

УДК 502.084

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПРЕСНОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПО ФУНКЦИОНАЛЬНОМУ СОСТОЯНИЮ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

© 2019 г. С. В. Холодкевич<sup>1,2</sup>, А. Н. Шаров<sup>1,2,\*</sup>, Г. М. Чуйко<sup>3</sup>,  
Т. В. Кузнецова<sup>2</sup>, М. В. Гапеева<sup>3</sup>, Р. А. Ложкина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия 199034 Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский Центр экологической безопасности РАН,  
Россия 197110 Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Институт биологии внутренних вод, Россия, 152742 пос. Борок Ярославской обл.

\*e-mail: sharov\_an@mail.ru

Поступила в редакцию 03.09.2016 г.

Принята к публикации 29.06.2017 г.

Рассмотрены особенности показателей кардиоактивности и накопления металлов в тканях двустворчатых моллюсков из различных акваторий восточной части Финского залива и Рыбинского водохранилища. Проведен анализ функционального состояния моллюсков с использованием оригинального гиперосмотического тест-воздействия. Предложен подход к ранжированию качества пресноводных экосистем по состоянию обитающих в них двустворчатых моллюсков.

*Ключевые слова:* оценка состояния водных экосистем, тяжелые металлы, биомаркеры, кардиоактивность, двустворчатые моллюски.

DOI: 10.31857/S0321-0596462214-224

Диагностика состояния (“здоровья”) гидробионтов и водных экосистем как интегральная оценка последствий загрязнения окружающей среды в последнюю четверть XX в. обсуждается в научной литературе [9]. Для этого предлагаются различные критерии, разработанные с учетом эффектов загрязнения, проявляющихся на разных уровнях биологической организации (от молекулярно-генетического до организменного и выше) [24, 26]. Однако, с точки зрения ранней диагностики, негативные эффекты воздействия проще выявить на организменном и суборганизменном уровнях, чем на популяционном или уровне сообществ [8, 12, 13]. С этой целью активно разрабатывается методология биомаркирования, т.е. использования морфологических, цито-гистологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических параметров организма для оценки воздействия на него ксенобиотиков и их присутствия в окружающей среде [5, 10, 20].

В последнее время широкое применение в экотоксикологических исследованиях находят такие физиологические биомаркеры, как изме-

нения кардиоактивности, дыхания, двигательной активности и др. [34, 35, 44]. Эти показатели отражают интегральный ответ целого организма на изменения в окружающей среде [31] и позволяют получать информацию о состоянии (экологическом статусе) среды обитания гидробионтов [9, 30]. В частности, в ряде экспериментальных исследований [17, 18, 28, 29] показано, что двустворчатые моллюски реагируют на присутствие в воде отдельных веществ и их смесей в концентрациях, когда они обладают для них острой или хронической сублетальной токсичностью, быстрыми изменениями частоты сердечных сокращений (ЧСС) и/или изменениями в локомоторной активности (например, движения створок). Эти индикативные показатели используются в системах on-line биомониторинга Mossel-Monitor [39], Dreissena-Monitor [26] и в разработанной авторами биоэлектронной системе обеспечения безопасности водоснабжения [7, 37].

Вместе с тем в полевых условиях для оценки состояния природных популяций моллюсков и среды их обитания такой подход малоэффективен в силу существующей большой межинди-

видуальной вариабельности. В связи с этим для решения данной проблемы с помощью использования того же оборудования предложен метод функциональных нагрузок, в качестве которых используются стандартизованные по силе и продолжительности воздействия различной модальности [15, 16, 19, 37].

Функциональной нагрузкой могут быть непродолжительные механические воздействия [25] или изменения солености среды обитания [3, 18, 38]. Данный метод основан на том, что показатели состояния здорового и больного организма различаются при функциональной нагрузке в адаптивном по силе и продолжительности воздействия диапазоне. Такой подход позволяет использовать ответы физиологических систем гидробионтов, обитающих в местах с разной антропогенной нагрузкой, для диагностики ранних признаков ухудшения здоровья отдельных организмов и их популяций.

Время восстановления ЧСС животных и вариабельность кардиоритма как показатели адаптивности сердечно-сосудистой системы к нагрузкам предложены в качестве новых физиологических биомаркеров [17], позволяющих ранжировать различные по степени загрязнения акватории, в которых обитают гидробионты. Последующие исследования [4, 16, 19, 37, 38, 40, 43] подтвердили, что характерная особенность как морских, так и пресноводных моллюсков, взятых из разных по экологическому состоянию мест обитания, – разное время восстановления ЧСС после стандартизованных тест-воздействий на животных.

Цель работы – развитие и апробация в лабораторных и полевых условиях метода оценки

состояния водных экосистем с различным уровнем антропогенного загрязнения, основанного на измерении частоты сердечных сокращений и анализе физиологического состояния двустворчатых моллюсков при функциональной нагрузке.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования использовали пресноводных двустворчатых моллюсков семейства Unionidae: перловицу *Unio tumidus* (L., 1758) и беззубок *Anodonta anatina* (L., 1758), *Anodonta cygnea* (L., 1758). Моллюсков собирали в период с мая по ноябрь 2011–2015 гг. в прибрежных районах восточной части Финского залива (эстуарий р. Невы) и Рыбинского водохранилища, различающихся по степени антропогенной нагрузки (рис. 1; табл. 1). С каждой станции отбирали без определения пола до 20 особей того или иного вида с длиной раковины 70–80 мм. В течение 1–3 ч после сбора моллюсков доставляли в пластиковых изотермических контейнерах с 10 л природной воды в лабораторию и помещали в аквариум с постоянной принудительной аэрацией и природной водой с места их сбора. Температура воды в аквариумах поддерживалась близкой к температуре воды в месте их сбора (18–20°C). На створки над областью расположения сердца наклеивали миниатюрные держатели волоконно-оптического зонда и проводили постоянную регистрацию ЧСС. До начала экспериментов моллюсков акклимировали к лабораторным условиям в течение 1–2 сут. Принималось, что акклимация завершена с момента перехода моллюска к устойчивому состоянию фильтрации,

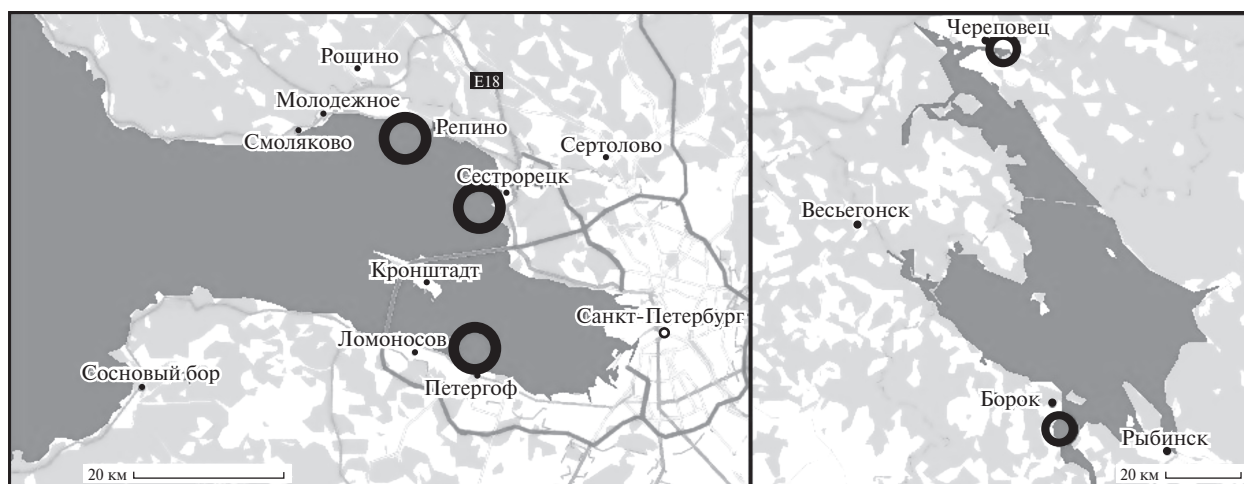


Рис. 1. Картосхема районов исследования.

**Таблица 1.** Станции сбора моллюсков сем. Unionidae в Финском заливе Балтийского моря и Рыбинском водохранилище и оценка степени антропогенной нагрузки

Район сбора (№)	Координаты	Степень антропогенной нагрузки / Характеристика качества вод	Местоположение / трофическое состояние	Ссылка
Рыбинское водохранилище				
пос. Борок (1)	58.06° с.ш. 38.25° в.д.	Относительно низкая / “чистая”	Волжский плес, рекреационная зона / мезотрофное	[1, 14]
г. Череповец (2)	59.14° с.ш. 37.97° в.д.	Относительно высокая / “загрязненная”	Шекснинский плес, р. Ягорба, промышленная зона / мезотрофное	[11, 14, 21]
Финский залив Балтийского моря				
г. Сестрорецк (3)	60.09° с.ш. 29.92° в.д.	Относительно низкая / “чистая”	Курортный р-н, парк “Дубки” / мезотрофное	[23]
г. Петергоф (4)	59.89° с.ш. 29.88° в.д.	Относительно высокая / “загрязненная”	Р-н очистных сооружений г. Петергофа / эвтрофное	>>
пос. Репино (5)	60.16° с.ш. 29.86° в.д.	Средняя / “умеренно загрязненная”, 0.5–2‰	Курортный р-н, рекреационная зона / мезотрофное	>>
пос. Комарово (6)	60.17° с.ш. 29.79° в.д.	Средняя / “умеренно загрязненная”, 1–2‰	Курортный р-н, рекреационная зона / мезотрофное	>>

которое характеризуется постоянством ЧСС, характерной для моллюсков данного размера при данной температуре воды в аквариуме.

Оценку функционального состояния моллюсков проводили на основе анализа их реакций на функциональную нагрузку – кратковременное (60 мин) изменение солености воды, применявшееся авторами и ранее на разных животных [3, 4, 38]. Процедура состояла в добавлении в аквариум исходного раствора NaCl с таким расчетом, чтобы конечная концентрация соли в воде аквариума достигла 6 г/л. Через 1 ч проводили замену соленой воды на исходную пресную природную воду. Изменение солености и смену воды проводили быстро (в течение 2–3 мин), при этом старались минимизировать сопряженные с процедурой турбулентные потоки и не допускали полного осушения моллюсков и изменений температуры воды.

Во время содержания в лаборатории моллюсков не кормили. После тестирования все моллюски остались живыми и были возвращены в природную среду.

Кардиоактивность моллюсков регистрировали оригинальным волоконно-оптическим методом [36]. Метод основан на измерении пери-

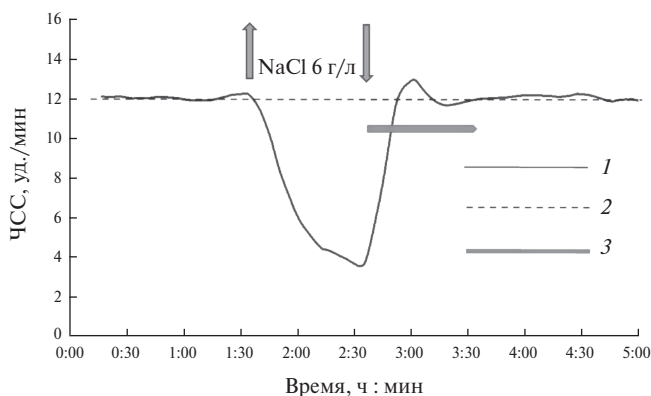
одических изменений характеристик отражения и рассеяния света полупроводникового лазера низкой интенсивности, обусловленных движением сердечной мышцы, и преобразовании полученного оптического сигнала, поступающего от установленного на раковине волоконно-оптического датчика, в аналоговый электрический сигнал (фотоплетизмограмма) с его последующей оцифровкой (на 300 Гц). Система обработки сигнала включает в себя аналого-цифровой преобразователь (L-Card E14-140), портативный компьютер и оригинальное программное обеспечение VarPulse, разработанное в лаборатории Биоэлектронных методов геоэкологического мониторинга Санкт-Петербургского научно-исследовательского Центра экологической безопасности. Регистрацию ЧСС моллюсков производили непрерывно в течение всего эксперимента, одновременно регистрируя ЧСС у 7–16 особей. Средние значения автоматически рассчитывали по 50 кардиоинтервалам с шагом 10 интервалов. Полученные данные непрерывно записывались и сохранялись в компьютере для последующего анализа.

Анализ и визуализацию данных по изменениям ЧСС проводили при помощи MS Excel, строя

кривые динамики ЧСС для всех экспериментов. Время восстановления ( $T_{\text{восст}}$ ) ЧСС вычисляли как период (мин), необходимый для восстановления ЧСС до фонового (до начала эксперимента) значения [4, 19, 37] после замены соленой воды на исходную пресную. При этом считалось, что ЧСС восстанавливается, когда ее значения достоверно не отличаются от фоновых и не изменяются более 30 мин. На рис. 2 представлена схема, поясняющая процедуру расчета  $T_{\text{восст}}$  после изменения солёности воды.

$T_{\text{восст}}$  рассчитывалось индивидуально для каждого моллюска в исследуемой группе с последующим вычислением среднего и ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Нормальность и однородность выборок проверялись с использованием подхода Шапиро–Уилка ( $p > 0.05$ ), подробно приведенного в работе [41]. Различия между средними оценивались при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием статистического пакета Data Analysis Tool Pak (MS Excel 2003), достоверность различий установлена при  $p < 0.05$ .

Элементный состав тканей моллюсков определяли методом масс-спектропии на приборе “ICP MS DRC” с использованием внутреннего стандарта “In” и внешних стандартов “Perkin-Elmer”. Пробы для анализа подвергали “мокрому” озолению:  $\text{HNO}_3$  (осч) и  $\text{H}_2\text{O}_2$  (осч) в соотношении 3 : 2. Разложение проб проводили в СВЧ печи “SpeedWareMWS-3+” в течение 20 мин при температуре 200°C согласно рекомендуемой программе по протоколу “EPA Method 3050B”. Результаты выражали в мкг на 1 г влажной массы (в.м.). Концентрации определяли в суммарных



**Рис. 2.** Изменение средней ЧСС беззубки при 1-часовом гиперосмотическом изменении солёности воды: 1 — усредненные значения ЧСС, 2 — фоновый уровень ЧСС, 3 — период восстановления после замены соленой воды на исходную. Стрелками указаны моменты времени повышения и понижения солёности воды.

пробах из 2–4 моллюсков общей массой мягких тканей 2–2.5 г. С каждой станции собрано по 4 суммарных пробы каждой ткани.

Данные представлялись как средняя арифметическая величина и стандартная ошибка средней ( $M \pm m$ ). При сравнении групп моллюсков, собранных в разных местах, по концентрациям загрязняющих веществ в органах и тканях использовался непараметрический  $U$ -критерий Манна–Уитни (при уровне статистической значимости  $p = 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При добавлении раствора соли все моллюски реагировали закрытием створок и снижением ЧСС. Достоверное изменение ЧСС на увеличение солёности воды наблюдалось уже через 1–2 мин после начала тестового воздействия. Время восстановления ЧСС достоверно отличалось у всех исследованных видов моллюсков из условно чистых и загрязнённых мест обитания, но межвидовых различий по этому показателю выявлено не было. Сезонные исследования с мая по сентябрь 2014 г. не выявили значительных различий  $T_{\text{восст}}$  среди моллюсков из Курортного района восточной части Финского залива после гиперосмотической нагрузки (табл. 2).

Лабораторное тестирование моллюсков *A. anatina* из акватории у г. Сестрорецка (парк “Дубки”) выявило, что в июле 2011–2014 гг. среднее  $T_{\text{восст}}$  после гиперосмотической функциональной нагрузки, в основном, находилось в диапазоне 35–68 мин. Исключением было единичное наблюдение в 2012 г., когда отмечались повышенные значения — в среднем 110 мин (табл. 2).

Моллюски *A. anatina* из относительно загрязнённой прибрежной зоны Петродворцового района (г. Петергоф) Санкт-Петербурга достоверно (ANOVA,  $p < 0.05$ ) демонстрировали более продолжительный период восстановления ЧСС после гиперосмотического тест-воздействия, чем животные из относительно чистого Курортного района (пос. Репино, г. Сестрорецк) (табл. 2).

Аналогичный характер ответной реакции *A. sугnea* на тест-воздействия наблюдался в июле–августе 2012–2013 гг. в Рыбинском водохранилище (рис. 1; табл. 1). Моллюски из условно чистого участка водохранилища в районе пос. Борок демонстрировали быстрое  $T_{\text{восст}}$  ЧСС, составляющее 38–64 мин (табл. 2). Значения  $T_{\text{восст}}$  моллюсков из промышленной зоны в черте г. Череповца (р. Ягорба) значимо (ANOVA,  $p < 0.005$ )

**Таблица 2.** Время восстановления ЧСС ( $T_{\text{восст}}$ ), мин, моллюсков из разных акваторий после 1-часового гиперосмотического воздействия раствора 6г/л NaCl

Район отлова	Месяц, год	Вид	N, шт.	$t$ воды, °C	$T_{\text{восст}}$ , мин
<b>Финский залив</b>					
г. Сестрорецк	август 2011 г.	<i>U. tumidus</i>	14	26	44±4
г. Сестрорецк	июль 2011 г.	<i>A. anatina</i>	7	20	40±5
г. Сестрорецк	июль 2012 г.	<i>A. anatina</i>	7	20	110±15
г. Сестрорецк	июль 2013 г.	<i>A. anatina</i>	8	18	60±5
г. Сестрорецк	май 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	15	53±5
г. Сестрорецк	июнь 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	18	68±17
г. Сестрорецк	июль 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	18	45±7
г. Сестрорецк	август 2014 г.	<i>A. anatina</i>	14	19	35±11
г. Сестрорецк	июнь 2015 г.	<i>A. anatina</i>	8	19	53±7
пос. Комарово	июнь 2012 г.	<i>A. anatina</i>	14	13	180±14
пос. Репино	июнь 2013 г.	<i>A. anatina</i>	8	17	120±10
пос. Репино	май 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	20	56±19
пос. Репино	июнь 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	20	90±17
пос. Репино	сентябрь 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	20	101±21
г. Петергоф	сентябрь 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	15	357±33
г. Петергоф	ноябрь 2014 г.	<i>A. anatina</i>	8	20	165±14
г. Петергоф	сентябрь 2015 г.	<i>A. anatina</i>	8	20	102±15
<b>Рыбинское водохранилище</b>					
пос. Борок	август 2012 г.	<i>A. cygnea</i>	8	20	64±5
пос. Борок	июль 2013 г.	<i>A. cygnea</i>	16	19	38±6
пос. Борок	август 2013 г.	<i>A. cygnea</i>	8	19	55±15
г. Череповец	август 2013 г.	<i>A. cygnea</i>	8	20	320±17

превышали среднюю величину этого показателя у моллюсков из условно чистого участка.

Анализ содержания металлов в органах и тканях моллюсков из различных районов исследования показал статистически значимо ( $U$ -критерий Манна-Уитни,  $p < 0.05$ ) более высокие концентрации металлов Al, Zn, Sr, Pb в беззубках из акватории у г. Череповца по сравнению с животными из участка у пос. Борок (табл. 3). Наибольшее различие в биоаккумуляции металлов наблюдалось в тканях пищеварительной железы, а наименьшее – в мышце ноги моллюсков.

Сравнительные исследования химического состава металлов в тканях моллюсков из разных районов Финского залива не показали достоверных отличий уровня накопления большин-

ства металлов. Исключение составил только Cd, концентрации которого в беззубках, отобранных в прибрежной зоне Финского залива у г. Петергофа, оказались более чем в 2 раза ниже, чем в моллюсках этого же вида из прибрежной зоны Курортного района (табл. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Пресноводные беспозвоночные являются гиперосмотическими по отношению к среде обитания. Содержание ионов, особенно Na и Ca, в гемолимфе существенно выше, чем в пресной воде. Вследствие этого между моллюсками и наружной средой поддерживается осмотический градиент, способствующий диффузии воды внутрь организма. Повышение концентрации Na в воде приводит к снижению осмотического

градиента между организмом моллюска и средой, что сопровождается снижением скорости диффузии воды в организм. При приближении концентрации Na в воде к таковой у гемолимфы пресноводные моллюски начинают повышать концентрацию этого иона во внутренней среде, что обеспечивает определенный осмотический градиент для притока воды в организм [6]. Повышение концентрации Na в гемолимфе моллюсков происходит в пределах физиологических особенностей конкретного вида. Гемолимфа беззубки в природных условиях имеет низкую внутреннюю концентрацию ионов, она изотонична 0.1%-му раствору NaCl. Исследования в [22] солевой резистентности беззубки *A. sугнеа* показали, что оптимальные условия для данного вида соответствуют общей солености воды  $\leq 2\%$ . В этих условиях пресноводные двустворчатые моллюски нормально дышат, потребляя значительное количество кислорода, и способны длительно существовать. При резком повышении солености воды до 5–7‰ моллюски закрывают створки и потребление кислорода резко снижается, а при солености воды 9‰ большинство моллюсков уже погибает.

Настоящие исследования показали, что пресноводные двустворчатые моллюски, отобранные из разных мест, отличающихся уровнем загрязнения, реагируют не одинаково на кратковременное (1-часовое) воздействие соленой воды (6 г/л NaCl). При данном воздействии все моллюски реагировали снижением ЧСС, но у особей из загрязненных мест обитания период восстановления после смены солоноватой воды на пресную природную был значительно продолжительнее (несколько часов), чем у моллюсков из относительно чистых мест (30–60 мин).

Возможно, что животные из загрязненных мест обитания имеют сниженный адаптивный потенциал и на дополнительную функциональную нагрузку в виде изменения солености воды реагируют переходом на анаэробный обмен и снижением энергетического обмена и ЧСС соответственно.

Соленость воды восточной части Финского залива ограничивает распространение унионид. Западная граница их распространения проходит по 29.4° в.д. и соответствует солености воды 1.5–2‰ [23]. Униониды также могут встречаться в устьях рек. Дрейссена выдерживает более высокую соленость воды и распространена

**Таблица 3.** Концентрация некоторых элементов (мкг/г в.м.±м,  $n = 4$ ) в органах и тканях моллюсков из районов обследования (1 – Борок, 2 – Череповец, 3 – Сестрорецк, 4 – Петергоф, 5 – Репино; прочерк – нет данных)

Органы	Район	Al	Mn	Cu	Zn	Sr	Pb	Cd
Жабры	1	4±1	181±208	0.51±0.08	15.8±1.6	15±2	0.05±0.01	0.001±0.0001
	2	20±2.5*	705±61*	0.58±0.01	34.9±0.2*	34±1.6*	0.41±0.07*	0.005±0.001*
	3	9±2	-	0.77±0.04	28.0±2.5	-	0.07±0.01	0.379±0.05
	4	9±1.5	1195±48	1.22±0.43	7.1±3.9	-	0.20±0.02**	0.063±0.01**
	5	10±1	1044±69	0.58±0.08	9.1±1.4	-	0.06±0.01	0.204±0.03**
Пищеварительная железа	1	38±21	237±34	2.01±0.25	10.7±0.2	6±0,6	0.10±0.01	0.001±0.0002
	2	109±54*	128±15*	2.72±0.1*	15.4±2.4	9±1.3*	0.43±0.14*	0.005±0.002*
	3	8±1	29±12	1.49±0.16	26.3±0.8	-	0.10±0.03	0.244±0.020
	4	7±2	54±22	1.87±0.55	8.2±2.6	-	0.16±0.05	0.065±0.023**
	5	8±1	14±3	1.82±0.1	7.9±1.4	-	0.13±0.06	0.120±0.01**
Нога	1	12±4	108±31	0.89±0.14	8.8±0.4	5±1.2	0.05±0.01	0.001±0.0001
	2	27±1*	36±1	1.00±0.02	9.9±0.2	4±0.1	0.19±0.01*	0.002±0.0001*
	3	8±2	70±24	1.10±0.33	18.0±2.7	-	0.08±0.03	0.266±0.09
	4	5±2	21±7	1.03±0.34	8,8±2,7	-	0.13±0.05	0.067±0.02**
	5	7±2	14±5	0.75±0.25	8.7±2.9	-	0.07±0.02	0.151±0.05

\* Достоверные отличия ( $U$ -критерий Манна–Уитни,  $p < 005$ ) от референтного района 1 – пос. Борок, Рыбинское водохранилище.

\*\* Достоверные отличия ( $U$ -критерий Манна–Уитни,  $p < 005$ ) от референтного района 3 – Курортный район, парк “Дубки”, Финский залив.

вплоть до Финляндии по северному берегу и до Эстонии по южному [23]. Таким образом, основные абиотические факторы среды обитания, определяющие распространение и устойчивость существования популяций, необходимо учитывать при применении этих моллюсков в качестве тест-организмов для оценки экологического состояния акваторий их обитания.

Исследования авторов в 2010–2015 гг. показали, что наиболее высока численность (0.2–0.5 экз./м<sup>2</sup>) двустворчатых моллюсков рода Unionidae в Курортном районе в прибрежной зоне парка “Дубки” (г. Сестрорецк). Это совпадает с результатами предыдущих наблюдений [23]. По ряду гидробиологических и гидрохимических показателей [23] данный район можно охарактеризовать как район с относительно слабой антропогенной нагрузкой (II класс качества вод, “чистые”) Невской губы (табл. 1). Величины  $T_{\text{восст}}$  моллюсков из этой зоны могут быть приняты, на взгляд авторов, за норму для восточной части Финского залива. Предлагается рассматривать значения  $T_{\text{восст}}$  моллюсков из этого местообитания в качестве эталонных (фоновых) значений для восточной части Финского залива.

Разово зарегистрированное в 2012 г. повышение показателя  $T_{\text{восст}}$  моллюсков в этом районе указывает на кратковременное ухудшение их функционального состояния. Это, по-видимому, было обусловлено негативным влиянием гидродинамических условий литорали (прошедшим штормом), интенсивным цветением водорослей и колебаниями уровня воды (сгонно-нагонными явлениями) в предшествующий сбору животных период.

В 2014 г. численность моллюсков в прибрежной зоне Финского залива у Курортного района увеличилась по сравнению с 2012–2013 гг., что, на взгляд авторов, связано с улучшением качества воды в данной акватории. Это привело к улучшению их физиологического состояния, что подтверждается быстрым восстановлением ЧСС после гиперосмотической функциональной нагрузки.

Моллюски из Рыбинского водохранилища у пос. Борок показали величины  $T_{\text{восст}}$  (38–64 мин) аналогичные значениям для животных из прибрежной зоны Финского залива у Курортного района (г. Сестрорецк, парк “Дубки”) (табл. 2). В то же время данные о продолжительности восстановления ЧСС для моллюсков из промышленной зоны у г. Череповца (р. Ягор-

ба) сопоставимы с данными, полученными для моллюсков из относительно загрязненной зоны Невской губы Финского залива вблизи г. Петергофа. В условно фоновом районе Рыбинского водохранилища (вблизи пос. Борок) в период исследований 2012–2013 гг. предложенные авторами статьи показатели оценки физиологического состояния соответствовали эталонным значениям. Таким образом, в акваториях, подверженных длительной (хронической) антропогенной нагрузке (р. Ягорба, г. Череповец; Невская губа Финского залива, г. Петергоф), функциональное состояние моллюсков значительно хуже, чем в условно фоновых местах, о чем свидетельствует медленное восстановление их показателей ЧСС.

На основе показателей превышения ПДК в воде восточной части Финского залива за многолетний период (1990–2006 гг.) металлы были ранжированы [23] в порядке: Cu > Pb > Co > Cd > Zn > Ni > Mn. Несмотря на различия в содержании металлов в воде и донных осадках в прибрежной зоне Финского залива [23, 33] у Курортного района и акватории у г. Петергофа, уровни накопления металлов в органах и тканях двустворчатых моллюсков оказались статистически неразличимыми. Исключением был только Pb, трехкратное превышение которого зарегистрировано в жабрах моллюсков из акватории у г. Петергофа по сравнению с моллюсками из прибрежной зоны Финского залива у Курортного района (табл. 3). Расчет в [23] также показал отсутствие разницы уровней загрязнения металлами разных акваторий эстуария р. Невы за период 2000–2006 гг. по величине потенциальных комбинированных рисков. Таким образом, несмотря на приоритетное место в списке загрязняющих веществ, для восточной части Финского залива содержание тяжелых металлов в воде не может использоваться в качестве маркера ее загрязнения.

Корреляция между элементами в воде и донных осадках в прибрежной зоне восточной части Финского залива, как правило, близка к нулю, и связи недостоверны [33]. Содержание металлов в донных осадках, в отличие от воды, не одинаково (ANOVA,  $p < 0.05$ ) в различных частях восточной части Финского залива и количественно распределено в порядке: Hg < Cd < As < Co < Ni < B < Cr < Cu < Pb < Zn. Авторы отметили относительно высокое содержание Cd (0.16±0.02 мг/кг сух. массы) в донных осадках прибрежной зоны Финского залива у г. Петергофа. Однако именно Cd меньше всего

аккумулировался органах и тканях исследованных моллюсков в этом районе Невской губы (табл. 3).

Концентрации металлов в тканях моллюсков Рыбинского водохранилища, в отличие от Финского залива, достоверно ( $U$ -критерий Манна–Уитни,  $p < 0.05$ ) отличаются от таковых для акваторий у пос. Борок и г. Череповца (табл. 3). Это обусловлено относительно высокой антропогенной нагрузкой в районе г. Череповца, связанной с влиянием Череповецкого коммунально-промышленного комплекса [2, 14, 21, 42]. Таким образом, хроническое воздействие больших концентраций металлов (и других загрязняющих веществ) в воде на моллюсков, обитающих в районе г. Череповца, может вызывать негативные изменения в функционировании их органов и тканей, что существенно ухудшает показатели физиологического состояния и снижает адаптивный потенциал животных.

В соответствии с рекомендациями Европейской водной рамочной директивы (ЕВРД) [32] экологическое состояние всех водных объектов может оцениваться как отклонение от эталонных условий, которое измеряется с помощью показателя экологического качества (Ecological Quality Ratio – EQR). Величина EQR определяется как отношение наблюдаемого значения к эталонному (фоновому) для разных групп биомаркеров загрязнения. Значения EQR, близкие к единице, означают высокую степень сходства между наблюдаемыми и эталонными (фоновыми) условиями и, как следствие, хорошее экологическое состояние. Согласно ЕВРД, весь диапазон экологического состояния водного объекта можно разделить на пять категорий качества: высокое, хорошее, посредственное, плохое и очень плохое.

Данный подход, на взгляд авторов статьи, может быть применен также при использовании предложенного показателя (биомаркера)  $T_{\text{восст}}$  для оценки экологического состояния водных объектов по времени восстановления ЧСС обитающих в них пресноводных моллюсков рода Unionidae. Это позволит подходить к ранжированию акваторий по их экологическому состоянию на основании результатов измерения данного физиологического показателя, отражающего адаптивный потенциал обитающих в них животных через быстроту восстановления функционирования их сердечно-сосудистой системы после стрессовых воздействий. На основании проведенных исследований в качестве эталонного (фонового) значения  $T_{\text{восст}}$  моллю-

сков предлагаем принять временной интервал – 40 мин. Исходя из опыта изучения представителей фауны пресноводных экосистем и в соответствии с числом рангов экологического статуса, рекомендованных ЕВРД, предлагаем выделить также пять классов диапазона  $T_{\text{восст}}$ , которые могут соответствовать высокому, хорошему, среднему, плохому и очень плохому экологическому состоянию водных объектов (табл. 4).

Исходя из вышеизложенного, экологический статус исследованных в работе акваторий Финского залива и Рыбинского водохранилища по величине  $T_{\text{восст}}$  моллюсков можно ранжировать так: Сестрорецк (Парк “Дубки”) и Борок – высокий/хороший, Репино – хороший/посредственный, Петергоф и р. Ягорба – плохой/очень плохой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный ранее для морских моллюсков показатель  $T_{\text{восст}}$  может использоваться также при оценках физиологического состояния и пресноводных видов двусторчатых моллюсков Unionidae. Данный показатель функциональной активности моллюсков, рассматриваемый в качестве интегральной меры их здоровья, может быть предложен для нового подхода к ранжированию акваторий по их экологическому состоянию. Быстрое восстановление ЧСС моллюсков в течение 35–50 мин после тест-воздействия водой с соленостью 6‰ в течение 1 ч свидетельствует о хорошем состоянии животных и, соответственно, о хорошем экологическом статусе акватории их обитания. Увеличение этого времени восстановления может быть связано с ухудшением физиологического состояния моллюсков вследствие изменения состояния среды их обитания.

Длительное пребывание под воздействием неблагоприятных факторов снижает адаптации

**Таблица 4.** Ранжирование экологического статуса водоемов по EQR и  $T_{\text{восст}}$  (EQR – Ecological Quality Ratio)

Экологический статус	EQR	$T_{\text{восст}}$ , мин
Высокий	> 0.80	< 50
Хороший	0.60–0.80	50–70
Посредственный	0.40–0.60	70–100
Плохой	0.20–0.40	100–200
Очень плохой	< 0.20	> 200



онные способности животных, что проявляется в увеличении времени восстановления ЧСС.

Характеристики состояния здоровья двустворчатых моллюсков (при условии обитания животных в исследуемых водных объектах) удобно использовать для экспресс-оценки качества водных экосистем в сочетании с уже имеющимися и общепризнанными показателями.

Работа выполнена с использованием оборудования Ресурсного центра “Обсерватория экологической безопасности” Научного парка Санкт-Петербургского Государственного университета.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Герман А.В., Законнов В.В., Мамонтов А.А. Хлорорганические соединения в Волжском плесе Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. 2010. Т. 37. № 1. С. 84–88.
2. Козловская В.И., Герман А.В. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. 1997. Т. 24. № 5. С. 563–569.
3. Кузнецова Т.В. Изменение солёности среды как функциональная нагрузка при оценке физиологического состояния рака *Astacus leptodactylus* Esch. // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2013. Т. 49. № 5. С. 348–351.
4. Куракин А.С., Холодкевич С.В., Пурвия С., Барда И., Римша Э., Куликович А.В. Оценка экологического состояния акваторий Балтийского моря // Науч.-техн. ведомости СПб ГПУ. Сер. Наука и образование. 2012. № 1 (142). С. 267–272.
5. Лукьянова О.Н. Молекулярные биомаркеры. Владивосток: Изд-во ДВГАЭУ, 2001. 196 с.
6. Мартемьянов В.И. Влияние минерального состава внешней среды на показатели водно-солевого обмена вселившейся в Рыбинское водохранилище дрейссены *Dreissena polymorpha* Pallas // Рос. Журн. биол. инвазий. 2011. Т. 4. № 2. С. 120–134.
7. Махнев П.П., Бекренев А.В., Бакланов В.С., Холодкевич С.В., Иванов А.В., Донченко В.К., Куракин А.С., Корниенко Е.Л., Федотов В.П. Система обеспечения безопасности водоснабжения на водопроводных станциях Санкт-Петербурга // Водоснабжение и санитарная техника. 2006. № 9. Ч. 1. С. 6–15.
8. Моисеенко Т.И. Экотоксикологический подход к оценке качества вод // Вод. ресурсы. 2005. Т. 32. № 4. С. 410–424.
9. Моисеенко Т.И., Гашев С.Н., Селюков А.Г., Жигилева О.Н., Алешина О.А. Биологические методы оценки качества вод. Ч. 1. Биоиндикация // Вестн. ТюмГУ. 2010. № 7. С. 20–40.
10. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 316 с.
11. Трусова Л.Н., Фрумин Г.Т. Динамика качества вод основных рек Вологодской области // Экол. химия. 2012. № 21(3). С. 137–143.
12. Филенко О.Ф., Дмитриева А.Г., Исакова Е.Ф., Ипатова В.Н., Прохоцкая В.Ю., Самойлова Т.А., Черномырдина А.В. Механизмы реагирования водных организмов на воздействие токсичных веществ // Антропогенное влияние на водные экосистемы. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. С. 70–93.
13. Флёров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Л.: Наука, 1989. 144 с.
14. Флёров Б.А., Томилина И.И., Кливленд Л., Баканов А.И., Ганеева М.В. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища // Биология внутр. вод. 2000. № 2. С. 148–155.
15. Холодкевич С.В. Волоконно-оптические дистанционные биосенсорные системы непрерывного биологического мониторинга качества поверхностных вод и донных отложений в реальном времени // Материалы междунар. конф. “Нефть и газ арктического шельфа – 2006”. Мурманск: ММБИ КНЦ РАН, 2006. С. 287–296.
16. Холодкевич С.В., Иванов А.В., Трусевич В.В., Кузнецова Т.В. Экотоксикологический биомаркер для биоиндикации состояния водных экосистем на основе оценки адаптационной способности обитающих в них двустворчатых моллюсков // ДАН України. 2012. № 6. С. 138–142.
17. Холодкевич С., Кузнецова Т., Трусевич В., Донченко В. Здоровье среды определяют моллюски. Система оценки качества воды на основе физиологических и поведенческих биомаркеров бентосных беспозвоночных и ее применение в биомониторинге природных и сточных вод // ВодаMagazine. 2011. № 5(45). С. 40–43.
18. Холодкевич С.В., Кузнецова Т.В., Трусевич В.В., Куракин А.С., Иванов А.В. Особенности движения створок и кардиоактивности двустворчатых моллюсков при действии различных стрессоров // Журн. эволюцион. биохимии и физиологии. 2009. Ч. 45. № 4. С. 432–434.
19. Холодкевич С.В., Шаров А.Н., Кузнецова Т.В. Перспективы и проблемы использования биоэлектронных систем в мониторинге состояния экологической безопасности акваторий Финского залива // Регион. экология. 2015. № 2 (37). С. 16–26.
20. Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкотоксикологии: принципы, методы и методология, практика использования. Гл. XV // Экологический мониторинг. Ч. VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: Уч. пособие / Под ред. Гелашвили Д.Б., Шургановой Г.В. Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2014. С. 310–326.
21. Чуйко Г.М., Законнов В.В., Морозов А.А., Бродский Е.С., Шелепчиков А.А., Фешин Д.Б. Пространственное распределение и качественный состав полихлорированных бифенилов (ПХБ) и хлорорга-

- нических пестицидов (ХОП) в донных отложениях и леще (*Abramis brama* L.) из Рыбинского водохранилища // Биология внутр. вод. 2010. № 2. С. 98–108.
22. Шкорбатов Г.Л., Старобогатов Я.И. Методы изучения двустворчатых моллюсков // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1990. Т. 219. 208 с.
23. Экосистема эстуария реки Невы: биологическое разнообразие и экологические проблемы / Под ред. Алимова А.Ф., Голубкова С.М. М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2008. 477 с.
24. Attrill M.J., Depledge M.H. Community and population indicators of ecosystem health: targeting links between levels of biological organization // Aquat. Toxicol. 1997. V. 38. P. 183–197.
25. Bamber S.D., Depledge M.H. Responses of shore crabs to physiological challenges following exposure to selected environmental contaminants // Aquatic Toxicol. 1997. V. 40. P. 79–92.
26. Borcharding J. Ten years of practical experience with the Dreissena-Monitor, a biological early warning system for continuous water quality monitoring // Hydrobiologia. 2006. V. 556. P. 417–426.
27. Cash K.J. Assessing and monitoring aquatic ecosystem health — approaches using individual, population, and community/ecosystem measurements // Northern River Basins Study Project Rep. 1995. № 45. 68 p.
28. Chen W.Y., Jou L.J., Chen S.H., Liao C.M. A real-time biomonitoring system to detect arsenic toxicity by valve movement in freshwater clam *Corbicula fluminea* // Ecotoxicol. 2012. V. 21(4). P. 1177–1187.
29. Curtis T.M., Williamson R., Depledge M.H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper // Mar. Biol. 2000. V. 136. P. 837–846.
30. Depledge M.H. Recovery of ecosystems and their components following exposure to pollution // J. Aquatic Ecosystem Stress and Recovery. 1999. V. 6. P. 199–206.
31. Depledge M.H., Aagaard A., Györkös P. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioral biomarkers // Mar. Pollut. Bull. 1995. V. 31. P. 19–27.
32. 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 J. Eur. Communities. L. 327. 22. 12. 2000. 72 p.
33. Gubelit Y., Polyak Y., Dembska G., Pazikowska-Sapota G., Zegarowski L., Kochura D., Krivorotov D., Podgornaya E., Burova O., Maazouzi C. Nutrient and metal pollution of the eastern Gulf of Finland coastline: sediments, macroalgae, microbiota // Sci. Total Environ. 2016. V. 550. P. 806–819.
34. Hagger J.A., Galloway T.S., Langston W.J., Jones M.B. Application of biomarkers to assess the condition of European Saltwater Sites // Environ. Pollution. 2009. V. 157. P. 2003–2010.
35. Handy R.D., Depledge M.H. Physiological Responses: Their Measurement and Use as Environmental Biomarkers in Ecotoxicology // Ecotoxicol. 1999. V. 8. P. 329–349.
36. Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kurakin A.S., Kornienko E.L., Fedotov V.P. Real time biomonitoring of surface water toxicity level at water supply stations // J. Environ. Bioindicators. 2008. V. 3. № 1. P. 23–34.
37. Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Sharov A.N., Kurakin A.S., Lips U., Kolesova N., Lehtonen K.K. Applicability of a bioelectronic cardiac monitoring system for the detection of biological effects of pollution in bioindicator species in the Gulf of Finland // J. Marine Systems. 2017. V. 171. P. 151–158.
38. Kholodkevich S., Sharov A., Nikolić M., Joksimović A. Bioindication of Aquatic Ecosystems on the Base of the Assessment of Functional State of Freshwater Bivalve Mollusks Biomarkers // Proc. 2015 4rd Mediterranean Conf. Embedded Computing. Budva, Montenegro: MECO. IEEE conf. publ., 2015. P. 345–348. ISBN 978-9-9409-4364-6.
39. Kramer K.J.M., Foekema E.M. The “Musselmonitor®” as biological early warning system // Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2: a handbook / Eds Butterworth F.M., Gunatilaka A., Gonssebaert M.E., New York: Springer, 2001. P. 59–87.
40. Kuznetsova T., Kholodkevich S. Comparative Assessment of Surface Water Quality Through Evaluation of Physiological State of Bioindicator Species: Searching a New Biomarkers // Proc. 2015 4rd Mediterranean Conf. Embedded Computing. Budva, Montenegro: MECO. IEEE conf. publ., 2015. P. 339–344. ISBN 978-9-9409-4364-6.
41. Razali N.M., Wah Y.B. Power comparisons of Shapiro–Wilk, Kolmogorov–Smirnov, Lilliefors and Anderson–Darling tests // J. Stat. Model. Analyt. 2011. V. 2 (1). P. 21–33.
42. Siddal R., Robotham P.W.J., Gill R.A., Pavlov D.F., Chuiiko G.M. Relationship between polycyclic hydrocarbon (PAH) concentrations in bottom sediments and liver tissue of bream (*Abramis brama*) in Rybinsk reservoir, Russia // Chemosphere. 1994. V. 29. № 7. P. 1467–1476.
43. Turja R., Höher N., Snoeijjs P., Baršienė J., Butrimavičienė L., Kuznetsova T., Kholodkevich S.V., Devier M.-H., Budzinski H., Lehtonen K.K. A multibiomarker approach to the assessment of pollution impacts in two Baltic Sea coastal areas in Sweden using caged mussels (*Mytilus trossulus*) // Sci. Total Environ. 2014. V. 473, 474. P. 398–409.
44. Wells P.G., Depledge M.H., Butler J.N., Manock J.J., Knap A.H. Rapid toxicity assessment and biomonitoring of marine contaminants — exploiting the potential of rapid biomarker assays and microscale toxicity tests // Mar. Pollut. Bull. 2001. V. 42. № 10. P. 799–804.

## Assessment of the Quality of Freshwater Ecosystems Based on the Functional Condition of Bivalved Mollusks

S. V. Kholodkevich<sup>1,2</sup>, A. N. Sharov<sup>1,2,\*</sup>, G. M. Chuiko<sup>3</sup>,  
T. V. Kuznetsova<sup>2</sup>, M. V. Gapeeva<sup>3</sup>, R. A. Lozhkina<sup>3</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

<sup>2</sup> St. Petersburg Research Center for Environmental Safety, Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg 197110 Russia,

<sup>3</sup> Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,  
Borok Settl. Yaroslavl obl., 152742 Russia

\*e-mail: sharov\_an@mail.ru

Received: 03.09.2016 г.

Accepted: 29.06.2017 г.

An approach is proposed for ranking the quality of freshwater ecosystems by the state of bivalve mollusks living in them. Cardioactivity indicators and accumulation of metals in the tissues of the mollusks from various waters of the eastern part of the Gulf of Finland and the Rybinsk Reservoir were used to characterize the ecosystems, and an original hyperosmotic test was used to analyze the functional state of the mollusks.

**Keywords:** assessment of the status of aquatic ecosystems, heavy metals, biomarkers, cardioactivity, bivalve mollusks.

**DOI:** 10.31857/S0321-0596462214-224