаторных видах рыб в центральных, северных и северо-восточных частях моря (Baltic Sea Environment Proceedings No. 120B; Turja et al., 2014). Мониторинг уровней кадмия и ртути в биоте является обязательной частью программы HELCOM COMBINE. В различных исследованиях на мидиях показаны разные концентрации этих металлов в их тканях, однако в большинстве изученных районов в Балтийском море их уровни превышают предельно допустимые концентрации или их содержание в моллюсках в относительно референтных (чистых) акваториях. Концентрации ртути в мидии съедобной и в мышцах промысловых рыб в настоящее время выше пороговых уровней в Балтийском море (HELCOM, 2010), что может указывать на то, что местная биота накапливает этот опасный металл в своих тканях. Однако, по отчетам HELCOM в Балтийском море уровень безопасных концентраций ртути в морепродуктах, потребляемых человеком, превышен только в тканях мидий из Датских проливов (Århus Bay, Denmark). Таким образом, содержание тяжелых металлов в тканях моллюсков и рыб (даже в довольно высоких концентрациях) в силу наличия защитных механизмов позволяет этим животным выживать в условиях сильного загрязнения окружающей среды.

До настоящего времени фундаментальной проблемой в оценке состояния прибрежных акваторий является отсутствие единых подходов и методов биоиндикации их экологического статуса, так как они значительно различаются по экологическому состоянию, солёности, гипоксии, гидрологическим условиям и т.д. Даже в хорошо изученных прибрежных морских акваториях Балтийского моря градиент солёности существенно варьирует, что определяет в значительной степени не только особенности физиологии обитающих там животных, но и степень токсичности многих опасных для биоты загрязняющих веществ, включая компоненты антропогенного происхождения или их смеси.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Среди интегральных показателей биологических эффектов загрязняющих веществ, как показал ряд исследований, могут использоваться общие параметры функционирования жизненно важных систем организма, например, работы сердечно-сосудистой системы (частота сердечных сокращений (ЧСС), вариабельность сердечного ритма) и поведения (локомоторная активность). Неинвазивный мониторинг этих показателей с помощью биосенсорных систем обеспечивает генерацию своевременного сигнала об опасном изменении токсичности воды на основе изменения функциональных показателей, что особенно важно в случае воздействия на водный объект опасного вещества неизвестной природы или их смесей (Borcherding, 2006; Depledge, Andersen, 1990). Так, адаптивные возможности кардиореспираторной системы отражают интенсивность физиологических процессов, а также во многих случаях позволяют судить о функциональном состоянии организма в целом и, опосредованно, о качестве среды обитания тестируемых животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе кардиосистемы моллюсков нами были выявлены ритмы околосуточной или циркадианной, как их называют, активности (23–24.5 часа). Причем околосуточные ритмы были установлены и в кардиоактивности (Kuznetsova et al., 2010), и в движении створок черноморских мидий (Трусевич и др., 2010). Как показывает наше исследование, ритмы как сердечной (средняя ЧСС), так и локомоторной активности (уровень раскрытия створок) усиливались в ночные и предутренние часы. Наличие околосуточной ритмики является неотъемлемым критерием здорового состояния моллюсков и запускается факторами внешней среды — изменением освещенности, температуры воды и, возможно, некоторыми другими, в том числе эндогенными факторами. Нарушение циркадианной ритмики работы сердца может являться прогностическим признаком ухудшения функционального состояния животного и проявляться при воздействии токсических веществ, аноксии или других воздействиях. Показано, что вариабельность сердечного ритма у беспозвоночных — надежный показатель ранних стадий ухудшения функционального состояния организма под влиянием факторов различного происхождения, модальности и интенсивности.

При оценке эффектов хронического загрязнения среды обитания на гидробионтов анализ времени восстановления измеряемых показателей после нагрузок (1–2 ч изменение солености воды на 50%) дает возможность оценить состояние животных и определить два индикативных показателя — время восстановления ЧСС ($T_{\text{восст}}$) после снятия нагрузки и коэффициент вариации ЧСС ($KV_{\text{чсс}}$) (Kuznetsova, Kholodkevich, 2015). Обнаружено, что эти показатели значительно различаются для гидробионтов, обитающих в разных по загрязнению акваториях: в относительно чистых районах $T_{\text{восст}}$ и $KV_{\text{чсс}}$ были значительно ниже этих величин для моллюсков из загрязненных акваторий.

Оценка состояния водных экосистем как среды обитания на основе состояния мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) была проведена нами на примере прибрежных вод 4-х бухт г. Севастополя (Черное море, Крым), характеризующихся различной антропогенной нагрузкой и водным режимом. Мы использовали волоконно-оптический метод для неинвазивной регистрации сердечного ритма двустворчатых моллюсков. Диагностику физиологического состояния мидий проводили методом функциональной нагрузки, используя кратковременное 50%-ное уменьшение солености воды (Kholodkevich et al., 2009; Kuznetsova, Kholodkevich, 2015). Состояние мидий было определено по двум функциональным показателям сердечного ритма — времени восстановления ($T_{\text{восст}}$) после снятия нагрузки и коэффициенту вариабельности ($KV_{\text{чсс}}$) в период восстановления. Было обнаружено, что эти параметры значительно варьируют

для мидий, которые обитают в прибрежных акваториях с разным уровнем загрязнения. Моллюски из относительно чистых открытых бухт (Казачья и Мартынова) характеризовались быстрым восстановлением (30–45 мин) и низкими значениями вариабельности ритма (10–15%).

У мидий из загрязненных районов (2 участка в Южной бухте с низким водообменом) время восстановления ритма было значительно более продолжительным (76.8 ± 9), $KV_{чсс}$ был равен 24%, содержание ряда тяжелых металлов в тканях моллюсков было наибольшим по сравнению с особями из других тестируемых акваторий. Полученные данные подтвердили выводы более ранних исследований, проведенных другими методами, что кутовая часть Южной бухты может быть охарактеризована как самая неблагоприятная по качеству воды, содержанию тяжелых металлов и показателям адаптивности кардиосистемы мидий к нагрузкам.

Тестирование по методу функциональной нагрузки пресноводного моллюска *Anodonta anatina* из районов Восточной части Финского залива показало пролонгированное $T_{восст}$ после гиперосмотической нагрузки (увеличение солёности до 6–7 ‰ и последующее восстановление природной солёности) у особей из Петергофа и Репино (357 ± 33 и 110 ± 15 мин, соответственно), в то время как для моллюсков из Дубков (референтная станция) оно составляло 45 ± 15 мин (ANOVA, $p < 0.05$) (Kholodkevich et al., 2017).

Таким образом, проверенный нами на морских моллюсках подход с определением в качестве индикаторного параметра $T_{восст}$ возможно применять также для оценки функционального состояния пресноводных моллюсков рода Unionidae, а именно – *Unio sp.* и *Anodonta anatina*.

Для сравнения статуса акваторий по предложенной процедуре тестирования и оценке состояния животных очень важно иметь базовые данные о норме реакции для наблюдаемых в референтном участке видов животных-биоиндикаторов. Необходимы исследования по выбору критериев, характеризующих «референтную» акваторию. Для садковых исследований, когда животных в садках переносят из референтной акватории в загрязненные участки и экспонируют в течение 2–3-х месяцев с целью сравнения эффектов экспозиции, важно также, чтобы условия обитания сравниваемых групп животных из разных акваторий были сходными по солёности, температуре, активной реакции среды (pH), содержанию растворенного кислорода, доступности пищи и некоторым другим абиотическим и биотическим факторам. Необходимы дальнейшие исследования по разработке критериев оценки функционального состояния животных и стандартов (показателей референтных акваторий) для анализа экологического состояния разных акваторий. При этом может оказаться, что для различных акваторий или даже их частей такие стандарты могут существенно отличаться.

Опыт применения и результаты оценки функционального состояния бентосных беспозвоночных на основе анализа их сердечного ритма (в отсутствие дополнительных стрессоров и при функциональной нагрузке) продемонстрировали эффективность предлагаемого методологического подхода. Однако, несомненно, что комплексная оценка состояния водной среды с помощью биологических методов требует привлечения ряда хорошо зарекомендовавших себя биомаркеров здоровья экосистем (например, состояние антиоксидантной системы, индекс здоровья, иммунологический статус организма и т.д.). Все перечисленные индикаторы обязательны в системе биологического контроля водных экосистем стран-членов ЕС и закреплены в Decision of the Commission of Official Journal of the European Union L 232/14, COMMISSION DECISION от 1 сентября 2010 г. относительно критериев и методологических стандартов определения хорошего экологического статуса морских вод (документы HELCOM (2010, 2012) и OSPAR (2000)).

Метод мониторинга кардиоактивности и методология оценки адаптивного потенциала животных, предложенные авторами, позволяет обнаруживать эффекты загрязнения окружающей среды даже в тех случаях, когда концентрация загрязнителя не превышает предельно допустимые значения или находится за пределом инструментального обнаружения (Kholodkevich et al., 2011; Kuznetsova, Kholodkevich, 2015; Kholodkevich et al., 2017). Метод позволяет определить опасные для здоровья биоты изменения в экосистеме, что подтверждает его прогностическую значимость.

Таким образом, выявление состояния экологического неблагополучия и оценку его степени предлагается проводить:

- по данным оценки функционального состояния животных (моллюсков и ракообразных), характеризующим изменения состояния экосистемы, в которой они обитают, вследствие чрезвычайной ситуации или хронического загрязнения акватории;
- по биохимическим данным, в частности, интегральным показателям состояния антиоксидантной системы этих животных;
- по данным биоаккумуляции загрязняющих веществ в тканях животных (особенно, в жабрах и гепатопанкреасе, как в органах с быстрым метаболизмом, имеющих большую площадь поверхности (жабры) и/или которые «ответственны» за интоксикацию и биоаккумуляцию в организме вредных веществ);
- по данным интегральных показателей состояния водной экосистемы (ИЗВ, IBR, BQI и др.).

Полученные авторами результаты лабораторных и полевых исследований являются хорошей основой для дальнейших разработок и использования в прибрежных акваториях морей сетей автоматизированных биосистем контроля, используя бентосных беспозвоночных в качестве живых мониторов экологического качества, а также во всех сферах современного водопользования. К основным преимуществам такой системы следует отнести: высокую степень автоматизации, высокую надежность, простоту в обслуживании, высокую степень автономии, длительность эксплуатации при довольно низкой стоимости аппаратного обеспечения и расходов на их обслуживание.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Borcherding J. Ten years of practical experience with the Dreissena-Monitor, a biological early warning system for continuous water quality monitoring // *Hydrobiologia*. 2006. Vol. 556, iss. 1. P. 417–426. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-1203-4>

Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // *Official Journal of the European Communities*. L. 327, 22. 12. 2000. 72 p.

HELCOM, 2010. Hazardous substances in the Baltic Sea: An integrated thematic assessment of hazardous substances in the Baltic Sea. – Helsinki, 2010. P. 54–60. – (Baltic Sea Environment Proceedings ; no.120B).

Kholodkevich S. V., Kuznetsova T. V., Lehtonen K. K., Kurakin A. S. Experiences on ecological status assessment of the Gulf of Bothnia different sites based on cardiac activity biomarkers of caged mussels (*Mytilus edulis*) // ICES Annual Science Conference, 2011, 19–23 Sept., Gdansk, Poland. <http://www.ices.dk/products/CMdocs/CM-2011/R/R2011.pdf>

Kholodkevich S., Kuznetsova T. V., Sharov A. N., Kurakin A. S., Lips U., Kolesova N., Lehtonen K. K. Applicability of bioelectronic cardiac monitoring system for the detection of biological effects of pollution in bioindicator species in the Gulf of Finland // *Journal of Marine Systems*. 2017. Vol. 171. P. 151–158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmarsys.2016.12.005>.

Kholodkevich S. V., Kuznetsova T. V., Trusevich V. V., Kurakin A. S. Peculiarities of valve movements and cardiac activity in bivalve mollusks under different stressors actions // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2009. Vol. 45, no. 4. P. 524–526.

<https://doi.org/10.1134/S0022093009040100>

Kuznetsova T. V., Kholodkevich S. V. Comparative assessment of surfacewater quality through evaluation of physiological state of bioindicator species: searching a new biomarkers // 4rd Mediterranean Conference on Embedded Computing (MECO) : Proceedings, 14–18 June, 2015, Budva, Montenegro / IEEE. – Budva, Montenegro, 2015. P. 339–344. <https://doi.org/10.1109/MECO.2015.7181938>

Turja R., Höher N., Snoeijis P., Baršienė J., Butrimavičienė L., Kuznetsova T., Kholodkevich S. V., Devier M.-H., Budzinski H., Lehtonen K. K. A multi-biomarker approach to the assessment of pollution impacts in two Baltic Sea coastal areas in Sweden using caged mussels (*Mytilus trossulus*) // Science of the Total Environment. 2014. Vol. 473–474. P. 398–409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.038>

Трусевич В. В., Гайский П. В., Кузьмин К. А. Автоматизированный биомониторинг водной среды с использованием реакций двустворчатых моллюсков // Морской гидрофизический журнал. 2010. № 3. С. 75–83.

NEW METHODOLOGICAL APPROACH TO THE EVALUATION OF ECOLOGICAL STATUS OF MARINE COASTAL AREAS: BIOASSAY OF FUNCTIONAL STATE OF THE BIVALVES

¹Kuznetsova T. V., ^{1,2}Kholodkevich S. V.

¹Saint-Petersburg Scientific Research Center for Ecological Safety, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia, kuznetsova_tv@bk.ru

Abstract. New methodological approach to express assessment of a physiological state of aquatic organisms and ecological quality of the environment of their dwelling, using non-invasive cardiac activity monitoring is considered. It is offered to carry out evaluation of organism's state by means of testing adaptive capacities under experimental variations of salinity with the subsequent analysis of the recovery period in cardiorythm of Mollusca and Crustacea. Examples of application of this approach for assessment of an ecological status of several marine areas in Baltic and Black Seas and fresh water bodies of the Gulf of Finland are observed.

Key words: cardiorythm, Mollusca, Crustacean, water quality.

УДК 504.064.3:628.193

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТЕОМНОГО ПОДХОДА ДЛЯ БИОМОНИТОРИНГА ЗАГРЯЗНЕНИЯ МОРСКОЙ СРЕДЫ

¹Кулева Н. В., ¹Красовская И. Е., ²Раилкин А. И.

¹ФГОУВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия, nadezhda.kuleva@gmail.com

²«ООО БиоМорЗащита», Санкт-Петербург, Россия, railkin@yandex.ru

Аннотация. Обоснована возможность применения протеомного подхода для биомониторинга загрязнителей в морской среде с помощью моллюсков как индикаторных организмов. В качестве биомаркеров предполагается использовать профили белковой экспрессии и посттрансляционные модификации белков моллюсков.

Ключевые слова: протеомика, синтез белков, биоиндикация загрязнения среды.