

ISSN 0320-3557

Российская академия наук

Труды Института биологии
внутренних вод имени И.Д. Папанина
Российской академии наук
Выпуск 77 (80), 2017



<http://www.ibiw.ru>

Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**



ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД ИМЕНИ И.Д. ПАПАНИНА РАН



Труды ИБВВ РАН, вып. 77 (80), 2017

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

УДК 574.47
ББК 28.081
А-728

Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы / [отв. ред. И. И. Томила]. – Ярославль : Филигрань, 2017. – 149 с. – (РАН, Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина. Труды ; вып. 77 (80)).

А. И. Аминов, И. Л. Голованова, Е. И. Головкина, Л. П. Гребенюк, В. А. Гремячих, М. Е. Елизаров, Е. Н. Желеток, Е. А. Заботкина, Е. С. Иванова, А. М. Киркина, Т. Р. Клевлеева, Л. В. Козлова, В. Т. Комов, Д. Э. Кудряшова, Т. Б. Лапирова, Л. Н. Лапкина, Д. Г. Селезнев, Н. Ю. Степанова, И. И. Томила, Ю. Г. Удоденко, О. Ф. Филленко, Б. А. Флеров, И. В. Чалова, Г. М. Чуйко, Е. В. Щедрова

В выпуске представлены как обзоры, так и более частные работы по фундаментальным и прикладным проблемам водной токсикологии. Приведены сведения по истории становления и развития в нашей стране водной экотоксикологии. Рассмотрены видовые, организменные и клеточные особенности формирования мелано-макрофагальных центров у представителей костистых рыб. Проведен анализ исследований, посвященных проблеме влияния кадмия на основные показатели белкового и углеводного обмена рыб. Обобщены сведения о закономерностях распределения ртути в компонентах экосистемы в условиях минимальной хозяйственной деятельности человека. Внимание уделено и методическим подходам к токсикологической оценке донных отложений – важной современной проблеме охраны окружающей среды. Приведены данные о токсичности наноматериалов для гидробионтов различной систематической принадлежности и смеси загрязняющих веществ для ветвистоусых ракообразных. Показаны разнонаправленные изменения активности гликозидаз в кишечнике рыб при действии гербицида Раундап.

Издание предназначено для экологов, гидробиологов, экотоксикологов и широкого круга специалистов в области охраны окружающей среды, а также студентов биологических и экологических факультетов.

Ответственный редактор тома

к.б.н. **И. И. Томила**

Рецензенты:

Н. Н. Немова, д.б.н., проф., чл.-кор. РАН, ИБ КарНЦ,
Петрозаводск, Россия
В. А. Терехова, д.б.н., проф., МГУ, Москва, Россия

Г. Т. Фрумин, д.х.н., проф., РГГМУ, Санкт-Петербург, Россия
С. В. Холодкович, д.т.н., проф., НИЦ экологической безопасности
РАН, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия Трудов ИБВВ РАН:

С. А. Поддубный (гл. редактор), д.з.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. В. Крылов (зам. гл. редактора), д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. А. Бобров, к.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Б. К. Габриелян, д.б.н., проф., НАН РА НЦ ЗГЭ, Ереван, Армения
В. К. Голованов, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. Н. Дзубан, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Хай Доан Нё, д.ф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам
В. Т. Комов, д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия

В. И. Лазарева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Н. М. Минеева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Лам Нгуен Нгок, д.ф., проф., Институт океанографии, ВАНТ,
Нячанг, Вьетнам
А. А. Протасов, д.б.н., проф., ИГБ НАНУ, Киев, Украина
К. Робинсон, д.ф., EAWAG, Цюрих, Швейцария
В. П. Семенченко, д.б.н., чл.-кор. НАНБ, НПЦ НАН по биоресурсам
Минск, Беларусь

Печатается по решению Ученого совета ИБВВ РАН

Anthropogenic impact on aquatic organisms and ecosystems / [Editor-in-chief I. I. Tomilina]. – Yaroslavl : Filigran, 2017. – 149 p. Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, issue 77(80).

Aminov A. I., Chalova I. V., Chuiko G. M., Filenko O. F., Flerov B. A., Golovanova I. L., Golovkina E. I., Gremyachikh V. A., Ivanova E. S., Kirkina A. M., Klevleeva T. R., Komov V. T., Kozlova L. V., Kudryashova D. E., Lapirova T. B., Lapkina L. N., Schedrova E. V., Seleznev D. G., Shchedrova Ye. V., Stepanova N. Y., Tomilina I. I., Udodenko Yu. G., Yelizarov M. Ye., Zabolotkina E. A., Zheleto E. N.

Both reviews and more specific articles on fundamental and applied problems of aquatic toxicology are presented in this issue. The information on the history of formation and development of aquatic ecotoxicology is given. Species, organisms and cellular features of the formation of melano-macrophage centers (aggregates) of bony fishes representatives were examined. Research analysis of the cadmium impact on the basic parameters of protein and carbohydrate metabolism of fish was made. Data regarding the mechanisms of mercury distribution in ecosystem components with minimal human activities were summarized. The attention to the methodical approaches of toxicological assessment of bottom sediments, an important modern problem of environmental protection, was paid. The data on the toxicity of nanoparticles to aquatic organisms of various systematic affiliation and mixtures of contaminants for crustaceans were presented. Multidirectional changes in the glycosidase activity in the intestine of fishes exposed to herbicide Roundup were shown.

This manuscript is useful for ecologists, aquatic biologists, ecotoxicologists, and a wide range of experts in the field of environmental protection, as well as students of biological and ecological faculties.

Editor-in-chief of the volume

PhD. **I. I. Tomilina**

Reviewers:

N. N. Nemova, Dr. of biol., prof., corr. member RAS, IB KarRC RAS,
Petrozavodsk, Russia
V. A. Terehova, Dr. of biol., prof., MSU, Moscow, Russia

G. T. Frumin., Dr. of chem., prof., RSHU, St. Petersburg, Russia
S. V. Kholodkevich, Dr. of tech., prof., SRCES RAS, St. Petersburg, Russia

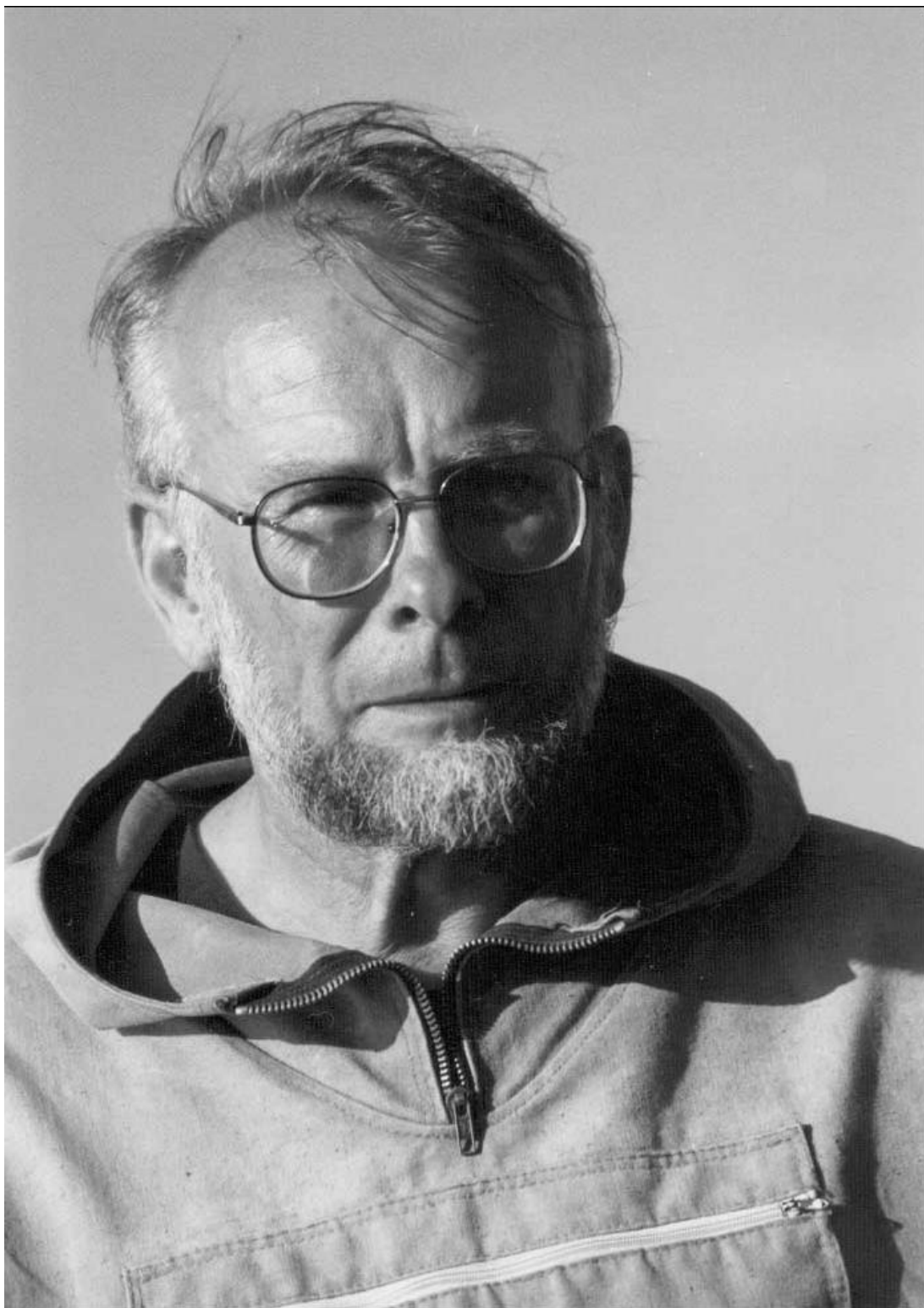
Editorial board of IBIW RAS Transactions:

S. A. Poddubny (editor), Dr. of geogr., IBIW RAS, Borok, Russia
A. V. Krylov (deputy editor), Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia
A. A. Bobrov, PhD., IBIW RAS, Borok, Russia
Hai Doan Nhu, PhD., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang,
Vietnam
A. N. Dzuban, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
B. K. Gabrielyan, Dr. of biol., prof., SC ZHE NAS RA, Yerevan, Armenia
V. K. Golovanov, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia

V. T. Komov, Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia
V. I. Lazareva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
N. M. Mineeva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
Lam Nguyen Ngoc, PhD., prof., Institute of Oceanography, VAST, Nha
Trang, Vietnam
A. A. Protasov, Dr. of biol., prof., IHB NASU, Kiev, Ukraine
C. Robinson, PhD., EAWAG, Zurich, Switzerland
V. P. Semenchenko, Dr. of biol., corr. member NASB, Minsk, Belarus

Published by the decision of IBIW RAS Academic council

© Институт биологии внутренних вод РАН, 2017



Сборник научных трудов посвящен 80-летию со дня рождения профессора, доктора биологических наук Бориса Александровича Флерова, одного из основоположников эколого-физиологического направления в отечественной водной токсикологии, основателя и первого заведующего лабораторией физиологии и токсикологии водных животных Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Г.М. Чуйко</i> ПРЕДИСЛОВИЕ	7–8
<i>И.Л. Голованова, А.И. Аминов</i> ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДА РАУНДАП НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП	9–19
<i>Е.А. Заботкина</i> ВЛИЯНИЕ ТОКСИКАНТОВ ОРГАНИЧЕСКОЙ И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА СТРУКТУРУ МЕЛАНО-МАКРОФАГАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ У КОСТИСТЫХ РЫБ (ОБЗОР)	20–33
<i>В.Т. Комов, В.А. Гремячих, Ю.Г. Удоденко, Е.В. Щедрова, М.Е. Елизаров</i> РТУТЬ В АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТАХ ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПОСЁЛКА ГОРОДСКОГО ТИПА НА БЕРЕГУ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	34–56
<i>В.Т. Комов, Е.С. Иванова, В.А. Гремячих, Л.Н. Лапкина, Л.В. Козлова, Е.Н. Желеток, А.М. Киркина, Д.Э. Кудряшова, Е.В. Щедрова, Д.Г. Селезнев</i> СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНИЗМЕ АМФИБИЙ И ПИЯВОК ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ И ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ВЫЗЫВАЕМЫХ ЕЮ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ	57–76
<i>Т.Б. Лапирова</i> РЕАКЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКОВОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА РЫБ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ (ОБЗОР)	77–91
<i>Н.Ю. Степанова</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСТРАКОД ДЛЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ	92–104
<i>И.И. Томилина, В.А. Гремячих, Л.П. Гребенюк, Е.И. Головкина, Т.Р. Клевлеева</i> ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ И МЕТАЛЛО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ	105–123
<i>О.Ф. Филенко, Г.М. Чуйко</i> ВОДНАЯ ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ В РОССИИ: ОТ ПРОШЛОГО К НАСТОЯЩЕМУ	124–142
<i>И.В. Чалова, Б.А. Флеров</i> ВЛИЯНИЕ ЖЕСТКОСТИ ВОДЫ НА ХРОНИЧЕСКУЮ ТОКСИЧНОСТЬ СМЕСИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ <i>SE-RIODAPHNIA AFFINIS</i> LILLJEBORG (CRUSTACEA, CLADOCERA)	143–148

CONTENTS

<i>G.M. Chuiko</i> INTRODUCTION	7–8
<i>I.L. Golovanova, A.I. Aminov</i> THE EFFECT OF ROUNDUP HERBICIDE ON THE INTESTINAL GLYCOSIDASE ACTIVITY IN FISH OF DIFFERENT ECOLOGICAL GROUPS	9–19
<i>E.A. Zaboltnina</i> THE INFLUENCE OF ORGANIC AND INORGANIC TOXICANTS ON THE MELANO-MACROPHAGE CENTER STRUCTURE OF TELEOSTEI (REVIEW)	20–33
<i>V.T. Komov, V.A. Gremyachikh, Yu.G. Udodenko, Ye.V. Shchedrova, M.Ye. Yelizarov</i> MERCURY IN ABIOTIC AND BIOTIC COMPONENTS OF AQUATIC AND TERRESTRIAL ECOSYSTEMS IN THE URBAN SETTLEMENT ON THE SHORE OF THE RYBINSK RESERVOIR	34–56
<i>V.T. Komov, E.S. Ivanova, V.A. Gremyachikh, L.N. Lapkina, L.V. Kozlova, E.N. Zheletok, A.M. Kirikina, D.E. Kudryashova, E.V. Schedrova, D.G. Seleznev</i> THE MERCURY CONTENT IN THE ORGANISM OF AMPHIBIANS AND LEECHES FROM WATERBODIES OF VOLOGDA AND YAROSLAVL OBLASTS AND EXPERIMENTAL VERIFICATION OF ITS BIOLOGICAL CONSEQUENCES	57–76
<i>T.B. Lapirova</i> REACTION OF FISH PROTEIN AND CARBOHYDRATE METABOLISM PARAMETERS ON THE CADMIUM IMPACT (REVIEW)	77–91
<i>N.Y. Stepanova</i> APPLICATION OF OSTRACODS IN TOXICITY ASSESSMENT OF SEDIMENTS	92–104
<i>I.I. Tomilina, V.A. Gremyachikh, L.P. Grebenyuk, E.I. Golovkina, T.R. Klevleeva</i> TOXICOLOGICAL STUDY OF METAL AND METAL OXIDE NANOPARTICLES	105–123
<i>O.F. Filenko, G.M. Chuiko</i> AQUATIC ECOTOXICOLOGY IN RUSSIA: FROM PAST TO PRESENT	124–142
<i>I.V. Chalova, [B.A. Flerov]</i> THE EFFECT OF WATER HARDNESS ON CHRONIC TOXICITY OF THE POLLUTANT MIXTURE FOR <i>CERIODAPHNIA AFFINIS</i> LILLIJEBOG (CRUSTACEA, CLADOCERA)	143–148

ПРЕДИСЛОВИЕ

Свой научный путь Борис Александрович Флеров начал, будучи студентом биолого-почвенного факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, в котором он успешно обучался с 1954 по 1959 гг. Еще в период учебы в университете он проявил активный интерес к научно-исследовательской работе и яркие способности. Его становление как ученого проходило под влиянием работ школы выдающегося физиолога И.П. Павлова. Борис Александрович занимался изучением формирования условных и безусловных рефлексов животных на кафедре высшей нервной деятельности университета. После окончания университета он продолжил научную деятельность младшим научным сотрудником в фармакологической лаборатории Института экспериментальной биологии и медицины СО АН СССР (г. Новосибирск). Его первые научные работы опубликованы в 1960–62 гг. и посвящены изучению механизмов рефлекторной регуляции патологических состояний организма.

В 1961 г. Борис Александрович перешёл на работу в лабораторию физиологии пресноводных животных Института биологии водохранилищ АН СССР (п. Борок, Ярославская обл.), преобразованного впоследствии в Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН. С этого момента вся его научная деятельность и жизнь связаны с институтом. Имея глубокие знания в области физиологии и фармакологии, обладая широкой научной эрудицией и навыками экспериментатора, Борис Александрович со свойственной ему энергией и энтузиазмом активно занялся изучением физиологических механизмов влияния промышленных загрязняющих веществ на гидробионтов. В 1966 г. по результатам исследований им защищена кандидатская диссертация “Экспериментальное исследование фенольного отравления рыб”. Разработки Бориса Александровича положили начало нового для ИБВВ и отечественной науки направления, “водной токсикологии”, успешно развиваемого до настоящего времени его многочисленными учениками. Он был последовательным сторонником работ С.Н. Скадовского и Н.С. Строганова, творчески развивая их идеи применительно к водной токсикологии.

В 1974 г. Борис Александрович возглавил вновь образованную лабораторию физиологии и паразитологии пресноводных живот-

ных, впоследствии преобразованную в лабораторию физиологии и токсикологии водных животных. Здесь ярко раскрылся высокий научно-организационный потенциал Бориса Александровича. Широта научных взглядов, демократичность, открытость характера и простота в общении с людьми, доброжелательность, забота о подчиненных, тонкое чувство юмора и, вместе с тем, высокая принципиальность и требовательность к себе и к окружающим – вот те черты, которые притягивали к нему людей. За короткое время им был создан работоспособный коллектив высококвалифицированных специалистов по вопросам физиологии, иммунологии, гистологии, паразитологии, токсикологии, способный решать разнообразные научные задачи. Непосредственно Борисом Александровичем и под его руководством были разработаны основы эколого-физиологического направления в водной токсикологии. Установлены закономерности и механизмы действия приоритетных загрязняющих веществ на водные организмы, развито представление об общих и специфических чертах патологии гидробионтов при действии токсических веществ различной химической природы, сформулировано положение о генотипической адаптации, как основе приспособления водных животных к загрязняющим веществам, разработаны научные основы биотестирования. Основные положения этих работ были обобщены им в докторской диссертации и монографии “Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных”, а также 168 научных публикациях, хорошо известных широким кругам отечественных и зарубежных специалистов по водной токсикологии.

Будучи незаурядным исследователем и обладая талантом руководителя, Борис Александрович всячески способствовал научному росту сотрудников и много сил отдавал молодежи. К нему тянулись не только молодые специалисты, но и зрелые научные сотрудники. Он никому не отказывал в помощи, поддержке и советах. В экспериментальном или полевом материалах Борис Александрович быстро находил рациональное зерно, видел результат и его достоинство. Он увлекал сотрудников научными идеями и планами и заботился об их реализации, доведении результатов исследований до логического заверше-

ния – защите кандидатских или докторских диссертаций. В руководимой им лаборатории были выполнены, подготовлены к защите и успешно защищены 11 кандидатских и 9 докторских диссертаций. Три сотрудника лаборатории, защитившие докторские диссертации, организовали и возглавили новые лаборатории, которые успешно работают и в настоящее время.

Борис Александрович уделял большое внимание научно-педагогической деятельности. В лаборатории физиологии и токсикологии прошли научную практику и стажировку около сотни студентов и научных сотрудников из различных высших учебных и научных заведений. Он подготовил и успешно читал курс лекций “Биологические последствия загрязнения” в Ярославском государственном университете и Университете природы, человека и общества (г. Дубна).

Борис Александрович пользовался заслуженным уважением среди сотрудников ИБВВ, отечественных и зарубежных коллег. Он был членом комиссии по водной токсикологии при Совете по проблемам гидробиологии, ихтиологии и использованию биологических ресурсов, Комиссии по поведению водных беспозвоночных, входил в состав редколлегии академического журнала “Биология внутренних вод”. Под его редакцией опубликовано 7 сборников научных трудов. Он постоянно избирался в Ученый Совет Института. В период с 1994 по 2003 гг. Борис Александрович возглавлял специализированный Совет ИБВВ РАН по защите кандидатских диссертаций. С 1974 г. он активный участник и один из организаторов программы международного научного сотрудничества в рамках межправительственного советско-американского, а впоследствии российско-американского, соглашения в области охраны окружающей среды. С 1990 г. и до последних дней Борис Александрович руководил одним из проектов сотрудничества “Влияние загрязняющих веществ на водные организмы и экосистемы. Разработка критериев качества воды”. Его большая заслуга в том, что сотрудничество успешно развивалось в течение 30 лет и продолжается до сих пор его учениками.

В 2002 г. по инициативе Бориса Александровича на базе ИБВВ возобновились регулярные конференции по вопросам водной токсикологии. К сожалению, первая конференция оказалась и последней, в организации и работе которой он участвовал. Во время подготовки

второй конференции в 2005 г. он ушел из жизни. Однако, в память о Борисе Александровиче коллектив лаборатории продолжил проведение конференций, и в 2017 г. пройдет очередная, VI международная конференция по водной экотоксикологии, посвященная вопросам антропогенного влияния на водные организмы и экосистемы. В настоящий сборник трудов включены работы коллег и учеников Бориса Александровича, продолжающих развивать его идеи. Сборник рассчитан на специалистов в области физиологии и биохимии водных животных, водной экотоксикологии, гидробиологии и экологии.

*Г. М. Чуйко, доктор биологических наук,
зав. лабораторией физиологии и токсикологии
водных животных ИБВВ РАН*

УДК 577.15:597+574.64

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДА РАУНДАП НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП

И. Л. Голованова, А. И. Аминов

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

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: golovanova5353@mail.ru

Впервые показаны разнонаправленные изменения активности гликозидаз в кишечнике половозрелых рыб при *in vitro* действии гербицида Раундап в концентрациях 0.1–50 мкг/л, встречающихся в компонентах водной среды. Гликозидазы рыб-бентофагов, особенно плотвы и язя, более чувствительны к действию Раундапа по сравнению с планктофагами и ихтиофагами. Раундап, как правило, оказывает больший эффект на гликозидазы в слизистой оболочке кишечника, чем в химусе взрослых рыб.

Ключевые слова: рыбы, пищеварительные гликозидазы, гербициды, Раундап.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время загрязнение окружающей среды является одной из наиболее важных экологических проблем. Возросшие масштабы использования пестицидов в сельском, лесном и рыбном хозяйстве приводят к трансформации водных экосистем, негативно влияют на состояние водных животных [Vera et al., 2012] и представляют угрозу здоровью человека [Gasiner et al., 2009]. Глифосат (N-(phosphonomethyl) glycine) является одним из самых популярных препаратов, применяемых для борьбы с сорной растительностью. На его основе создано много гербицидов, выпускаемых под разными названиями: Accord, Escoba, Herbolex, Roundup, Глифос, Граунд, Смерш, Торнадо, Ураган, Факел и др. Они производятся более чем в 100 странах мира и различаются по количественному содержанию действующего и вспомогательных веществ. В качестве активного ингредиента наиболее часто используют изопропиламиную соль глифосата, в качестве поверхностно-активного вещества – полиоксиэтиленамин (РОЕА). Кроме того в их состав могут входить различные минорные компоненты – красители, биоциды и неорганические ионы для создания необходимого pH. В составе некоторых гербицидов активным ингредиентом может быть аммониевая соль глифосата (Roundup Max), а некоторые гербициды, в частности Rodeo и Roundup Quick, не содержат РОЕА [Sihtmae et al., 2013]. За период с 1974 по 2014 гг. мировое использование глифосата возросло почти в 15 раз и составило 8.6 млрд кг [Benbrook, 2016], чему способствовало появление в 1996 г. генномодифицированных глифосат устойчивых культур (пшеницы, кукурузы, сои и др.). В 2014 г. фермеры применяли ~ 1.0 кг глифосата на каждый гек-

тар окультуренных пахотных земель в США и почти 0.53 кг на гектар всех пахотных земель во всем мире [Benbrook, 2016].

Раундап является одним из самых широко применяемых гербицидов для уничтожения сорной растительности на промышленных землях и посевах сельскохозяйственных культур. Кроме того, его используют для борьбы с зарастанием водохранилищ, прудов, каналов и коллекторно-дренажных систем. Для борьбы с сорной растительностью на открытых оросительных и сбросных каналах рекомендуют внесение Раундапа в дозе 8 л/га при слабой и 10 л/га при сильной степени засоренности [Брежнев, 2004 (Brezhnev, 2004)]. Интенсивное использование обусловлено высокой эффективностью его действия, хорошей биоразлагаемостью в окружающей среде (период полураспада глифосата в воде – 7–14 дней, в донных отложениях водоемов – до 120 дней), а также культивированием растений, генетически устойчивых к этому гербициду [Giesy et al., 2000]. Концентрация глифосата в поверхностных водах обычно не превышает 10–15 мкг/л, а в районах непосредственного применения может достигать 700 мкг/л [Struger et al., 2008]. Глифосат хорошо растворим в воде (11.6 г/л при температуре 25°C) и благодаря высокой способности абсорбироваться на взвешенных частицах может разноситься по течению на большие расстояния, оседая в донных отложениях, где долго сохраняет свою активность [Eberbach, 1998; Aparisio et al., 2013]. В его деградации активное участие принимает микробиота [Sviridov et al., 2015], однако связывание глифосата металлами (Cu, Zn, Cd, Pb) или органическим углеродом в донных отложениях водоемов может снижать его биодоступность.

Раундап ингибирует рост растений, блокируя работу ферментов шикиматного пути, что препятствует синтезу 3 аминокислот: фенилаланина, тирозина и триптофана [Williams et al., 2000]. Указанные аминокислоты животные получают с пищей и эта ферментная система у них отсутствует. Согласно аннотации производителей и данным World Health Organization острая токсичность Раундапа и глифосата для животных крайне низка [WHO, 1994], что показано в ряде работ на млекопитающих [Williams et al., 2000] и водных животных [Giesy et al., 2000; Tsui, Chu, 2008; Kier, Kircland, 2013]. Однако в последние годы появились данные, свидетельствующие о нарушении различных функций и у нецелевых организмов: бактерий, микроводорослей, беспозвоночных, низших и высших позвоночных [Giesy et al., 2000; Languano, Martinez, 2008; Cattaneo et al., 2011]. Водные животные могут быть более чувствительны к Раундапу, чем млекопитающие [Grisolia, 2002]. При этом установлено, что РОЕА часто бывает более токсичным, чем активный ингредиент или сам Раундап [Fan et al., 2013].

У рыб, являющихся хорошим биоиндикатором загрязнения водной среды, Раундап нарушает процессы развития [Webster et al., 2014], изменяет поведение [Tierney et al., 2007; Filizadeh et al., 2011]) и физиолого-биохимический статус организма [Жиденко, Бибчук, 2009 (Zhidenko, Bibchuk, 2009); Голованова, Аминов, 2013 (Golovanova, Aminov, 2013); Тарлева и др., 2014 (Tarleva et al., 2014); Jiraungkoorskul et al., 2002; Languano, Martinez, 2008; Fan et al., 2013], оказывает мутагенный и генотоксический эффекты [Filho et al., 2013].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – половозрелые особи десяти видов рыб шести семейств: Clupeidae – тюлька *Clupeonella cultriventris* (Nord.); Cyprinidae – густера *Blicca bjoerkna* (L.), лещ *Abramis brama* (L.), плотва *Rutilus rutilus* (L.), язь *Leuciscus idus* (L.); Lotidae – налим *Lota lota* (L.); Percidae – речной окунь *Perca fluviatilis* L., обыкновенный судак *Sander lucioperca* (L.); Esocidae – щука *Esox lucius* L.; Siluridae – обыкновенный сом *Silurus glanis* L. Рыбы: 50 экз. тюльки (масса 3.30 ± 0.15 г), по 8 экз. окуня (250 ± 17), плотвы (295 ± 35), леща (1480 ± 66), язя (443 ± 123) и налима (847 ± 131), по 7 экз. густеры (224 ± 45), судака (1400 ± 78) и щуки (910 ± 25) и 4 экз. сома (16275 ± 1907) отловлены ставными сетями или тралом в пе-

Установлено, что значения 96 ч LC_{50} Раундапа варьируют от 2 до 55 мг/л в зависимости от вида рыб, стадии жизненного цикла и условий эксперимента [Giesy et al., 2000; Gholami-Seyedkolaei et al., 2013]. Основной механизм токсичности Раундапа и глифосата связывают с генерацией окислительного стресса [Webster, Santos, 2015]. Другой механизм заключается в ингибировании ацетилхолинэстеразы (АХЭ), играющей важную роль в синаптической передаче нервного импульса [Fan et al., 2013], что может приводить к нарушению поведения и ориентации рыб в пространстве [Gluszczak et al., 2006].

Известно, что эффективность питания рыб и продуктивность водоемов в значительной мере зависят от состояния ферментных систем пищеварительного тракта, способности рыб переваривать и усваивать различные компоненты корма. Поступая в организм с водой и пищей, Раундап может оказывать прямое и опосредованное влияние на активность пищеварительных ферментов. Углеводы, играющие важную роль в пластическом и энергетическом обмене организма, являются необходимым компонентом пищи рыб. Однако действие Раундапа на активность гликозидаз, осуществляющих гидролиз углеводов, ранее было изучено лишь на примере молоди рыб [Голованова, Аминов, 2013 (Golovanova, Aminov, 2013)] и объектов их питания [Aminov et al., 2013].

В связи с этим, цель работы состояла в изучении *in vitro* действия гербицида Раундап на активность гликозидаз в слизистой оболочке и химусе кишечника взрослых рыб в широком диапазоне концентраций (0.1–50 мкг/л), встречающихся в компонентах внешней среды.

риод активного питания (летом или осенью, налим зимой) в Рыбинском водохранилище ($58^{\circ}30'$ с.ш., $38^{\circ}30'$ в.д.) и в его притоках.

После отлова рыб в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию, где проводили полный биологический анализ (иногда рыб предварительно замораживали и хранили при температуре -18°C не более недели). Данные виды рыб являются наиболее распространенными в водоемах Ярославской области. Они различаются образом жизни и характером питания: щука, судак, сом – типичные ихтиофаги; налим и окунь – ихтиофаги-факультативные бентофаги; лещ, плотва, язь, густера – типичные бентофаги; тюлька – планктофаг-факультативный ихтиофаг.

Поскольку переваривание углеводов у рыб происходит главным образом в кишечнике [Голованова и др., 2007 (Golovanova et al., 2007); Chakrabarty et al., 1995] активность гликозидаз изучали именно в этом отделе пищеварительного тракта. Для этого рыб обездвигивали, изымали кишечника, помещали их на стекло ледяной бани и очищали от жира и прилегающих тканей. Слизистую оболочку и химус медиального отдела кишечника гомогенизировали отдельно с добавлением охлажденного до 2–4°C раствора Рингера для холоднокровных животных (110 ммоль NaCl, 1.9 ммоль KCl, 1.3 ммоль CaCl₂, pH 7.4) в соотношении 1:9. Затем исходный гомогенат дополнительно разбавляли раствором Рингера в 2–10 раз. Для приготовления гомогенатов у тюльки использовали суммарные пробы от 10 особей и считали их за одну повторность. Растворы субстратов (растворимый крахмал в концентрации 18 г/л, мальтоза и сахароза в концентрации 50 ммоль/л) готовили на таком же растворе Рингера.

Гомогенаты предварительно выдерживали в присутствии Раундапа в концентрации 0.1; 1; 10; 25 и 50 мкг/л (по глифосату) в течение 1 ч при температуре 20°C и pH 7.4. Затем добавляли субстрат и инкубировали в течение 20–60 мин при непрерывном перемешивании. Для приготовления растворов токсиканта использовали коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название “Раундап” (произведен и расфасован ЗАО фирма “Август” (Россия) по лицензии фирмы “Монсанто Европа С. А.” (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-ный водный раствор глифосата, возможные инертные ингредиенты в аннотации не указаны. Выбор концентраций Рундапа обусловлен установленными значениями ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов

(1 мкг/л) [Перечень ..., 1999 (Perechen'..., 1999)] и значениями средних полулетальных концентраций (ЛК₅₀) Раундапа для рыб – от 2 до 55 мг/л [Giesy et al., 2000; Gholami-Seyedkolaei et al., 2013]. Концентрации 0.1–10 мкг/л соответствуют содержанию глифосата в природных водах, 25 и 50 мкг/л – в воде и донных отложениях в районах непосредственного применения гербицида [Struger et al., 2008; Aparicio et al., 2013].

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) и активность сахаразы КФ 3.2.1.48 оценивали по приросту гексоз методом Нельсона [Nelson, 1944] в модификации Уголева, Иезуитовой [Уголев, Иезуитова, 1969 (Ugolev, Iezuitova, 1969)]. Активность мальтазы определяли глюкозо-оксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии “Фотоглюкоза” (ООО “Импакт”, Россия). Активность ферментов определяли в трех–пяти биохимических повторностях и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/г·мин). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin & Elmer, США) при длине волны 670 нм (амилолитическая активность, сахаразы) и 505 нм (мальтаза).

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$). В случае нормального распределения при сравнении результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA, Dunnet-тест) и критерий Фишера (F). Если распределение отличалось от нормального (типичные и факультативные хищники), использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Различия показателей считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольший уровень амилолитической активности отмечен в слизистой оболочке у бентофагов – плотвы, язя и леща, более низкий у планктофага – тюльки, минимальный у факультативных и типичных ихтиофагов – окуня, налима, щуки, сома и судака (табл. 1).

Раундап оказывает разнонаправленные эффекты на амилолитическую активность: понижает у тюльки и язя на 8–12 %, в большей степени у плотвы – на 30–56% от контроля и

повышает у леща и налима при некоторых концентрациях. У окуня, щуки, судака и сома достоверные эффекты отсутствуют. Активность сахаразы у тюльки не изменяется, у плотвы снижается на 17–36% от контроля во всем диапазоне концентраций Раундапа, у щуки статистически значимое снижение на 42–47% выявлено на фоне крайне низкого уровня ферментативной активности. Активность мальтазы снижается у плотвы на 11–24%, у

Таблица 1. Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в слизистой оболочке кишечника взрослых рыб ($n = 4-8$) в присутствии Раундапа *in vitro* (различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$, *** – $p \leq 0.001$)

Table 1. The activity of glycosidase ($\mu\text{mol/g}\cdot\text{min}$) in the intestinal mucosa of adult fish ($n = 4-8$) under Roundup *in vitro* (differences of parameters are statistically significant in comparison with control at: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$, *** – $p \leq 0.001$)

Вид рыб Fish species	Концентрация Раундапа, мкг/л Concentrations of Roundup, $\mu\text{g/l}$					
	0 (контроль) control	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность Amylolytic activity						
Тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i> (Nord.)	5.97 \pm 0.06	5.77 \pm 0.12	5.73 \pm 0.04	5.47 \pm 0.11*	5.50 \pm 0.15*	5.47 \pm 0.21
Лещ <i>Abramis brama</i> (L.)	8.96 \pm 0.29	9.71 \pm 0.16	9.60 \pm 0.12	9.44 \pm 0.18	10.51 \pm 0.11**	10.29 \pm 0.16*
Язь <i>Leuciscus idus</i> (L.)	11.10 \pm 0.18	10.20 \pm 0.17*	9.77 \pm 0.13*	10.20 \pm 0.17*	9.97 \pm 0.12**	11.10 \pm 0.18
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	14.90 \pm 1.25	12.30 \pm 0.56	9.37 \pm 1.27*	10.50 \pm 0.84*	6.51 \pm 0.98***	9.14 \pm 0.60*
Налим <i>Lota lota</i> (L.)	0.81 \pm 0.01	1.09 \pm 0.02*	0.89 \pm 0.01	1.27 \pm 0.02***	0.89 \pm 0.01	0.86 \pm 0.02
Окунь <i>Perca fluviatilis</i> L.	0.92 \pm 0.10	0.86 \pm 0.02	0.94 \pm 0.04	1.02 \pm 0.02	0.90 \pm 0.02	0.78 \pm 0.04
Щука <i>Esox lucius</i> L.	0.43 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01	0.46 \pm 0.01	0.45 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01
Судак <i>Sander lucioperca</i> (L.)	0.28 \pm 0.04	0.36 \pm 0.06	0.32 \pm 0.04	0.32 \pm 0.02	0.34 \pm 0.02	0.24 \pm 0.02
Сом <i>Silurus glanis</i> L.	0.59 \pm 0.03	0.60 \pm 0.01	0.58 \pm 0.02	0.57 \pm 0.02	0.56 \pm 0.02	0.58 \pm 0.01
Активность сахаразы Sucrase activity						
Тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i> (Nord.)	1.43 \pm 0.03	1.59 \pm 0.05	1.44 \pm 0.05	1.51 \pm 0.05	1.45 \pm 0.05	1.52 \pm 0.03
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	4.08 \pm 0.10	3.40 \pm 0.06**	2.60 \pm 0.03***	2.80 \pm 0.08***	2.61 \pm 0.05***	2.64 \pm 0.05***
Щука <i>Esox lucius</i> L.	0.55 \pm 0.02	0.39 \pm 0.03	0.43 \pm 0.04	0.36 \pm 0.04	0.32 \pm 0.02*	0.29 \pm 0.02**
Активность мальтазы Maltase activity						
Густера <i>Blicca bjoerkna</i> (L.),	1.61 \pm 0.04	1.34 \pm 0.09*	1.70 \pm 0.07	1.12 \pm 0.03***	1.58 \pm 0.04 ^a	1.55 \pm 0.08
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	11.20 \pm 0.30	10.20 \pm 0.34	10.30 \pm 0.12	8.50 \pm 0.53**	9.87 \pm 0.16*	10.0 \pm 0.27*
Язь <i>Leuciscus idus</i> (L.)	7.02 \pm 0.30	4.26 \pm 0.14***	6.20 \pm 0.15	3.59 \pm 0.19***	4.02 \pm 0.18***	4.64 \pm 0.11**
Лещ <i>Abramis brama</i> (L.)	1.68 \pm 0.20	2.04 \pm 0.28	1.47 \pm 0.17	1.92 \pm 0.10	2.28 \pm 0.13*	2.25 \pm 0.13*
Сом <i>Silurus glanis</i> L.	2.16 \pm 0.02	2.12 \pm 0.01	2.18 \pm 0.03	1.41 \pm 0.15	2.19 \pm 0.05	2.26 \pm 0.01

Таблица 2. Активность гликозидаз (мкмоль/г·мин) в химусе кишечника взрослых рыб ($n = 4-8$ экз.) в присутствии Раундапа *in vitro* (различия показателей статистически значимы по сравнению с контролем при: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$, *** – $p \leq 0.001$)

Table 2. The activity of glycosidase ($\mu\text{mol/g}\cdot\text{min}$) in the intestinal chyme of adult fish ($n = 4-8$) under Roundup *in vitro* (differences of parameters are statistically significant in comparison with enzyme activity at 0 $\mu\text{g/l}$ Roundup at: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$, *** – $p \leq 0.001$)

Вид рыб Fish species	Концентрация Раундапа, мкг/л Concentrations of Roundup, $\mu\text{g/l}$					
	0 (контроль) control	0.1	1	10	25	50
Амилолитическая активность Amylolytic activity						
Тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i> (Nord.)	9.04 \pm 0.10	9.20 \pm 0.28	8.96 \pm 0.10	8.96 \pm 0.10	9.04 \pm 0.10	9.28 \pm 0.08
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	5.49 \pm 0.56	3.43 \pm 0.36*	4.11 \pm 0.58	2.86 \pm 0.31*	3.09 \pm 0.43*	3.31 \pm 0.52*
Язь <i>Leuciscus idus</i> (L.)	24.70 \pm 0.44	22.30 \pm 0.57*	20.40 \pm 0.59***	21.60 \pm 0.39**	25.30 \pm 0.42	18.00 \pm 0.69***
Лещ <i>Abramis brama</i> (L.)	21.80 \pm 0.26	23.30 \pm 0.40*	23.90 \pm 0.26***	22.80 \pm 0.26	23.90 \pm 0.26***	24.80 \pm 0.40***
Налим <i>Lota lota</i> (L.)	1.25 \pm 0.01	1.11 \pm 0.02	1.08 \pm 0.01*	1.15 \pm 0.04	1.14 \pm 0.03	1.08 \pm 0.05
Окунь <i>Perca fluviatilis</i> L.	1.03 \pm 0.03	1.09 \pm 0.03	1.29 \pm 0.03**	1.24 \pm 0.03*	1.17 \pm 0.02	1.11 \pm 0.01
Щука <i>Esox lucius</i> L.	1.15 \pm 0.01	1.19 \pm 0.02	1.19 \pm 0.02	1.23 \pm 0.02	1.16 \pm 0.03	1.23 \pm 0.02
Судак <i>Sander lucioperca</i> (L.)	0.29 \pm 0.02	0.27 \pm 0.01	0.27 \pm 0.01	0.25 \pm 0.01	0.21 \pm 0.01	0.17 \pm 0.01**
Сом <i>Silurus glanis</i> L.	1.69 \pm 0.04	1.59 \pm 0.01	1.68 \pm 0.04	1.68 \pm 0.02	1.71 \pm 0.03	1.61 \pm 0.03
Активность сахаразы Sucrase activity						
Тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i> (Nord.)	2.36 \pm 0.05	2.45 \pm 0.06	2.44 \pm 0.04	2.41 \pm 0.04	2.51 \pm 0.08	2.69 \pm 0.08*
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	0.91 \pm 0.05	1.36 \pm 0.04***	1.08 \pm 0.06	1.10 \pm 0.02**	0.98 \pm 0.05	1.03 \pm 0.04
Щука <i>Esox lucius</i> L.	0.64 \pm 0.07	0.27 \pm 0.02**	0.33 \pm 0.02	0.49 \pm 0.04	0.32 \pm 0.03	0.38 \pm 0.02
Активность мальтазы Maltase activity						
Тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i> (Nord.)	6.08 \pm 0.13	6.13 \pm 0.31	5.69 \pm 0.09	6.11 \pm 0.15	5.79 \pm 0.11	6.41 \pm 0.28
Густера <i>Blicca bjoerkna</i> (L.)	4.11 \pm 0.18	4.47 \pm 0.25	4.24 \pm 0.22	4.43 \pm 0.05	3.63 \pm 0.18	3.96 \pm 0.15
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	4.82 \pm 0.11	5.39 \pm 0.21	5.04 \pm 0.15	5.60 \pm 0.22*	5.19 \pm 0.25	5.47 \pm 0.03**
Язь <i>Leuciscus idus</i> (L.)	2.79 \pm 0.03	3.62 \pm 0.12**	2.38 \pm 0.08**	3.31 \pm 0.04***	2.65 \pm 0.13	3.12 \pm 0.04***
Лещ <i>Abramis brama</i> (L.)	4.31 \pm 0.19	4.47 \pm 0.13	4.85 \pm 0.16	4.59 \pm 0.09	4.44 \pm 0.09	5.23 \pm 0.13*
Сом <i>Silurus glanis</i> L.	0.94 \pm 0.03	0.96 \pm 0.02	0.90 \pm 0.05	1.08 \pm 0.02	1.13 \pm 0.04*	1.11 \pm 0.04

густеры на 17–30%, язя на 34–49% от контроля, но увеличивается у леща примерно на 35% при наибольших концентрациях Раундапа. Зависимость эффекта от концентрации гербицида у всех изученных видов рыб отсутствует.

В химусе в присутствии Раундапа выявлено снижение амилолитической активности на 38–48% у плотвы и на 10–27% у язя фактически во всем диапазоне концентраций, у налима на 14% и судака на 41% от контроля при отдельных концентрациях гербицида (табл. 2).

В тоже время Раундап повышает амилолитическую активность на 20–25% у окуня и на 7–14% у леща, но у тюльки, щуки и судака не меняет ее. Активность сахаразы снижается на 58% у щуки, но повышается у плотвы (на 21 и 49%) и тюльки (на 14% от контроля) лишь при некоторых концентрациях Раундапа. Активность мальтазы у плотвы, язя, сома и леща увеличивается при некоторых концентрациях Раундапа не более чем на 14–30% от контроля, у тюльки и густеры не изменяется.

У рыб разных экологических групп отмечена четкая зависимость уровня активности гликозидаз (α -амилазы, мальтазы, сахаразы) от типа и спектра питания. Минимальные значения ферментативной активности выявлены у типичных ихтиофагов (судак, щука), несколько большие у ихтиофагов-факультативных бентофагов (налим, окунь), значительно большие у планктофагов (тюлька, уклейка) и бентофагов с широким спектром питания (лещ, плотва, карп, ротан), максимальные – у рыб, в значительном количестве потребляющих макрофиты (карась, белый амур, белый толстолобик и пестрый толстолобик [Уголев, Кузьмина, 1993 (Ugolev, Kuz'mina, 1993); Волкова, 2010 (Volkova, 2010)]. Данные, полученные в нашей работе, подтверждают эту закономерность. При этом установлено, что гликозидазы, гидролизующие полисахарид крахмал в слизи оболочки кишечника типичных и факультативных хищников (щуки, сома, судака, налима и окуня) наименее, а рыб-бентофагов (плотвы и язя) – наиболее чувствительны к действию Раундапа в широком диапазоне исследованных концентраций. Это может быть обусловлено разной видовой чувствительностью рыб к данному гербициду. Кроме того, содержание углеводов в естественной пище рыб-бентофагов и активность гликозидаз в кишечнике выше, чем у рыб-планкто- и ихтиофагов. Вполне вероятно, что на фоне высокой ферментативной активности ярче проявляются эффекты Раунд-

апа. Это предположение хорошо согласуется с данными о снижении амилолитической активности в слизистой оболочке кишечника леща в присутствии ионов Cd *in vitro* лишь на фоне высокой функциональной активности пищеварительной системы летом, в то время как зимой в период прекращения экзогенного питания и низкой ферментативной активности эффект отсутствовал [Golovanova et al., 1999]. Интересно отметить, что у молоди тюльки, окуня и щуки амилолитическая активность примерно в два раза выше, и тормозящий эффект Раундапа более выражен [Голованова и др., 2011 (Golovanova et al., 2011)], чем у взрослых рыб. Направленность эффектов в присутствии Раундапа в слизистой оболочке кишечника и химусе рыб может быть одинаковой (торможение амилолитической активности у плотвы и язя), либо различной (амилолитическая активность в слизистой оболочке у налима возрастает, а в химусе снижается; напротив, активность мальтазы у плотвы в слизистой оболочке снижается, в химусе растет). Прежде всего, это связано с участием в гидролизе углеводов разных по происхождению ферментов. Если в слизистой оболочке рыб функционируют собственные ферменты консумента, то в химусе, помимо панкреатических ферментов консумента, – многочисленные ферменты всех органов и тканей жертвы и ферменты микробиоты. Кроме того, поскольку существует несколько изоформ α -амилазы, мальтазы и сахаразы, разные эффекты Раундапа могут быть обусловлены и молекулярной разнокачественностью гликозидаз, функционирующих в слизистой оболочке кишечника и химусе рыб.

Можно предположить, что снижение активности ферментов в присутствии Раундапа вызвано связыванием либо глифосата, либо РОЕА с активным центром фермента, но в этом случае сила эффекта должна напрямую зависеть от концентрации гербицида, чего не отмечено в наших экспериментах. Ранее концентрационно-зависимый тормозящий эффект Раундапа был выявлен в гомогенатах реальной жертвы (амилолитическая активность снижалась на 19–32%), что, по всей вероятности, связано с активизацией многочисленных лизосомальных гликозидаз жертвы в кислой среде желудка хищника [Aminov et al., 2013]. Активность мальтазы в тканях реальной жертвы снижалась на 10–41%, сахаразы – на 57–77% от контроля, но зависимости эффекта от кон-

центрации гербицида не обнаружено, что свидетельствует об отсутствии прямого влияния Раундапа на активный центр ферментов. Вполне вероятно, что компоненты Раундапа могут действовать на субстрат ферментативной реакции или процессы взаимодействия субстрата и фермента.

Концентрации Раундапа 0.1–50 мкг/л, использованные в нашей работе, могут реально встречаться в природных водах. Так, в водоемах с непрерывной вегетацией концентрация глифосата достигает 3.7 мг/л [Giesy et al., 2000], что соответствует 9 мг/л Раундапа. При этом самая низкая из исследованных нами концентраций в 10 раз меньше, а самая высокая – в 50 раз больше значений ПДК для воды объектов рыбохозяйственного назначения. Изменения активности пищеварительных гликозидаз в присутствии Раундапа у взрослых рыб не выявили четкого концентрационно-зависимого эффекта. Однако ранее было показано, что некоторые экологические факторы (повышение температуры воды, снижение pH, магнитная буря, хроническое действие ксенобиотиков, антропогенное загрязнение) могут усиливать чувствительность гликозидаз рыб к *in vitro* действию Раундапа [Голованова, Ами-

нов, 2013, 2016 (Golovanova, Aminov, 2013, 2016); Аминов, 2016 (Aminov, 2016)]. При этом сверхнизкие концентрации ($1 \cdot 10^{-13}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ мкг/л) и концентрации гербицида, отличающиеся на 2–17 порядков, могут вызывать равный по силе эффект [Голованова и др., 2016 (Golovanova et al., 2016)]. Несмотря на то, что Раундап в водной среде весьма нестабилен и его попадание в водоемы носит импульсный характер, токсическое действие на водные организмы может проявиться еще до его полного распада. Кроме того, растущий объем использования, аварийные разливы, смывы с полей или сброс неочищенных сточных вод увеличивают содержание гербицида в водоемах. Широкое применение глифосата в течение последних 40 лет и прогнозируемое увеличение его использования [Benbrook, 2016] делают необходимым изучение потенциальных экологических последствий использования глифосатсодержащих гербицидов. Поскольку действие природных и антропогенных факторов может усиливать эффекты Раундапа на пищеварительные ферменты, изучение физиолого-биохимических показателей важно для ранней диагностики состояния здоровья рыб в современных экологических условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В экспериментах *in vitro* впервые показаны разнонаправленные изменения активности гликозидаз (мальтаза, сахараза, амилалитическая активность) в кишечнике половозрелых рыб, различающихся по типу питания, в присутствии гербицида Раундап в концентрациях, встречающихся в компонентах водной среды. Гликозидазы рыб бентофагов, особенно плотвы и язя, проявляют большую чувствительность к действию Раундапа по сравнению

с ферментами типичных ихтиофагов. Раундап, как правило, оказывает больший эффект на гликозидазы в слизистой оболочке кишечника, чем в химусе взрослых рыб. Сила и направленность эффекта зависят от вида и типа питания рыб, структуры фермента и субстрата, а также концентрации гербицида. Полученные результаты важны для оценки физиолого-биохимического статуса рыб в условиях растущего загрязнения окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аминов А.И. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз рыб и объектов их питания // Перспективы и проблемы современной гидробиологии. Матер. Всерос. молодеж. гидробиол. конф. (пос. Борок, Ярославская область, 10–13 ноября 2016). Ярославль: Филигрань, 2016. С. 205–207.
- Брежнев В.И. Механизированный способ борьбы с сорной растительностью на открытых мелиоративных каналах гербицидом Раундап: Автореф. дис. ... канд. т. наук. Новочеркасск, 2004. 24 с.
- Волкова И.В. Особенности функционирования пищеварительной системы рыб разных трофических групп. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Астрахань, 2010. 44 с.
- Голованова И.Л., Аминов А.И. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз молоди рыб и их кормовых объектов при различных значениях температуры и pH // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2013. № 1. С. 129–134.
- 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.

- Голованова И.Л., Аминов А.И., Урванцева Г.А., Смирнов М.С. Влияние сверхнизких концентраций Раундапа на активность гликозидаз у молоди рыб // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2016. № 2. С. 100–107.
- Голованова И.Л., Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Активность пищеварительных карбогидраз тюльки *Clupeonella cultriventris* из различных частей ареала // Вопр. рыболовства. 2007. Т. 29. № 1. С. 110–119.
- Голованова И.Л., Филиппов А.А., Аминов А.И. Влияние гербицида Раундап *in vitro* на активность карбогидраз молоди рыб // Токсикол. вестник. 2011. № 5. С. 31–35.
- Жиденко А.А., Бибчук Е.В. Изменения биохимических показателей в печени карпа в условиях действия Раундапа // Совр. проблемы теорет. и практ. ихтиологии. Тез. II Межд. научно-практ. конф. 16–19 сент. 2009. Севастополь, 2009. С. 50–52.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов, предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: Из-во ВНИРО, 1999. 304 с.
- Тарлева А.Ф., Шептицкий В.А., Кузьмина В.В. Влияние гербицида Раундап на активность пептидаз химуса и слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов // Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного Причерноморья. Матер. V Межд. научно-практ. конф. 14 ноября 2014 г. Тирасполь, 2014. С. 254–255.
- Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.
- Уголев А.М., Кузьмина В.В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеиздат, 1993. 238 с.
- Aminov A.I., Golovanova I.L., Filippov A.A. Effect of the herbicide Roundup on the activity of glycosidase of invertebrates and juvenile fish // Inland Water Biology. 2013. V. 6. № 4. P. 335–340. DOI: 10.1134/S1995082913040032.
- Aparicio V.C., De Geronimo E., Marino D., Primost J., Carriquiriborde P., Costa J.L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins // Chemosphere. 2013. V. 93. № 9. P. 1866–1873. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.041.
- Benbrook C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // Environ. Sci. Eur. 2016. V. 28. № 3. P. 1–15. DOI: 10.1186/s12302-016-0070-0.
- Cattaneo R., Clasen B., Loro V.L., de Menezes C.C., Pretto A., Baldisserotto B., Santi A., de Aliva L.A. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2011. V. 87. № 6. P. 597–602. DOI: 10.1007/s00128-011-0396-7.
- Chakrabarty I., Ganu M.A., Chaki K.K., Sur R., Misra K.K. Digestive enzymes in 11 freshwater fish species in relation to food habit and niche segregation // Comp. Biochem. Physiol. 1995. V. 112A. № 2. P. 167–177. DOI: 10.1016/0300-9629(95)00072-F.
- Eberbach P. Applying Non-steady-state Compartmental Analysis to Investigate the Simultaneous Degradation of Soluble and Sorbed Glyphosate (N-(Phosphonomethyl)glycine) in Four Soils // Pesticide Science. 1998. V. 52. P. 229–240.
- Fan J.Y., Geng J.J., Ren H.Q., Wang X.R., Han C. Herbicide Roundup and its constituents cause oxidative stress and inhibit acetylcholinesterase in liver of *Carassius auratus* // J. Environ. Sci. Health. 2013. Part. B. V. 48. P. 844–850. DOI: 10.1080/03601234.2013.795841.
- Filho J.D.S., Sousa C.C.N., Da Silva C.C., De Saboia-Morais S.M.T., Grisolia C.K. Mutagenicity and Genotoxicity in Gill Erythrocyte Cells of *Poecilia reticulata* Exposed to a Glyphosate Formulation // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2013. V. 91. P. 583–587. DOI: 10.1007/s00128-013-1103-7.
- Filizadeh Y., Rajabi Islami H. Toxicity determination of three sturgeon species exposed to glyphosate // Iranian J. Fisheries Sci. 2011. V. 10. № 3. P. 383–392.
- Gasiner C., Dumont C., Benachour N., Clair E., Chagnon M.C., Seralini G.E. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines // Toxicology. 2009. V. 262. P. 184–191. DOI: 10.1016/j.tox.2009.06.006.
- Gholami-Seyedkolaei S.J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Kosari A.A. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity hematological responses and serum biochemical parameters // Ecotoxicol. Environm. Saf. 2013. V. 98. P. 135–141. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.09.011.
- Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2000. V. 167. P. 35–120.
- Gluszczak L., Miron D.S., Crestani M., da Fonseca M.B., Pedron F.A., Duarte M.F., Vieira V.L.P. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) // Ecotoxicol. Environm. Saf. 2006. V. 65. P. 237–241. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.07.017.
- Golovanova I.L., Kuz'mina V.V., Gobzhelien T.E., Pavlov D.F., Chuiko G.M. In vitro effects of cadmium and DDVP (Dichlorvos) on intestinal carbohydrase and protease activities in freshwater teleost // Comp. Biochem. Physiol. 1999. V. 122 C. № 1. P. 21–25. DOI: 10.1016/S0742-8413(98)10063-4.
- Grisolia C.K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides // Mutat. Res. 2002. V. 518. P. 145–150. DOI: 10.1016/s1383-5718(02)00086-4.
- Jiraungkoorskul W., Suchart Upatham E., Kruatrachue M., Sahaphong S., Vichasri-Grans S., Pokethitiyook P. Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Sci. Asia. 2002. V. 28. P. 121–127.
- Kier L.D., Kirkland D.J. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations // Crit. Rev. Toxicol. 2013. V. 43. № 4. P. 283–315. DOI: 10.3109/10408444.2013.770820.

- Langiano V.C., Martinez C.B.R. Toxicity and effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. and Pharmacol. 2008. V. 147. № 2. P. 222–231. DOI: 10.1016/j.cbpc.2007.09.009.
- Nelson N.J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // J. Biol. Chem. 1944. V. 153. P. 375–381.
- Sihtmae M., Blinova I., Kunis-Beres K., Kanarbik L., Heinlaan M., Kahru A. Ecotoxicological effects of different glyphosate formulation // Appl. Soil Ecol. 2013. V. 72. P. 215–224. DOI: 10.1016/j.apsoil.2013.07.005.
- Struger J., Thompson D., Staznik B., Martin P., McDaniel T., Marvin C. Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2008. V. 80. P. 378–384. DOI: 10.1007/s00128-008-9373-1.
- Sviridov A.V., Shushkova T.V., Ermakova I.T., Ivanova E.V., Epiktetov D.O., Leontievsky A.A. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review) // Appl. Biochem. Microbiol. 2015. V. 51. № 2. P. 188–195. DOI: 10.1134/S0003683815020209.
- Tierney K.B., Singh C.R., Ross P.S., Kennedy C.J. Relating olfactory neurotoxicity to altered olfactory-mediated behaviors in rainbow trout exposed to three currently-used pesticides // Aquat. Toxicol. 2007. V. 81. P. 55–64. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.11.006.
- Tsui M.T.K., Chu L.M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a sub-tropical wetland // Chemosphere. 2008. V. 71. P. 439–446. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.10.059.
- Vera M.S., Fiori E.D., Lagomarsino L., Sinistro R., Escaray R., Iummato M.M., Juarez A., de Molina M.C.R., Tell G., Pizarro H. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities // Ecotoxicology. 2012. V. 21. № 7. P. 1805–1816. DOI: 10.1007/s10646-012-0915-2.
- Webster T.M.U., Laing L.V., Florance H., Santos E.M. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup, on reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*) // Environ Sci Technol. 2014. V. 48. P. 1271–1279. DOI: 10.1021/es404258h.
- 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 Genomic. 2015. V. 16. № 32. P. 1–14. DOI: 10.1186/s12864-015-1254-5.
- Williams G.M., Kroes R., Munro I. C. Safety evaluation and risk assessment of herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans // Reg. Toxicol. Pharmacol. 2000. V. 31. P. 117–165. DOI: 10.1006/rtp.1999.1371.
- WHO International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 159: Glyphosate. Geneva: WHO. 1994. 113 p.

REFERENCES

- Aminov A.I. 2016. Vliyanie gerbicide Raundap na aktivnost' glikozidaz ryb i ob'ektov ih pitaniya [Effect of Roundup herbicide on the activity of fish's glycosidases and their food objects] // Perspektivy i problemy sovremennoj gidrobiologii Mater. Vseros. molodezh. gidrobiol. konf. (pos. Borok, Jaroslavskaja oblast', 10–13 nojabrja 2016). Jaroslavl': Filigran. S. 205–207. [In Russian]
- Aminov A.I., Golovanova I.L., Filippov A.A. 2013. Effect of the herbicide Roundup on the activity of glycosidase of invertebrates and juvenile fish // Inland Water Biology. V. 6. № 4. P. 335–340. DOI: 10.1134/S1995082913040032.
- Aparicio V.C., De Geronimo E., Marino D., Primost J., Carriquiriborde P., Costa J.L. 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins // Chemosphere. V. 93. № 9. P. 1866–1873. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.041.
- Benbrook C.M. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally // Environ. Sci. Eur. V. 28. № 3. P. 1–15. DOI: 10.1186/s12302-016-0070-0.
- Brezhnev V.I. 2004. Mehanizirovannyj sposob bor'by s sornoj rastitel'nost'ju na otkrytyh meliorativnyh kanalah gerbicide Raundap [Mechanized method of controlling weeds in the open drainage canals using the herbicide Roundup]: avtoref. dis. k.t.n. Novocherkassk. 24 s. [In Russian]
- Cattaneo R., Clasen B., Loro V.L., de Menezes C.C., Pretto A., Baldisserotto B., Santi A., de Aliva L.A. 2011. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate // Bull. Environ. Contam. Toxicol. V. 87. № 6. P. 597–602. DOI: 10.1007/s00128-011-0396-7.
- Chakrabarty I., Ganu M.A., Chaki K.K., Sur R., Misra K.K. 1995. Digestive enzymes in 11 freshwater fish species in relation to food habit and niche segregation // Comp. Biochem. Physiol. V. 112A. № 2. P. 167–177. DOI: 10.1016/0300-9629(95)00072-F.
- Eberbach P. 1998. Applying Non-steady-state Compartmental Analysis to Investigate the Simultaneous Degradation of Soluble and Sorbed Glyphosate (N-(Phosphonomethyl)glycine) in Four Soils // Pesticide Science. V. 52. P. 229–240.
- Fan J.Y., Geng J.J., Ren H.Q., Wang X.R., Han C. 2013. Herbicide Roundup and its constituents cause oxidative stress and inhibit acetylcholinesterase in liver of *Carassius auratus* // J. Environ. Sci. Health. Part. B. V. 48. P. 844–850. DOI: 10.1080/03601234.2013.795841.
- Filho J.D.S., Sousa C.C.N., Da Silva C.C., De Saboia-Morais S.M.T., Grisolia C.K. 2013. Mutagenicity and Genotoxicity in Gill Erythrocyte Cells of *Poecilia reticulata* Exposed to a Glyphosate Formulation // Bull. Environ. Contam. Toxicol. V. 91. P. 583–587. DOI: 10.1007/s00128-013-1103-7

- Filizadeh Y., Rajabi Islami H. 2011. Toxicity determination of three sturgeon species exposed to glyphosate // *Iranian J. Fisheries Sci.* V. 10. № 3. P. 383–392.
- Gasiner C., Dumont C., Benachour N., Clair E., Chagnon M.C., Seralini G.E. 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines // *Toxicology*. V. 262. P. 184–191. DOI: 10.1016/j.tox.2009.06.006.
- Gholami-Seyedkolaei S.J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Kosari A.A. 2013. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity hematological responses and serum biochemical parameters // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 98. P. 135–141. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.09.011
- Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* V. 167. P. 35–120.
- Gluszcak L., Miron D.S., Crestani M., da Fonseca M.B., Pedron F.A., Duarte M.F., Vieira V.L.P. 2006. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*) // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 65. P. 237–241. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.07.017.
- Golovanova I.L., Aminov A.I. 2013. Vliyanie gerbicide Raundap na aktivnost' glikozidaz molodi ryb i ih kormovykh ob'ektov pri razlichnykh znachenijah temperatury i pH [Influence of the herbicide Roundup on the activity of glycosidase in young fish and their prey at different temperatures and pH] // *Vestnik AGTU. Serija: Rybnoe hozjajstvo*. № 1. S. 129–134. [In Russian]
- Golovanova I.L., Aminov A.I. 2016. Vliyanie nekotorykh jekologicheskikh faktorov na chuvstvitel'nost' glikozidaz ryb k *in vitro* dejstvu gerbicide Raundap [Influence of some ecological factors on the sensitivity of fish glycosidase to herbicide Roundup *in vitro*] // *Trudy Kar NC RAN. Serija: Jekologicheskie issledovanija*. № 12. S. 96–105. [In Russian]
- Golovanova I.L., Aminov A.I., Urvanceva G.A., Smirnov M.S. 2016. Vliyanie sverhnizkikh koncentracij Raundapa na aktivnost' glikozidaz u molodi ryb [Effect of ultralow concentrations of Roundup on the activity of glycosidase in juvenile fish] // *Vestnik AGTU. Serija: Rybnoe hozjajstvo*. № 2. S. 100–107. [In Russian]
- Golovanova I.L., Filippov A.A., Aminov A.I. 2011. Vliyanie gerbicide Raundap *in vitro* na aktivnost' karbogidraz molodi ryb [Influence of herbicide Roundup *in vitro* on the activity of carbohydrases in fish young] // *Toksikol. Vestnik [Toxicology Review]*. № 5. S. 31–35. [In Russian]
- Golovanova I.L., Karabanov D.P., Slyn'ko Ju.V. 2007. Aktivnost' pishhevaritel'nykh karbogidraz tjul'ki *Clupeonella cultriventris* iz razlichnykh chastej areala [The activity of digestive carbohydrases of sprat *Clupeonella cultriventris* from different parts of the area] // *Vopr. rybolovstva*. T. 29. № 1. S. 110–119. [In Russian]
- Golovanova I.L., Kuz'mina V.V., Gobzhelien T.E., Pavlov D.F., Chuiko G.M. 1999. *In vitro* effects of cadmium and DDVP (Dichlorvos) on intestinal carbohydrase and protease activities in freshwater teleost // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 122 C. № 1. P. 21–25. DOI: 10.1016/S0742-8413(98)10063-4.
- Grisolia C.K. 2002. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides // *Mutat. Res.* V. 518. P. 145–150. DOI: 10.1016/S1383-5718(02)00086-4.
- Jiraunkoorskul W., Suchart Upatham E., Kruatrachue M., Sahaphong S., Vichasri-Grans S., Pokethitiyook P. 2002. Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // *Sci. Asia*. V. 28. P. 121–127.
- Kier L.D., Kirkland D.J. 2013. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations // *Crit. Rev. Toxicol.* V. 43. № 4. P. 283–315. DOI: 0.3109/10408444.2013.770820.
- Langiano V.C., Martinez C.B.R. 2008. Toxicity and effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* // *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. and Pharmacol.* V. 147. № 2. P. 222–231. DOI: 10.1016/j.cbpc.2007.09.009.
- Nelson N.J. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // *J. Biol. Chem.* V. 153. P. 375–381.
- Perechen' rybohozjajstvennykh normativov, predel'no dopustimyh koncentracij (PDK) i orientirovochno bezopasnykh urovnej vozdejstviya (OBUV) vrednykh veshchestv dlya vody vodnykh ob'ektov, imeyushchih rybohozjajstvennoe znachenie. 1999. [The list of fishery regulations: maximum permissible concentration (MPC) and the estimated safe exposure levels (ESEL) of pollutants to water bodies of fishery significance]. M.: Izd. VNIRO. 304 s. [In Russian]
- Sihtmae M., Blinova I., Kunis-Beres K., Kanarbik L., Heinlaan M., Kahru A. 2013. Ecotoxicological effects of different glyphosate formulation // *Appl. Soil Ecol.* V. 72. P. 215–224. DOI: 10.1016/j.apsoil.2013.07.005.
- Struger J., Thompson D., Staznik B., Martin P., McDaniel T., Marvin C. 2008. Occurrence of Glyphosate in Surface Waters of Southern Ontario // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 80. P. 378–384. DOI: 10.1007/s00128-008-9373-1.
- Sviridov A.V., Shushkova T.V., Ermakova I.T., Ivanova E.V., Epiktetov D.O., Leontievsky A.A. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review) // *Appl. Biochem. Microbiol.* V. 51. № 2. P. 188–195. DOI: 10.1134/S0003683815020209.
- Tarleva A.F., Sheptickij V.A., Kuz'mina V.V. 2014. Vliyanie gerbicide Raundap na aktivnost' peptidaz himusa i slizistoj obolochki kishechnika u ryb raznykh vidov [Effect of Roundup herbicide on the proteolytic activity of chyme and intestinal mucosa in different fish species] // *Geojekologicheskie i biojekologicheskie problemy severnogo Prichernomor'ja. Materialy V Mezhdunar. nauchno-praktich/ konf/14 nojabrja 2014. Tiraspol*. S. 254–255. [In Russian]
- Tierney K.B., Singh C.R., Ross P.S., Kennedy C.J. 2007. Relating olfactory neurotoxicity to altered olfactory-mediated behaviors in rainbow trout exposed to three currently-used pesticides // *Aquat. Toxicol.* V. 81. P. 55–64. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.11.006.

- Tsui M.T.K., Chu L.M. 2008. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup) in a subtropical wetland // *Chemosphere*. V. 71. P. 439–446. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.10.059.
- Ugolev A.M., Iezuitova N.N. 1969. Opredelenie aktivnosti invertazy i drugih disaharidaz [Determination of activity of invertase and other disaccharidases] // *Issledovanie pishhevaritel'nogo apparata u cheloveka*. L.: Nauka. S. 192–196. [In Russian]
- Ugolev A.M., Kuz'mina V.V. 1993. Pishhevaritel'nye processy i adaptacii u ryb [Digestive processes and adaptation in fish]. SPb.: Gidrometeoizdat. 238 s. [In Russian]
- Vera M.S., Fiori E.D., Lagomarsino L., Sinistro R., Escaray R., Iummato M.M., Juarez A., de Molina M.C.R., Tell G., Pizarro H. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities // *Ecotoxicology*. V. 21. No. 7. P. 1805–1816. DOI: 10.1007/s10646-012-0915-2.
- Volkova I.V. 2010. Osobennosti funkcionirovaniya pishhevaritel'noj sistemy ryb raznyh troficheskikh grupp [Features of the functioning of the digestive system of fish of different trophic groups]. Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. Astrahan'. 44 s. [In Russian]
- Webster T.M.U., Laing L.V., Florance H., Santos E.M. 2014. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup, on reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*) // *Environ Sci Technol*. V. 48. P. 1271–1279. DOI: 10.1021/es404258h.
- Webster T.M.U., Santos E.M. 2015. Global transcriptomic profiling demonstrates induction of oxidative stress and of compensatory cellular stress responses in brown trout exposed to glyphosate and Roundup // *BMC Genomic*. V. 16. No. 32. P. 1–14. DOI: 10.1186/s12864-015-1254-5.
- Williams G.M., Kroes R., Munro I. C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans // *Reg. Toxicol. Pharmacol*. V. 31. P. 117–165. DOI: 10.1006/rtp.1999.1371.
- WHO International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 159: Glyphosate. 1994. Geneva: WHO. 113 p.
- Zhidenko A.A., Bibchuk E.V. 2009. Izmeneniya biohimicheskikh pokazatelej v pecheni karpa v usloviyah dejstviya Raundapa [Changes in biochemical parameters of carp liver under the action of Roundup] // *Sovr. problemy teoret. i prakt. ihtiologii. Tez. II Mezhd. nauchno-prakt. konf.* 16–19 sent., 2009. Sevastopol'. S. 50–52. [In Russian]

THE EFFECT OF ROUNDUP HERBICIDE ON THE INTESTINAL GLYCOSIDASE ACTIVITY IN FISH OF DIFFERENT ECOLOGICAL GROUPS

I. L. Golovanova, A. I. Aminov

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: golovanova5353@mail.ru*

Glyphosate based herbicides, including Roundup, are widely employed in agriculture and urban spaces. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* influence of Roundup herbicide at environment realistic concentrations 0.1–50 µg/l on the activity of the intestinal glycosidase (maltase, sucrase, amylolytic activity) in mature fish of different ecological groups. The glycosidase activity was determined in the homogenates of the intestinal mucosa and chyme. The amylolytic activity, reflecting the sum activity of enzymes that hydrolyze starch (α -amylase, glucoamylase and maltase) was determined by the modified Nelson's method. Maltase activity was determined with the help of the set for Clinical Biochemistry "Fotoglyukoza". It was found that the glycosidase of benthophages, especially roach and ide, more sensitive to Roundup compared with planktophages or ichthyophages. Roundup usually had a greater effect on the glycosidase activity in the intestinal mucosa than in the chyme. Roundup along with inhibitory can also have a stimulating effect on the activity of glycosidases. The strength and direction of Roundup effect depends on the fish species and the type of feeding, the enzyme and substrate structure, as well as the concentration of the herbicide. The results of this study are important for assessing the physiological and biochemical status of fish in the face of growing environmental pollution.

Keywords: adult fish, digestive glycosidase, herbicide, Roundup

УДК 574.64:597:612.8

ВЛИЯНИЕ ТОКСИКАНТОВ ОРГАНИЧЕСКОЙ И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА СТРУКТУРУ МЕЛАНО-МАКРОФАГАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ У КОСТИСТЫХ РЫБ (ОБЗОР)

Е. А. Заботкина

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: zabel@ibiw.yaroslavl.ru

В обзоре рассмотрены видовые, организменные и клеточные особенности формирования мелано-макрофагальных центров у представителей костистых рыб. Показаны особенности влияния различных токсикантов (тяжелых металлов, пестицидов, сточных вод) на количество, размеры и структуру мелано-макрофагальных центров.

Ключевые слова: костистые рыбы, мелано-макрофагальные центры, онтогенез, токсиканты, факторы среды.

Мелано-макрофагальные центры (ММЦ), или скопления (агрегаты) макрофагов (macrophage aggregates) – группы пигментсодержащих клеток у пойкилотермных позвоночных, в том числе рыб [Agius, Roberts, 2003]. У костистых рыб в норме ММЦ наблюдаются в строме гемопоэтической ткани в почках (головном и туловищном отделах) и селезенке [Secombes et al., 1991; Наапаранта et al., 1996; Reddy, 2012; Van Dyk

et al., 2012; Ali et al., 2014] (рисунок), в ткани печени [Наапаранта et al., 1996; Abdel-Moneim et al., 2012; Reddy, 2012; Van Dyk et al., 2012]. Отмечено присутствие ММЦ в гонадах, жабрах и мозге рыб [Ravaglia, Maggese, 1995; Van Dyk et al., 2009; Feist et al., 2015]. У высших костистых рыб в ММЦ наряду с макрофагами присутствуют лимфоциты, поэтому ряд авторов считает эти образования эволюционными предшественни-

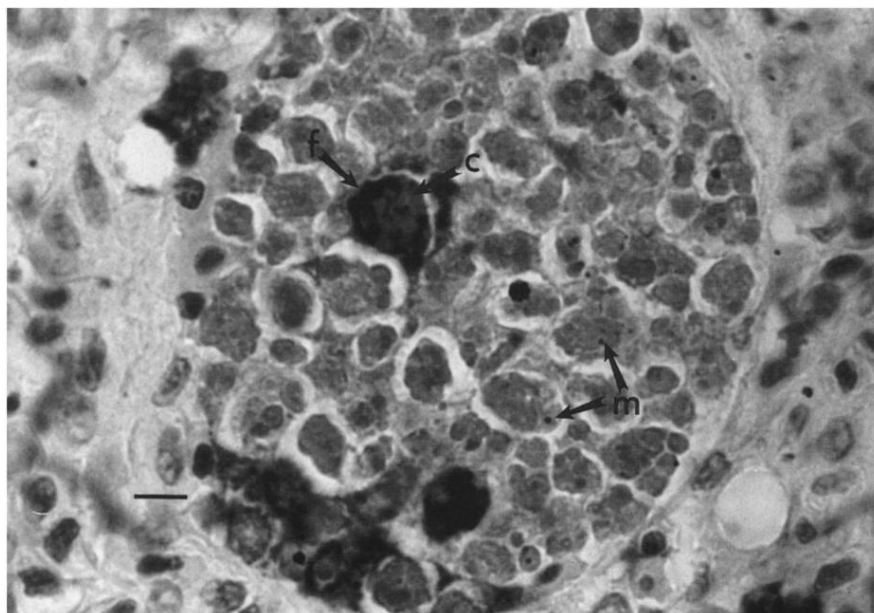


Рис. Мелано-макрофагальный центр в селезенке *Micropterus salmoides* (приведено по статье Wolke, 1992). Окраска по методу Перла. $\times 700$. Шкала на рисунке равна 10 мкм. Стрелки на снимке обозначают пигментные включения: с – цероид, f – гемосидерин, m – меланин.

Fig. Spleen, *Micropterus salmoides*. High magnification of MA showing various pigments within macrophages. Ceroid (c), hemosiderin (f), melanin (m). Perl's method for iron. $\times 700$. Scale bar = 10 μm (Figure was given by Wolke [Wolke, 1992]).

ками [Agius, Roberts, 2003; Vigliano et al., 2006; Saunders et al., 2010] или аналогами [Passantino et al., 2005] герминативных (зародышевых) центров или лимфатических узлов [Agius, 1979] у высших позвоночных. Впервые описание этих структур и термин «меланомакрофагальные центры» встречаются в работах Эллис [Ellis, 1974] и Робертса [Roberts, 1975]. Ультраструктурные исследования впервые были выполнены Фергусоном [Ferguson, 1976].

В большинстве случаев ММЦ описывают как ограниченные аргирофильной капсулой скопления пигментсодержащих клеток (макрофагов), как правило, расположенных вокруг кровеносных сосудов и синусоидов почек, селезенки или печени [Herraez, Zapata, 1991; Wolke, 1992; Meseguer et al., 1994; Passantino et al., 2005]. Вместе с тем, анализ литературных данных показывает, что наличие оболочки вокруг ММЦ не является обязательным условием [Leknes, 2007]. Более того, ряд авторов связывает ее присутствие со стадией зрелости ММЦ [Manera et al., 2000; Agius, Roberts 2003; Passantino et al., 2005].

Структурной единицей ММЦ является макрофаг, который может присутствовать в органе не только в составе ММЦ, но и в виде единичных свободно лежащих клеток – фагоцитирующих мононуклеаров. Структура этих клеток достаточно подробно исследована у большого количества видов рыб [Agius, Roberts, 2003]: большие размеры клетки, эксцентрично расположенное ядро с небольшим количеством гетерохроматина по периферии ядра и хорошо различимым ядрышком. Цитоплазма клетки содержит цистерны шероховатого эндоплазматического ретикула, некрупные митохондрии, свободные рибосомы и большое количество гетерогенных включений, гранул и фагосом. Меланин содержится в округлых гранулах, которые выглядят светло-коричневыми или черными под световым микроскопом, либо электронно-плотными черными – под электронным. Этот пигмент синтезируется из тирозина реакцией полимеризации [Riley, 1980] специализированными клетками (меланобластами или меланоцитами), а при их разрушении поглощается и накапливается макрофагами в лизосомах или непосредственно в цитоплазме [Wolke, 1992]. Точная роль меланина в ММЦ не ясна, но предполагают, что он может быть использован в местах воспаления для поглощения свободных радикалов, образующихся при окислении липидов или оксидативном стрессе [Agius, 1985; Ellis, 1981].

Гемосидерин содержится в лизосомах или свободно в цитоплазме. Окрашивается положительно Пруссским синим. Макрофаги накапливают этот пигмент при деструкции эритроцитов [Wolke, 1992]. В нормальных условиях гемосидерин присутствует только в макрофагах селезенки, и, редко, – в почках и печени [Agius, 1979]. При голодании его содержание в макрофагах увеличивается [Migale, Perdichizzi, 1990; Rios et al., 2007]. После спленэктомии его концентрация возрастает в ММЦ почек, но не печени [Agius, 1979]. Липофусцин и цероид относят к липофильным желто-коричневым пигментам, образующимся при окислении ненасыщенных жиров. Липофусцин может присутствовать во многих «старых» клетках, тогда как цероид – только в макрофагах. Оба пигмента присутствуют в лизосомах [Wolke, 1992], окрашиваются негативно по Перлу, положительно – суданом черным, PAS-реакцией и обладают автофлуоресценцией [Agius, Agbede, 1984]. Гистохимическое окрашивание показывает наличие в цитоплазме и фагосомах щелочной и кислой фосфатаз, пероксидазы [Wolke et al., 1985].

Функции макрофагов разнообразны и включают удаление отживших и разрушенных клеток собственного организма, участие в неспецифическом и специфическом (представление антигена) иммунном ответе, продукцию цитокинов и других эндогенных соединений, участвующих в регуляции иммунного ответа [Галактионов, 2005 (Galaktionov, 2005); Tort et al., 2003]. Доказано участие ММЦ в формировании ответа на паразитарные и бактериальные инфекции, такие как *Myxobolus sp.* [Roberts, 2001], *Caloptospora sp.* [Wolke, 1992], *Vibrio sp.* [Kranz, 1989]. В ответ на развитие инфекции отмечают увеличение количества и размеров ММЦ, а также появление их в местах развития воспалительной реакции [Wolke, 1992]. При появлении ММЦ в результате воспалительной реакции на инфекции различной природы структурно они плохо идентифицировались от гранулем [Vogelbein et al., 1987]. Доказано, что, помимо пигментов, ММЦ способны накапливать и возвращать обратно в обменные процессы, либо изолировать на длительное время искусственно введенные (углерод, полистирол, антигены) или содержащиеся в среде обитания, пище и т.д. (металлы, биологические агенты) вещества и субстанции [Lamers, De Haas, 1985; Herraez, Zapata, 1986; Di Giulio et al., 1989]. ММЦ играют важную роль в обмене железа в организме, так как яв-

ляются основным местом утилизации «старых» и разрушающихся эритроцитов, и содержат повышенное его количество в виде ферритина и гемосидерина [Agius, 1979; Migale, Perdichizzi, 1990].

Развитие ММЦ имеет ярко выраженную видовую специфику. Показано, что ММЦ хорошо развиты вокруг кровеносных синусов и сосудов в почках и селезенке карповых и лососевых рыб [Haaparanta et al., 1996; Agius, Roberts, 2003; Ribeiro et al., 2011], но не обнаружены в селезенке паку *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), относящегося к харациновым [Manrique et al., 2014]. Степень развития ММЦ в норме у различных видов рыб описывается по-разному. Указывается на хорошее развитие ММЦ у рыб отр. лососеобразные, сельдеобразные, карпообразные, в меньшей степени – у окунеобразных [Wolke, 1992]. Установлена зависимость количества, размеров ММЦ и содержания в них пигментов от вида [Ellis et al., 1976], органа [Agius, 1979], возраста [Brown, George, 1985; Blazer et al., 1987], степени зрелости гонад [Jordanova et al., 2012], типа питания [Agius, Roberts, 1981; Montero et al., 1999; Manera et al., 2000; Rios et al., 2007], условий среды обитания рыб [Krüger et al., 1996; Fishelson, 2006; Thorsen et al., 2006; Passantino et al., 2014] и сезона [Balamurugan et al., 2012]. Более темные пигменты в большем количестве присутствуют у низших костистых по сравнению с высшими костистыми [Roberts, 1975], или у холодолюбивых или у содержащихся при низких температурах рыб, по сравнению с тепловодными [Wolke et al., 1985].

При голодании сарги *Diplodus annularis* L. в течение 17 недель отмечено увеличение количества ММЦ в селезенке, окрашивающихся положительно на меланин и липофусцин, но не гемосидерин [Migale, Perdichizzi, 1990]. При этом размеры центров не отличались у питавшихся и голодавших рыб. У азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus* после голодания в течение 12 недель отмечено 4-х кратное увеличение площади ММЦ в почках по сравнению с контрольной группой рыб [Hur et al., 2006]. Подобный эффект наблюдали и в почках голодающей в течение 2-х недель покатной молоди симы *Oncorhynchus masou* [Mizuno et al., 2002].

На количество ММЦ в значительной степени влияют плотность посадки рыб в водоеме при искусственном выращивании и качество подаваемых кормов. Так, у морского окуня *Dicentrarchus labrax* L., выращиваемого в фер-

мерском хозяйстве и получающего искусственные корма, обнаружены значительные скопления ММЦ в почках и селезенке по сравнению с рыбами, выловленными в Тарском заливе Адриатического моря [Kurtović et al., 2008].

Формирование ММЦ у костистых рыб в онтогенетическом аспекте исследовано слабо. Известно, что меланин-продуцирующие клетки у костистых рыб образуются из неврального лепестка эктодермы [Agius, 1981]. Долгое время считалось, что первые очаги кроветворения у эмбриона локализуются между сомитами и боковыми лепестками или в кровяных островках желточного мешка. Позднее было показано, что в этих участках закладывается только эритропоэтическая ткань. Установлено, что у обыкновенной скалярии *Pterophyllum scalare* на стадии эмбриона присутствуют только стволовые клетки и первичные эритроциты [Al-Adhami, Kunz, 1976]. Лейкоциты и тромбоциты появляются только у личинок после рассасывания желточного мешка. У атлантического лосося *Salmo salar* L. островки гемопоэтической ткани обнаружены в первичной почке за 23 дня до выклева [Ellis, 1977]. Мелано-макрофаги впервые выявляются в селезенке и почках личинок радужной форели *Salmo gairdneri* через 8 недель после оплодотворения (через 2 недели после перехода на самостоятельное питание), в печени до 20-й недели после выклева мелано-макрофагов очень мало [Agius, 1981]. У карпа *Cyprinus carpio* макрофаги обнаруживаются уже через двое суток после оплодотворения икры в головной почке и спинном участке эпителия желточного мешка. Через неделю макрофаги мигрируют в тимус и кишечник, а через две – в селезенку [Romano et al., 1998]. С возрастом количество клеток в органах увеличивается, наибольшая скорость прироста наблюдается в первый год жизни. Образование макрофагов в почке и селезенке тюрбо *Scophthalmus maximus* L. происходит с наибольшей скоростью в течение первых двух лет жизни, затем этот процесс замедляется. Количество макрофагов в печени незначительно. У тиляпии *Tilapia zillii* ММЦ (диаметром до 40–160 мкм²) обнаружены в почке через одну неделю после выклева, в селезенке – через три недели. В печени их количество оставалось очень незначительным и через 20 недель после выклева (менее 5 клеток/мм²). В почках и селезенке количество макрофагов возрастало линейно до возраста рыб 4+. Автор предполагает, что скорость появления мелано-макрофагов и ММЦ в органах

может быть связана с темпами развития эмбрионов и длительностью периода рассасывания желточного мешка у данных видов рыб. С возрастом количество ММЦ в лимфоидных органах увеличивается, также как и содержание в них липофусцина и цероида [Brown, George, 1985]. Вместе с тем ряд авторов сообщает о видовой специфике зависимости коли-

чества и размеров ММЦ от возраста (размера) рыб. Так, у голубой гурами *Trichogaster trichopterus* отмечена прямая зависимость между количеством и размерами ММЦ и размером рыб, тогда как у скалярии *Pterophyllum scalare* подобного эффекта не наблюдали [Russo, Yanong, 2007].

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ММЦ

Ртуть относят к одним из самых опасных поллютантов окружающей среды, так как она способна накапливаться в пищевых цепях и длительное время сохраняться в тканях рыб [Schwindt et al., 2008]. Эффективность накопления ртути зависит от формы ее присутствия – в виде неорганических ионов или метилртути. Метилирование ртути зависит от таких абиотических факторов как содержание органического углерода, сульфатов, pH среды и многих других [Haines et al., 1995; Stepanova, Komov, 1996; Benoit et al., 2003]. Увеличение количества и размеров ММЦ в селезенке и почках рыб отр. лососеобразных связано с повышенными концентрациями ртути и метилртути в воде озер национальных парков Севера и Арктической зоны Америки [Schwindt et al., 2008]. В экспериментальных условиях выявлена корреляционная зависимость между концентрацией металла в воде и параметрами ММЦ в селезенке рыб [Meinelt et al., 1997]. Подобные утверждения верны для рыб не старше 4–6 лет. Вместе с тем, авторы отмечают, что с возрастом подобная корреляция утрачивается, и у рыб старше 35 лет количество ММЦ в селезенке относительно низкое даже при высоких концентрациях ртути в воде. Вероятно, аккумуляция ртути происходит, в том числе и в ММЦ, что подтверждается обнаружением в них скоплений металлопротеинов [Pulsford et al., 1992]. Питание трахиры *Hoplias malabaricus* в течение 70 сут рыбой, загрязненной метилртутью (0.075 мкг/г по иону ртути), привело за 4 месяца к увеличению содержания металла в печени и почках в 142 и 21 раз, соответственно, инфильтрации печени лимфоцитами, возрастанию количества ММЦ, появлению очагов некроза и повреждению пространств Диссе. В головной почке были выявлены большие области некроза, отмечено увеличение количества и площадей ММЦ, межклеточных пространств между паренхиматозными клетками и числа атипичных клеток. Характер повреждений указывает на сильное

токсическое действие метилртути на гепатоциты, выражающееся в снижении защитных механизмов для иммобилизации и выведения поглощенного токсиканта. Авторы считают, что чувствительность рыб к метилртути намного выше, чем считалось ранее [Mela et al., 2007]. Анализ накопления металла в организме показал, что в наибольшем количестве он накапливается в почках, в меньшей степени – в печени, мышцах, мозге и гонадах. В почках и печени повышенные уровни ртути (до 1 мкг/г массы тела) сочетаются с инфильтрацией макрофагами и лейкоцитами окколососудистых пространств [Adams et al., 2010].

Ацетат свинца в концентрации 0.002% через 6 мес экспозиции вызывал появление обширных ММЦ в селезенке, туловищной почке и печени у карликового сомика *Ictalurus nebulosus*, при выявленных гемолизе и анемии, вызванных активным разрушением эритроцитов и подавлением эритропоэза [Wolke, 1992]. Дихромат калия (0.5–2 мг/л) вызывал уменьшение средних размеров, но почти трехкратное увеличение количества ММЦ в селезенке морской камбалы *Pleuronectes platessa*, при неизменной средней занимаемой ММЦ площади ткани [Kranz, Gerken, 1987].

Кадмий относится к одному из наиболее распространенных и опасных токсикантов для иммунной системы рыб. Установлено, что ионы кадмия оказывают супрессивное действие на реакции как неспецифического, так и специфического иммунитета [Заботкина, Лапирова, 2003 (Zabotkina, Lapirova, 2003); Лапирова и др., 2009 (Lapirova et al., 2009); Zabotkina et al., 2009]. Описано значительное увеличение (от 1.5 до 5 раз) количества и размеров ММЦ в почках, селезенке и печени мозамбикской тиляпии *Oreochromis mossambicus* после экспозиции половозрелых рыб обоих полов в течение 120 час в растворе хлорида кадмия с концентрацией 21 мг/л (0.1 ЛК₅₀) [Suresh, 2009]. В ММЦ всех исследованных органов содержались меланин и гемосидерин, тогда как липофусцин был обнаружен только у

рыб контрольной группы. Подобный эффект – 2–5 кратное возрастание количества и размеров ММЦ в почках и печени отмечен и у карпа *Cyprinus carpio* L. после экспозиции рыб в течение 1 мес при 7 мг/л (0.2 ЛК₅₀) хлорида кадмия [Reddy, 2012]. В то же время сообщалось о снижении фагоцитарной активности макрофагов и уменьшении количества ММЦ при высоких концентрациях токсиканта [Weeks, Warinner, 1984]. Увеличение количества и размеров ММЦ при действии токсикантов считают результатом вовлечения их в процессы де-

токсикации и утилизации поврежденных клеток [Wolke, 1992].

У сига *Coregonus clupeaformis*, в течение 100 сут питавшегося кормом, содержащим 100 мкг/г солей урана (в пересчете на ион), наряду с большим количеством дегенеративных изменений тканей печени и почек, обнаружена пролиферация ММЦ в туловищной почке [Cooley et al., 2000]. Показано, что ММЦ накапливают в гранулах меланина большой спектр металлов (Ti, Cr, Sn, Ag, Ba, Ce, Pb, Sb, Au, U) в виде силикатов или фосфатов [Pulsford et al., 1992].

ВЛИЯНИЕ ТОКСИКАНТОВ ОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА ММЦ

После экспозиция канального сомика *Fundulus heteroclitus* в концентрации 1000 мг/л смеси сырой нефти и нефтяной вытяжки Corexit 9527 в течение 6 час и последующим 59-сут выдерживанием рыб в чистой морской воде выявлено значительное увеличение количества ММЦ в печени уже на 5-е сут, почках – на 5–30-е сут. Скопления были золотисто-коричневого цвета и не содержали гемосидерина [Mulligan, 1985]. Увеличение количества и размеров ММЦ отмечено в селезенке у миссисипского панцирника *Atractosteus patula*, большого фундулуса *Fundulus grandis* и пятнистого горбыля *Cynoscion nebulosus* при действии загрязненной нефтью воды Мексиканского залива [Omar-Ali et al., 2015]. У двухнедельной молодежи сига *Siganus canaliculatus*, которую выдерживали 21 сут в водорастворимой фракции нефти марки «WAF», смеси ее с диспергентом и диспергенте, обнаружено кратное увеличение скоплений макрофагов в печени уже через 15 сут [Agamy, 2012]. Исследование около 1000 экз. 7 видов рыб, обитающих в Мексиканском заливе, показало высокую корреляционную зависимость числа и размеров ММЦ в селезенке всех изученных видов от концентрации токсикантов в донных отложениях (тяжелые металлы, полихлорированные бифенилы (ПХБ), полиароматические углеводороды (ПАУ), пестициды) [Fournie et al., 2001].

Установлено, что количество ММЦ в селезенке зимней камбалы *Pseudopleuronectes americanus* зависит от уровня загрязнения грунтов бензопиреном [Benyi et al., 1989]. При экспозиции рыб этого вида в течение 4 мес на донных отложениях, загрязненных ПАУ в концентрации 25–50 мг/кг, количество ММЦ в печени сокращается. По мнению авторов, ПАУ высокотоксичны для иммунной системы рыб [Payne, Fancey, 1989]. В то же время при одно-

кратной инъекции молодежи зеркального карпа *Cyprinus carpio* 2,3,7,8-тетрахлордиоксином (2,3,7,8-TCDD) в концентрации 0.06 мкг/кг массы тела через 6–12 недель выявлено возрастание числа ММЦ в селезенке рыб [Van der Weiden et al., 1994]. Фенилгидразин (внутрибрюшинно по 0.5 мг/рыбу массой 6–10 г) вызывал увеличение размеров и количества ММЦ в почке и селезенке серебряного карася *Carassius auratus* уже через 12 часов после парентеральной инъекции [Herraez, Zapata, 1986]. 12-недельная экспозиция камбалы *Limanda limanda* L. массой 200–300 г в сточных водах г. Глазго (разведение морской водой до концентрации 0, 0.0032% и 0.032%) вызывала увеличение количества ММЦ в селезенке и почках в 1.2–1.8 раза, без изменения размеров ММЦ [Secombes et al., 1991].

Исследования ММЦ у рыб, выловленных в природных водоемах, загрязненных токсикантами различной природы или сильно эвтрофированными, дают противоречивые результаты. Так, сравнение размеров и количества ММЦ в печени, почках и селезенке окуня *Perca fluviatilis* и плотвы *Rutilus rutilus*, отобранных в течение 5 сезонов из 4 озер, отличающихся уровнем загрязнения и эвтрофирования, выявило различия только между рыбами из самого чистого и наиболее грязного водоемов. Более значимыми были различия между сезоном, видами, полом и возрастом рыб [Naaparanta et al., 1996].

В печени тилапии из эвтрофированных водоемов, загрязненных тяжелыми металлами, отмечено значительное увеличение количества ММЦ [Abdel-Moneim et al., 2012]. Зависимость количества и размеров ММЦ от степени загрязненности вод отмечена у европейской бельдюги из Балтийского моря [Fricke et al., 2012], *Clarias gariepinus*, *C. ngamensis*, *Oreochromis*

andersonii и *Serranochromis angusticeps* из водоемов Ботсваны [Van Dyk et al., 2009].

Следует отметить, что гиперэвтрофные воды, содержащие большое количество биогенов, оказывают на содержание ММЦ в печени африканского клариевого сома и нильской тилпии такое же действие, как и токсиканты, — происходит увеличение количества и размеров ММЦ [Marchand et al., 2012]. У пресноводных и морских видов рыб, выловленных в водах, загрязненных стоками целлюлозно-бумажных производств, отмечено возрастание количества ММЦ в паренхиматозных органах [Couillard, Hodson, 1996].

Исследования селезенки красноглазого каменного окуня из гавани Берлингтона (штат Вермонт, США) в 1992 г. показали значительную занимаемую площадь ММЦ в органе по сравнению с таковой у рыб, отловленных в “референтных” местах оз. Шамплейн (США). Воды гавани были сильно загрязнены ПХБ, ПАУ и некоторыми тяжелыми металлами [Facey et al., 1999]. Исследования того же показателя в 1999 г., после значительных усилий местных властей по ремедиации среды, показали существенное (почти 5-кратное) уменьшение площадей, занимаемых ММЦ в селезенке рыб из гавани [Facey et al., 2005]. Подобная реакция ММЦ на загрязнение среды (только ПХБ) была отмечена и в печени карпов *Cyprinus carpio* L. из реки Каламазу (шт. Мичиган, США), концентрации ПХБ в печени достигали 22 мг/кг [Fisher et al., 2008].

В почках лаврака *Dicentrarchus labrax* после экспозиции рыб массой 24 г в течение 24 и 48 ч в концентрациях 3.55, 5.01 и 7.08 мг/л селективного гербицида системного действия тербутилазина (группа хлортриазинов) обнаружено увеличение как количества, так и занимаемой площади ММЦ [Dezfuli et al., 2006].

Таким образом, ММЦ у костистых рыб на большинство токсикантов или изменение факторов среды обитания, как правило, реагируют неспецифически — происходит увеличение количества, размеров и общей площади, занимаемой ими в органах. Все эти изменения следует отнести к стресс-реакциям. Увеличе-

ние количества и размеров ММЦ в селезенке и печени рыб, обитающих в водоемах, загрязненных сточными водами, связано со стимуляцией иммунной системы [Macchi et al., 1992]. Другие авторы [Bols et al., 2001] связывают изменение размеров ММЦ с влиянием токсикантов на способность макрофагов поглощать и переваривать эндогенный материал, а также на хемотаксическую активность клеток. Снижение хемотаксической активности приводит к уменьшению размеров ММЦ, а возрастание — к увеличению. Это предположение подтверждается данными о пониженном хемотаксисе макрофагов и уменьшенными размерами ММЦ у рыб, отловленных из загрязненного ПАУ водоема [Bols et al., 2001].

Использование ММЦ как биоиндикатора привлекает возможностью проведения количественных измерений с помощью несложных морфометрических программ. Полученные результаты можно оценивать и сравнивать общепринятыми статистическими методами. Однако, все преимущества существенно осложняются индивидуальной чувствительностью показателя и его зависимостью от большого числа факторов. С одной стороны, это не позволяет делать однозначные выводы о характере загрязнения среды обитания, с другой — позволяет судить о состоянии здоровья рыб и использовать данный показатель как гистологический биомаркер при мониторинге.

Анализ литературных данных показывает, что при интерпретации полученных результатов в целях избегания гипердиагностики или ложных предположений в первую очередь следует учитывать возраст рыб [Wolf et al., 2015]. Существенный разброс показателя у рыб в норме в зависимости от вида, типа питания, органа, образа жизни требует более строгого подхода к исследуемой выборке. При соблюдении всех вышеуказанных требований разброс показателей значительно уменьшается. Особо следует учитывать темпы увеличения размеров и количества ММЦ у рыб младше четырех лет при использовании этой возрастной группы в модельных экспериментах или при экологическом мониторинге.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология. Учебное пособие. М.: Академкнига, 2005. 408 с.
Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б. Влияние тяжелых металлов на иммунофизиологический статус рыб // Успехи совр. биологии. 2003. Т. 123. № 4. С. 401–408.
Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А., Балабанова Л.В., Назарова Е.А. Сравнительный анализ иммунофизиологических механизмов реагирования молоди осетра сибирского и карпа обыкновенного на действие кадмия // Вопр.

- рыболовства. 2009. Т. 10. № 1(37). С. 81–91.
- Abdel-Moneim A.M., Al-Kahtani M.A., Elmenshawy O.M. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia // *Chemosphere*. 2012. V. 88. С. 1028–1035.
- Adams D.H., Sonne C., Basu N., Dietz R., Nam D.H., Leifsson P.S., Jensen A.L. Mercury contamination in spotted sea trout, *Cynoscion nebulosus*: an assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health // *Sci. Total Environ.* 2010. V. 408. № 23. P. 5808–5816. Doi:10.1016/j.scitotenv.2010.08.019.
- Agamy E. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2012. V. 75. P. 171–179. Doi:10.1016/j.ecoenv.2011.09.010
- Agius C. The role of melanomacrophage centres in normal and diseased fish // *J. Fish Diseases*. 1979. V. 2. P. 337–343.
- Agius C. Preliminary studies on the ontogeny of the melano-macrophages of teleost haemopoietic tissues and age-related changes // *Develop. Comp. Immunology*. 1981. V. 5. P. 597–606.
- Agius C. The melano-macrophage centres in fish: a review // *Fish Immunology*. London: Academic Press. 1985. P. 85–105.
- Agius C., Agbede S.A. An electron microscopical study on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish // *J. Fish. Biol.* 1984. V. 21. P. 471–488.
- Agius C., Roberts R.J. Effects of starvation on the melano-macrophage centres in fish // *J. Fish Biol.* 1981. V. 19. P. 161–169.
- Agius C., Roberts R.J. Melanomacrophage centres and their role in fish pathology // *J. Fish Diseases*. 2003. V. 26. P. 499–509.
- Al-Adhami M.A., Kunz Y.W. Haemopoietic centres in the developing angelfish, *Pterophyllum scalare* (Cuvier and Valenciennes) // *Wilhelm Roux's Archives*. 1976. V. 179. P. 393–401.
- Ali A.O., Hohn C., Allen P.J., Ford L., Dail M.B., Pruett S., Petrie-Hanson L. The effects of oil exposure on peripheral blood leukocytes and splenic melano-macrophage centers of Gulf of Mexico fishes // *Mar. Pollution Bulletin*. 2014. V. 79. P. 87–93.
- Balamurugan S., Deivasigamani B., Kumaran S., Sakthivel M., Rajsekar Th., Priyadharsini P. Melano-macrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bioindicator of environmental change // *Asian Pac. J. Tropic Disease*. 2012. V. 2. № 2. P. 635–638.
- Benoit J., Gilmour C., Heyes A., Mason R.P., Miller C. Geochemical and biological controls over methylmercury production and degradation in aquatic ecosystems // *Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements*. Washington DC: American Chemical Society. 2003. Ch. 19. P. 262–297. Doi:10.1021/bk-2003-0835.ch019.
- Benyi S.J., Gardner G.R., Heltshe J.F., Rosen J. Pigment localization in the spleen of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) in relation to sediment chemical contamination // *Fish Health Section in the American Fisheries Society and Eastern Fish Health Workshop*. Annapolis, MD. 1989. P. 59.
- Blazer V.S., Wolke R.E., Brown J., Powell C.A. Piscine macrophage aggregate parameters as health monitors: effect of age, sex, relative weight, season and site quality in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) // *Aquat. Toxicol.* 1987. V. 10. P. 199–215.
- Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin R.C., Lee L.E.J. Ecotoxicology and innate immunity in fish // *Develop. Comp. Immunol.* 2001. V. 25. P. 853–873.
- Brown C.L., George C.T. Age-dependent accumulation of macrophage aggregates in the yellow perch *Perca flavescens* (Mitchell) // *J. Fish Diseases*. 1985. V. 8. P. 135–138.
- Cooley H.M., Evans R.E., Klaverkamp J.F. Toxicology of dietary uranium in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) // *Aquat. Toxicol.* 2000. V. 48. P. 495–515.
- Couillard C.M., Hodson P.V. Pigmented macrophage aggregates: a toxic response in fish exposed to bleached-kraft mill effluent? // *Environm. Toxicol. Chem.* 1996. V. 15. № 10. P. 1844–1854.
- Dezfuli B.S., Simoni E., Giari L., Manera M. Effects of experimental terbuthylazine exposure on the cells of *Dicentrarchus labrax* (L.) // *Chemosphere*. 2006. V. 64. P. 1684–1694.
- Di Giulio R.T., Washburn P.C., Wenning R. J., Winston G.W., Jewell C.S. Biochemical responses in aquatic animals: A review of determinants of oxidative stress // *Environm. Toxicol. Chem.* 1989. V. 8. P. 1103–1123.
- Ellis A.E. Aspects of the lymphoid and reticuloendothelial system in the plaice *Pleuronectes platessa*. Ph.D. Thesis. University of Aberdeen, Scotland. 1974. 317 pp.
- Ellis A.E. Ontogeny of the immune response in *Salmo salar*. Histogenesis of the lymphoid organs and appearance of membrane immunoglobulin and mixed leucocyte reactivity // *Developmental immunobiology*. Amsterdam: Elsevier North Holland Biomedical Press, 1977. 225 p.
- Ellis A.E. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease process // *Developments In Biological Standardisation*. 1981. V. 49. P. 1–11.
- Ellis E., Munro A.L.S., Roberts D.R.J. Defense mechanism in fish. I. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected material in the plaice (*Pleuronectes platessa*) // *J. Fish. Biol.* 1976. V. 8. P. 67–78.
- Facey D.E., Blazer V.S., Gasper M.M., Turcotte C.L. Using Fish Biomarkers to Monitor Improvements in Environmental Quality // *J. Aquat. Animal Health*. 2005. V. 17. P. 263–266. Doi: 10.1577/H04-055.1
- Facey D.E., Leclerc C., Dunbar D., Arruda D., Pyzocha L., Blazer V. Physiological indicators of stress among fishes from contaminated areas of Lake Champlain // *Lake Champlain in transition: from research toward restoration – water science and application*. Washington D.C.: American Geophysical Union, 1999. P. 349–359.

- Feist S.W., Stentiford G.D., Kent M.L., Ribeiro S.A., Lorange P. Histopathological assessment of liver and gonad pathology in continental slope fish from the northeast Atlantic Ocean // *Mar. Environm. Res.* 2015. V. 106. P. 42–50.
- Ferguson H.W. The relationship between ellipsoids and melano-macrophage centres in the spleen of turbot (*Scophthalmus maximus*) // *J. Comp. Path.* 1976. V. 86. P. 377–380.
- Fishelson L. Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, head-kidney, and liver in cardinal fish (Apogonidae, Teleostei) as bioindicators of stress // *J. Morphology.* 2006. V. 267. P. 57–69.
- Fisher M.A., Eversole R., Mehne C., Means J.C., Delong C., Mihalko D., Ide C.F. Liver cyp1A protein expression and pigmented macrophage aggregates as indicators of polychlorinated biphenyl exposure in carp *Cyprinus carpio* L. from the Kalamazoo River Superfund site, Michigan // *J. Fish Biol.* 2008. V. 72. P. 1960–1975. Doi:10.1111/j.1095-8649.2008.01817.x
- Fournie J.W., Summers J.K., Courtney L.A., Engle V.D. Utility of Splenic Macrophage Aggregates as an Indicator of Fish Exposure to Degraded Environments // *J. Aquat. Animal Health.* 2001. V. 13. P. 105–116.
- Fricke N.F., Stentiford G.D., Feist S.W., Lang T. Liver histopathology in Baltic eelpout (*Zoarces viviparus*) – A baseline study for use in marine environmental monitoring // *Mar. Environm. Research.* 2012. V. 82. P. 1–14.
- Haaparanta A., Valtonen E.T., Hoffmann R., Holmes J. Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality? // *Aquat. Toxicol.* 1996. V. 34. P. 253–272.
- Haines T.A., Komov V.T., Matey V.E., Jagoe C.H. Perch Mercury Content Is Related to Acidity and Color of 26 Russian Lakes // *Water, Air and Soil Pollution.* 1995. V. 85. № 2. P. 823–828. Doi:10.1007/BF00476931
- Herraez M.P., Zapata A.G. Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish *Carassius auratus* // *Veter. Immunol. Immunopathol.* 1986. V. 12. P. 117–126.
- Herraez M.P., Zapata A.G. Structural characterization of the melano-macrophage centres of goldfish, *Carassius auratus* // *Europ. J. Morphol.* 1991. V. 29. P. 89–102.
- Hur J.W., Woo S.R., Jo J.H., Park I.-S. Effects of starvation on kidney melano-macrophage centre in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) // *Aquaculture Research.* 2006. V. 37. P. 821–825. Doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01498.x.
- Jordanova M., Rocha M.J., Rebok K., Rocha E. Changes in the Amount of Kidney Pigmented Macrophage Aggregates Throughout the Breeding Cycle of Female Ohrid Trout, *Salmo letnica* Kar. (Teleostei, Salmonidae) // *Microscopy Res. Techniq.* 2012. V. 75. P. 176–181. Doi: 10.1002/jemt.21040.
- Kranz H. Changes in splenic melanomacrophage centres of dab, *Limanda limanda* during and after infection with ulcer disease // *Diseases Aquat. Organisms.* 1989. V. 6. P. 167–173.
- Kranz H., Gercken J. Effects of sublethal concentration of potassium dichromate on the occurrence of splenic melanomacrophage centres in juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L. // *J. Fish Biol.* 1987. V. 31. P. 75–80.
- Krüger R., Pietrock M., Meinelt Th., Yoshida T., Steffens W., Steinberg Ch. Distribution of Macrophage Centres in Bream (*Abramis brama* L.) Liver from the Oder River (Germany/Poland) within the Nature Reserve “Unteres Oder-tal” Near the Town of Schwedt. // *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 1996. V. 81. № 4. P. 635–644.
- Kurtović B., Teskeredžić E., Teskeredžić Z. Histological comparison of spleen and kidney tissue from farmed and wild European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) // *Acta Adriat.* 2008. V. 49. № 2. P. 147–154.
- Lamers C.H.J., De Haas M.J.H. Antigen localization in the lymphoid organs of carp (*Cyprinus carpio*) // *Cell Tissue Res.* 1985. V. 242. P. 491–498.
- Leknes I.L. Melano-macrophage centres and endocytic cells in kidney and spleen of pearl gouramy and platy fish (Anabantidae, Poeciliidae: Teleostei) // *Acta histochemica.* 2007. V. 109. P. 164–168.
- Macchi G.J., Romano A., Christiansen H.E. Melanomacrophage centres in white mouth croaker *Micropogonias furneri*, as biological indicators of environmental changes // *J. Fish Biol.* 1992. V. 40. P. 971–973.
- Manera M., Serra R., Isani G., Carpené E. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets // *J. Fish Biol.* 2000. V. 57. P. 457–465. Doi:10.1006/jfbi.2000.1318.
- Manrique W.G., da Silva G.C., Petrillo T.R., de Castro M.P., Figueiredo M.A.P., de Andrade Belo M.A., de Moraes J.R.E., de Moraes F.R. Response of splenic melanomacrophage centers of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to inflammatory stimuli by BCG and foreign bodies // *J. Appl. Ichthyol.* 2014. V. 30. P. 1001–1006.
- Marchand M.J., van Dyk J.C., Barnhoorn I.E.J., Wagenaar G.M. Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hypereutrophic freshwater ecosystem in South Africa: a baseline study // *Afr. J. Aquat. Sci.* 2012. V. 37. № 1. P. 39–48. Doi: 10.2989/16085914.2011.636902.
- Meinelt T., Kriiger R., Pietrock M., Osten R., Steinberg C. Mercury pollution and macrophage centres in pike (*Esox lucius*) tissues // *Environ.l Sci. Poll.* 1997. V. 4. P. 32–36.
- Mela M., Randi M.A., Ventura D.F., Carvalho C.E., Pelletier E., Oliveira Ribeiro C.A. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus* // *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 2007. V. 68. P. 426–435.
- Meseguer J., López-Ruiz A., Esteban M.A. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function // *Cell Tissue Res.* 1994. V. 277. № 1. P. 1–10. Doi:10.1007/BF00303074.

- Migale V., Perdichizzi F. A quantitative and histochemical study on melano-macrophage centers in the spleen of the teleost fish *Diplodus annularis* L. // J. Fish Biol. 1990. V. 37. P. 191–197.
- Mizuno S., Misaka N., Miyakoshi Ya., Takeuchi K., Kasahara N. Effects of starvation on melano-macrophages in the kidney of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) // Aquaculture. 2002. V. 209. P. 247–255.
- Montero D., Blazer V.S., Socorro J., Izquierdo M.S., Tort L. Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles // Aquaculture. 1999. V. 179. P. 523–534.
- Mulligan J.A. The effect of oil and oil dispersant mixtures on *Fundulus heteroclitus* Walbaum: Pathologic alterations. MS. Thesis. University of Rhode Island. Kingston. RI. 1985. 102 p.
- Omar-Ali A., Hohn C., Allen P.J., Rodriguez J., Petrie-Hanson L. Tissue PAH, blood cell and tissue changes following exposure to water accommodated fractions of crude oil in alligator gar, *Atractosteus spatula* // Mar. Environ. Res. 2015. V. 108. P. 33–44.
- Payne J.F., Fancey L.F. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on immune responses in fish: Changes in melano-macrophage centers in flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) exposed to hydrocarbon-contaminated sediments // Mar. Environ. Res. 1989. V. 28. P. 431–435.
- Passantino L., Cianciotta A., Jirillo F., Carrassi M., Jirillo E., Passantino G.F. Lymphoreticular system in fish: erythrocyte-mediated immunomodulation of macrophages contributes to the formation of melano macrophage centres // Immunopharm. Immunotox. 2005. V. 27. P. 147–161.
- Passantino L., Santamaria N., Zupa R., Pousis R., Garofalo R., Cianciotta A., Jirillo E., Acone F., Corriero A. Liver melano macrophage centres as indicators of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* L. well-being // J. Fish Diseases. 2014. V. 37. P. 241–250.
- Pulsford A.L., Ryan K.P., Nott J.A. Metals and melanomacrophages in flounder, *Platichthys flesus*, spleen and kidney // J. Mar. Biol. Ass. U.K. 1992. V. 72. P. 483–498.
- Ravaglia M.A., Maggese M.C. Melano-macrophage centers in the gonads of the swamp eel, *Synbranchirys murmuratus* Bloch (Pisces, Synbranchidae): histological and histochemical characterization // J. Fish. Dis. 1995. V. 18. P. 117–125.
- Reddy S.J. Cadmium Effect on Histo-Biomarkers and Melano-Macrophage Centers in Liver and Kidney of *Cyprinus carpio* // World J. Fish Mar. Sci. 2012. V. 4. № 2. P. 179–184. Doi:10.5829/idosi.wjfm.2012.04.02.61178.
- Ribeiro H.J., Procopio M.S., Gomes J.M.M., Viera F.O., Russo R.C., Balzuweit K., Chiarini-Garcia H., Santana Castro A.C., Rizzo E., Dias Correa J. Functional dissimilarity of melano-macrophage centres in the liver and spleen from females of the teleost fish *Prochilodus sargenteus* // Cell and Tissue Research. 2011. V. 346. P. 417–425.
- Riley P.A. Melanins and melanogenesis // Pathobiology annual. 1980. V. 10. P. 223–251.
- Rios F.S., Donatti L., Fernandes M.N., Kalinin L., Rantin F.T. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding // J. Fish Biol. 2007. V. 71. P. 1393–1406. Doi:10.1111/j.1095-8649.2007.01604.x.
- Roberts R.J. Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease // The pathology of fishes. Madison: University of Wisconsin Press, 1975. P. 399–428.
- Roberts R.J. Fish Pathology. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. 350 p.
- Romano N., Picchiatti S., Taverne-Thiele J.J., Taverne N., Abelli L., Mastrolia L., Verburg-van Kemenade B.M.L., Rombout J.H.W.M. Distribution of macrophages during fish development: an immunohistochemical study in carp (*Cyprinus carpio*, L.) // Anat. Embryol. 1998. V. 198. P. 31–41.
- Russo R., Yanong R.P.E. Preliminary Morphometrics of Spleen and Kidney Macrophage Aggregates in Clinically Normal Blue Gourami *Trichogaster trichopterus* and Freshwater Angelfish *Pterophyllum scalare* // J. Aquat. Animal Health. 2007. V. 19. P. 60–67. Doi: 10.1577/H05-023.1.
- Saunders H.L., Oko A.L., Scott A.N., Fan Ch.W., Magor B.G. The cellular context of AID expressing cells in fish lymphoid tissues // Develop. Comp. Immunol. 2010. V. 34. P. 669–676. Doi:10.1016/j.dci.2010.01.013
- Schwindt A., Fournie J., Landers D., Schreck C., Kent M. Mercury Concentrations in Salmonids from Western U.S. National Parks and Relationships with Age and Macrophage Aggregates // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. P. 1365–1370.
- Secombes C.J., Fletcher T.C., O'flynn J.A., Costello M.J., Stagg R., Houlihan D.F. Immunocompetence as a measure of the biological effects of sewage sludge pollution in fish // Comp. Biochem. Physiol. 1991. V. 100. № 1–2. P. 133–136.
- Stepanova I.K., Komov V.T. Mercury in abiotic and biotic components of lakes of north western Russia // Russian J. Ecology. 1996. V. 27. № 3. P. 188–192.
- Suresh N. Effect of cadmium chloride on liver, spleen and kidney melanomacrophage centres in *Tilapia mossambica* // J. Environ. Biol. 2009. V. 30. № 4. P. 505–508.
- Thorsen A., Marshall C.T., Kjesbu O.S. Comparison of various potential fecundity models for north-east Arctic cod *Gadus morhua* L. using oocyte diameter as a standardizing factor // J. Fish Biol. 2006. V. 69. № 6. P. 1709–1730. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2006.01239.
- Tort L., Balasch J.C., Mackenzie S. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses // Immunologia. 2003. V. 22. № 3. P. 277–286.

- Van der Weiden M.E.J., Bleumink R., Seinen W., van den Berg M. Concurrence of P450 1A induction and toxic effects in the mirror carp (*Cyprinus carpio*), after administration of allow dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin // *Aquat. Toxicol.* 1994. V. 29. № 3–4. P. 147–162. Doi:10.1016/0166-445X(94)90065-5.
- Van Dyk J.C., Cochran M.J., Wagenaar G.M. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution // *Chemosphere.* 2012. V. 87. P. 301–311.
- Van Dyk J.C., Marchand M.J., Smit N.J., Pieterse G.M. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana // *Afr. J. Aquatic Science.* 2009. V. 34. № 3. P. 273–282. Doi: 10.2989/AJAS.2009.34.3.9.985.
- Vigliano F.A., Bermudez R., Quiroga Ma.I., Nieto J.M. Evidence for melanomacrophage centres of teleost as evolutionary precursors of germinal centres of higher vertebrates: An immunohistochemical study // *Fish and Shellfish Immunology.* 2006. V. 21. P. 467–471.
- Vogelbein W.K., Fournie J.W., Overstreet R.M. Sequential development and morphology of experimentally induced hepatic melanomacrophage centres in *Rivulinus marmoratus* // *J. Fish Biol.* 1987. V. 31. P. 145–153.
- Weeks, B. A., Warinner, J.E. Effects of toxic chemicals on macrophage phagocytosis in two estuarine fishes // *Mar. Envir. Res.* 1984. V. 14. P. 327–335.
- Wolf J.C., Baumgartner W.A., Blazer V.S., Camus A.C., Engelhardt J.A., Fournie J.W., Frasca S.Jr., Groman D.B., Kent M.L., Khoo L.H., Law J.M., Lombardini E.D., Ruehl-Fehlert Ch., Segner H.E., Smith S.A., Spitsbergen J.M., Weber K., Wolfe M.J. Nonlesions, Misdiagnoses, Missed Diagnoses, and Other Interpretive Challenges in Fish Histopathology Studies. A Guide for Investigators, Authors, Reviewers, and Readers // *Toxic. Pathology.* 2015. V. 43. P. 297–325. Doi: 10.1177/0192623314540229.
- Wolke R.E. Piscine macrophage aggregates: a review // *Annu Rev. Fish Dis.* 1992. V. 2. P. 91–108.
- Wolke R.E., Murchelano R.A., Dickstein C.D., George C.J. Pigmented macrophage aggregates (MA) as fish health monitors // *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 1985. V. 35. P. 222–227.
- Zabotkina E.A., Lapirova T.B., Nazarova E.A. Influence of cadmium ions on some morphofunctional and immunophysiological parameters of perch (*Perca fluviatilis*, Perciformes, Percidae) underyearlings // *J. Ichthyology.* 2009. V. 49. № 1. P. 111–118. Doi: 10.1134/S0032945209010147

REFERENCES

- Abdel-Moneim A.M., Al-Kahtani M.A., Elmenshawy O.M. 2012. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia // *Chemosphere.* V. 88. P. 1028–1035.
- Adams D.H., Sonne C., Basu N., Dietz R., Nam D.H., Leifsson P.S., Jensen A.L. 2010. Mercury contamination in spotted sea trout, *Cynoscion nebulosus*: an assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health // *Sci. Total Environ.* V. 408. № 23. P. 5808–5816. Doi:10.1016/j.scitotenv.2010.08.019.
- Agamy E. 2012. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant // *Ecotoxicol. Environ. Safety.* V. 75. P. 171–179. Doi:10.1016/j.ecoenv.2011.09.010
- Agius C. 1979. The role of melano-macrophage centres in normal and diseased fish // *J. Fish Diseases.* V. 2. P. 337–343.
- Agius C. 1981. Preliminary studies on the ontogeny of the melano-macrophages of teleost haemopoietic tissues and age-related changes // *Develop. Comp. Immunology.* V. 5. P. 597–606.
- Agius C. 1985. The melano-macrophage centres in fish: a review // *Fish Immunology.* London: Academic Press. P. 85–105.
- Agius C., Agbede S.A. 1984. An electron microscopical study on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish // *J. Fish. Biol.* V. 21. P. 471–488.
- Agius C., Roberts R.J. 1981. Effects of starvation on the melano-macrophage centres in fish // *J. Fish Biol.* V. 19. P. 161–169.
- Agius C., Roberts R.J. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology // *J. Fish Diseases.* V. 26. P. 499–509.
- Al-Adhami M.A., Kunz Y.W. 1976. Haemopoietic centres in the developing angelfish, *Pterophyllum scalare*, (Cuvier and Valenciennes) // *Wilhelm Roux's Archives.* V. 179. P. 393–401.
- Ali A.O., Hohn C., Allen P.J., Ford L., Dail M.B., Pruett S., Petrie-Hanson L. 2014. The effects of oil exposure on peripheral blood leukocytes and splenic melano-macrophage centers of Gulf of Mexico fishes // *Mar. Pollution Bulletin.* V. 79. P. 87–93.
- Balamurugan S., Deivasigamani B., Kumaran S., Sakthivel M., Rajsekar Th., Priyadharsini P. 2012. Melano macrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bioindicator of environmental change // *Asian Pac. J. Tropic Disease.* V. 2. № 2. P. 635–638.
- Benoit J., Gilmour C., Heyes A., Mason R. P., Miller C. 2003. Geochemical and biological controls over methylmercury production and degradation in aquatic ecosystems // *Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements.* Washington DC: American Chemical Society. Ch. 19. P. 262–297. Doi:10.1021/bk-2003-0835.ch019.
- Benyi S.J., Gardner G.R., Heltshe J.F., Rosen J. 1989. Pigment localization in the spleen of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) in relation to sediment chemical contamination // *Fish Health Section of the American Fish Society and Eastern Fish Health Workshop.* Annapolis. MD. P. 59.

- Blazer V.S., Wolke R.E., Brown J., Powell C.A. 1987. Piscine macrophage aggregate parameters as health monitors: effect of age, sex, relative weight, season and site quality in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) // Aquat. Toxicol. V. 10. P. 199–215.
- Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin R.C., Lee L.E.J. 2001. Ecotoxicology and innate immunity in fish // Develop. Comp. Immunol. V. 25. P. 853–873.
- Brown C.L., George C.T. 1985. Age-dependent accumulation of macrophage aggregates in the yellow perch *Perca flavescens* (Mitchell) // J. Fish Diseases. V. 8. P. 135–138.
- Cooley H.M., Evans R.E., Klaverkamp J.F. 2000. Toxicology of dietary uranium in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) // Aquat. Toxicol. V. 48. P. 495–515.
- Couillard C.M., Hodson P.V. 1996. Pigmented macrophage aggregates: a toxic response in fish exposed to bleached-kraft mill effluent? // Environm. Toxicol. Chem. V. 15. № 10. P. 1844–1854.
- Dezfuli B.S., Simoni E., Giari L., Manera M. 2006. Effects of experimental terbuthylazine exposure on the cells of *Dicentrarchus labrax* (L.) // Chemosphere. V. 64. P. 1684–1694.
- Di Giulio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J., Winston G.W., Jewell C.S. 1989. Biochemical responses in aquatic animals: A review of determinants of oxidative stress // Environm. Toxicol. Chem. V. 8. P. 1103–1123.
- Ellis A.E. 1974. Aspects of the lymphoid and reticuloendothelial system in the plaice *Pleuronectes platessa*. Ph.D. Thesis. University of Aberdeen, Scotland. 317 pp.
- Ellis A.E. 1977. Ontogeny of the immune response in *Salmo salar*. Histogenesis of the lymphoid organs and appearance of membrane immunoglobulin and mixed leucocyte reactivity // Developmental immunobiology. Amsterdam: Elsevier North Holland Biomedical Press, 225 p.
- Ellis A.E. 1981. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease process // Developments In Biological Standardisation. V. 49. P. 1–11.
- Ellis E., Munro A.L.S., Roberts D.R.J. 1976. Defense mechanism in fish. I. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected material in the plaice (*Pleuronectes platessa*) // J. Fish. Biol. V. 8. P. 67–78.
- Facey D.E., Blazer V.S., Gasper M.M., Turcotte C.L. 2005. Using Fish Biomarkers to Monitor Improvements in Environmental Quality // J. Aquat. Animal Health. V. 17. P. 263–266. Doi: 10.1577/H04-055.1
- Facey D.E., Leclerc C., Dunbar D., Arruda D., Pyzocha L., Blazer V. 1999. Physiological indicators of stress among fishes from contaminated areas of Lake Champlain // Lake Champlain in transition: from research toward restoration –water science and application. Washington D.C.: American Geophysical Union, P. 349–359.
- Feist S.W., Stentiford G.D., Kent M.L., Ribeiro Santos A., Lorange P. 2015. Histopathological assessment of liver and gonad pathology in continental slope fish from the northeast Atlantic Ocean // Mar. Environm. Res. V. 106. P. 42–50.
- Ferguson H.W. 1976. The relationship between ellipsoids and melano-macrophage centres in the spleen of turbot (*Scophthalmus maximus*) // J. Comp. Path. V. 86. P. 377–380.
- Fishelson L. 2006. Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, head-kidney, and liver in cardinal fish (Apoionidae, Teleostei) as bioindicators of stress // J. Morphology. V. 267. P. 57–69.
- Fisher M.A., Eversole R., Mehne C., Means J.C., DeLong C., Mihalko D., Ide C.F. 2008. Liver cyp1A protein expression and pigmented macrophage aggregates as indicators of polychlorinated biphenyl exposure in carp *Cyprinus carpio* L. from the Kalamazoo River Superfund site, Michigan // J. Fish Biol. V. 72. P. 1960–1975. Doi:10.1111/j.1095-8649.2008.01817.x
- Fournie J.W., Summers J.K., Courtney L.A., Engle V.D. 2001. Utility of Splenic Macrophage Aggregates as an Indicator of Fish Exposure to Degraded Environments // J. Aquat. Animal Health. V. 13. P. 105–116.
- Fricke N.F., Stentiford G.D., Feist S.W., Lang T. 2012. Liver histopathology in Baltic eelpout (*Zoarces viviparus*) – A baseline study for use in marine environmental monitoring // Mar. Environm. Research. V. 82. P. 1–14.
- Galaktionov V.G. 2005. Evolyucionnaya immunologiya [Evolutionary Immunology]. M.: Akademkniga. 408 s. [In Russian]
- Haaparanta A., Valtonen E.T., Hoffmann R., Holmes J. 1996. Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality? // Aquat. Toxicol. V. 34. P. 253–272.
- Haines T.A., Komov V.T., Matey V.E., Jagoe C.H. 1995. Perch Mercury Content Is Related to Acidity and Color of 26 Russian Lakes // Water, Air and Soil Pollution. V. 85. № 2. P. 823–828.
- Herraez M.P., Zapata A.G. 1986. Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish *Carassius auratus* // Veter. Immunol. Immunopathol. V. 12. P. 117–126.
- Herraez M.P., Zapata A.G. 1991. Structural characterization of the melano-macrophage centres of goldfish, *Carassius auratus* // Europ. J. Morphol. V. 29. P. 89–102.
- Hur J.W., Woo S.R., Jo J.H., Park I.-S. 2006. Effects of starvation on kidney melano-macrophage centre in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) // Aquaculture Research. V. 37. P. 821–825. Doi:10.1111/j.1365-2109.2006.01498.x.
- Jordanova M., Rocha M.J., Rebok K., Rocha E. 2012. Changes in the Amount of Kidney Pigmented Macrophage Aggregates Throughout the Breeding Cycle of Female Ohrid Trout, *Salmo letnica* Kar. (Teleostei, Salmonidae) // Microscopy Res. Techniq. V. 75. P. 176–181. DOI 10.1002/jemt.21040.
- Kranz H. 1989. Changes in splenic melano-macrophage centres of dab, *Limanda limanda* during and after infection with ulcer disease // Diseases Aquat. Organisms. V. 6. P. 167–173.

- Kranz H., Gercken J. 1987. Effects of sublethal concentration of potassium dichromate on the occurrence of splenic melano-macrophage centres in juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L. // J. Fish Biol. V. 31. P. 75–80.
- Krüger R., Pietrock M., Meinelt Th., Yoshida T., Steffens W., Steinberg Ch. 1996. Distribution of Macrophage Centres in Bream (*Abramis brama* L.) Liver from the Oder River (Germany/Poland) within the Nature Reserve “Unteres Odertal” Near the Town of Schwedt. // Int. Revue ges. Hydrobiol. V. 81. № 4. P. 635–644.
- Kurtović B., Teskeredžić E., Teskeredžić Z. 2008. Histological comparison of spleen and kidney tissue from farmed and wild European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) // Acta Adriat. V. 49. № 2. P. 147–154.
- Lamers C.H.J., De Haas M.J.H. 1985. Antigen localization in the lymphoid organs of carp (*Cyprinus carpio*) // Cell Tissue Res. V. 242. P. 491–498.
- Lapirova T.B., Zabolotkina E.A., Balabanova L.V., Nazarova E.A. 2009. Sravnitel'nyj analiz immunofizioloicheskikh mekhanizmov reagirovaniya molodi osetra sibirskogo i karpa obyknovennogo na dejstvie kadmiya [The comparative analysis of immunophysiological mechanisms response on the influence of cadmium with the yearlings of Siberian sturgeon and carp] // Vopr. Rybolovstva. T. 10. № 1(37). S. 81–91. [In Russian]
- Leknes I.L. 2007. Melano-macrophage centres and endocytic cells in kidney and spleen of pearl gouramy and platy fish (Anabantidae, Poeciliidae: Teleostei) // Acta histochemica. V. 109. P. 164–168.
- Macchi G.J., Romano A., Christiansen H.E. 1992. Melano-macrophage centres in white mouth croaker *Micropogonias furneri*, as biological indicators of environmental changes // J. Fish Biol. V. 40. P. 971–973.
- Manera M., Serra R., Isani G., Carpené E. 2000. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets // J. Fish Biol. V. 57. P. 457–465. Doi:10.1006/jfbi.2000.1318.
- Manrique W.G., da Silva G.C., Petrillo T.R., de Castro M.P., Figueiredo M.A.P., de Andrade Belo M.A., de Moraes J.R.E., de Moraes F.R. 2014. Response of splenic melano-macrophage centers of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to inflammatory stimuli by BCG and foreign bodies // J. Appl. Ichthyol. V. 30. P. 1001–1006.
- Marchand M.J., van Dyk J.C., Barnhoorn I.E.J., Wagenaar G.M. 2012. Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hypereutrophic freshwater ecosystem in South Africa: a baseline study // Afr. J. Aquat. Sci. V. 37. № 1. P. 39–48. Doi: 10.2989/16085914.2011.636902.
- Meinelt T., Kriiger R., Pietrock M., Osten R., Steinberg C. 1997. Mercury pollution and macrophage centres in pike (*Esox lucius*) tissues // Environm. Sci. Poll. V. 4. P. 32–36.
- Mela M., Randi M.A., Ventura D.F., Carvalho C.E., Pelletier E., Oliveira Ribeiro C.A. 2007. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus* // Ecotoxicol. Environ. Safety. V. 68. P. 426–435.
- Meseguer J., López-Ruiz A., Esteban M.A. 1994. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function // Cell Tissue Res. V. 277. № 1. P. 1–10. Doi:10.1007/BF00303074.
- Migale V., Perdichizzi F. 1990. A quantitative and histochemical study on melano-macrophage centers in the spleen of the teleost fish *Diplodus annularis* L. // J. Fish Biol. V. 37. P. 191–197.
- Mizuno S., Misaka N., Miyakoshi Ya., Takeuchi K., Kasahara N. 2002. Effects of starvation on melano-macrophages in the kidney of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) // Aquaculture. V. 209. P. 247–255.
- Montero D., Blazer V.S., Socorro J., Izquierdo M.S., Tort L. 1999. Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles // Aquaculture. V. 179. P. 523–534.
- Mulligan J.A. 1985. The effect of oil and oil: Dispersant mixtures on *Fundulus heteroclitus* Walbaum: Pathologic alterations. MS. Thesis. University of Rhode Island. Kingston. RI. 102 p.
- Omar-Ali A., Hohn C., Allen P.J., Rodriguez J., Petrie-Hanson L. 2015. Tissue PAH, blood cell and tissue changes following exposure to water accommodated fractions of crude oil in alligator gar, *Atractosteus spatula* // Mar. Environ. Res. V. 108. P. 33–44.
- Payne J.F., Fancey L.F. 1989. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on immune responses in fish: Changes in melano-macrophage centers in flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) exposed to hydrocarbon-contaminated sediments // Mar. Environ. Res. V. 28. P. 431–435.
- Passantino L., Cianciotta A., Jirillo F., Carrassi M., Jirillo E., Passantino G.F. 2005. Lymphoreticular system in fish: erythrocyte-mediated immunomodulation of macrophages contributes to the formation of melano-macrophage centres // Immunopharm. Immunotox. V. 27. P. 147–161.
- Passantino L., Santamaria N., Zupa R., Pousis R., Garofalo R., Cianciotta A., Jirillo E., Acone F., Corriero A. 2014. Liver melano macrophage centres as indicators of atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* L. well-being // J. Fish Diseases. V. 37. P. 241–250.
- Pulsford A.L., Ryan K.P., Nott J.A. 1992. Metals and melano-macrophages in flounder, *Platichthys flesus*, spleen and kidney // J. Mar. Biol. Ass. U.K. V. 72. P. 483–498.
- Ravaglia M.A., Maggese M.C. 1995. Melano-macrophage centers in the gonads of the swamp eel, *Synbranchius murmuratus* Bloch (Pisces, Synbranchidae): histological and histochemical characterization. // J. Fish. Dis. V. 18. P. 117–125.
- Reddy S.J. 2012. Cadmium Effect on Histo-Biomarkers and Melano-Macrophage Centers in Liver and Kidney of *Cyprinus carpio* // World J. Fish Mar. Sci. V. 4. № 2. P. 179–184. Doi:10.5829/idosi.wjfm.2012.04.02.61178.

- Ribeiro H.J., Procopio M.S., Gomes J.M.M., Viera F.O., Russo R.C., Balzuweit K., Chiarini-Garcia H., Santana Castro A.C., Rizzo E., Dias Correa J. 2011. Functional dissimilarity of melano-macrophage centres in the liver and spleen from females of the teleost fish *Prochilodus sargenteus* // Cell and Tissue Research. V. 346. P. 417–425.
- Riley P.A. 1980. Melanins and melanogenesis // Pathobiology annual. V. 10. P. 223–251.
- Rios F.S., Donatti L., Fernandes M.N., Kalinin L., Rantin F.T. 2007. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding // J. Fish Biol. V. 71. P. 1393–1406. Doi:10.1111/j.1095-8649.2007.01604.x.
- Roberts R.J. 1975. Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease // The pathology of fishes. Madison: University of Wisconsin Press. P. 399–428.
- Roberts R.J. 2001. Fish Pathology. Philadelphia: W.B. Saunders. 350 p.
- Romano N., Picchietti S., Taverne-Thiele J.J., Taverne N., Abelli L., Mastrolia L., Verburg-van Kemenade B.M.L., Rombout J.H.W.M. 1998. Distribution of macrophages during fish development: an immunohistochemical study in carp (*Cyprinus carpio*, L.) // Anat Embryol. V. 198. P. 31–41.
- Russo R., Yanong R.P.E. 2007. Preliminary Morphometrics of Spleen and Kidney Macrophage Aggregates in Clinically Normal Blue Gourami *Trichogaster trichopterus* and Freshwater Angelfish *Pterophyllum scalare* // J. Aquat. Animal Health. V. 19. P. 60–67. Doi: 10.1577/H05-023.1.
- Saunders H.L., Oko A.L., Scott A.N., Fan Ch.W., Magor B.G. 2010. The cellular context of AID expressing cells in fish lymphoid tissues // Develop. Comp. Immunol. V. 34. P. 669–676. Doi:10.1016/j.dci.2010.01.013
- Schwindt A., Fournie J., Landers D., Schreck C., Kent M. 2008. Mercury Concentrations in Salmonids from Western U.S. National Parks and Relationships with Age and Macrophage Aggregates // Environ. Sci. Technol. V. 42. P. 1365–1370.
- Secombes C.J., Fletcher T.C., O'Flynn J.A., Costello M.J., Stagg R., Houlihan D.F. 1991. Immunocompetence as a measure of the biological effects of sewage sludge pollution in fish // Comp. Biochem. Physiol. V. 100. № 1–2. P. 133–136.
- Stepanova I.K., Komov V.T. 1996. Mercury in abiotic and biotic components of lakes of north western Russia // Russian J. Ecology. V. 27. № 3. P. 188–192.
- Suresh N. 2009. Effect of cadmium chloride on liver, spleen and kidney melano-macrophage centres in *Tilapia mosambica* // J. Environ. Biol. V. 30. № 4. P. 505–508.
- Thorsen A., Marshall C.T., Kjesbu O.S. 2006. Comparison of various potential fecundity models for north-east Arctic cod *Gadus morhua* L. using oocyte diameter as a standardizing factor // J. Fish Biol. V. 69. № 6. P. 1709–1730. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2006.01239.
- Tort L., Balasch J.C., Mackenzie S. 2003. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses // Immunologia. V. 22. № 3. P. 277–286.
- Van der Weiden M.E.J., Bleumink R., Seinen W., van den Berg M. 1994. Concurrence of P450 1A induction and toxic effects in the mirror carp (*Cyprinus carpio*), after administration of allow dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin // Aquat. Toxicol. V. 29. № 3–4. P. 147–162. doi.org/10.1016/0166-445X(94)90065-5.
- Van Dyk J.C., Cochrane M.J., Wagenaar G.M. 2012. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution // Chemosphere. V. 87. P. 301–311.
- Van Dyk J.C., Marchand M.J., Smit N.J., Pieterse G.M. 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana // Afr. J. Aquatic Science. V. 34. № 3. P. 273–282. Doi: 10.2989/AJAS.2009.34.3.9.985.
- Vigliano F.A., Bermudez R., Quiroga Ma. I., Nieto J.M. 2006. Evidence for melano-macrophage centres of teleost as evolutionary precursors of germinal centres of higher vertebrates: An immunohistochemical study // Fish & Shellfish Immunology. V. 21. P. 467–471.
- Vogelbein W.K., Fournie J.W., Overstreet R.M. 1987. Sequential development and morphology of experimentally induced hepatic melanomacrophage centres in *Rivulinus marmoratus* // J. Fish Biol. V. 31. P. 145–153.
- Weeks B.A., Warinner J.E. 1984. Effects of toxic chemicals on macrophage phagocytosis in two estuarine fishes // Mar. Envir. Res. V. 14. P. 327–335.
- Wolf J.C., Baumgartner W.A., Blazer V.S., Camus A.C., Engelhardt J.A., Fournie J.W., Frasca S.Jr., Groman D.B., Kent M.L., Khoo L.H., Law J.M., Lombardini E.D., Ruehl-Fehlert Ch., Segner H.E., Smith S.A., Spitsbergen J.M., Weber K., Wolfe M.J. 2015. Nonlesions, Misdiagnoses, Missed Diagnoses, and Other Interpretive Challenges in Fish Histopathology Studies. A Guide for Investigators, Authors, Reviewers, and Readers // Toxic. Pathology. V. 43. P. 297–325. Doi: 10.1177/0192623314540229.
- Wolke R.E. 1992. Piscine macrophage aggregates: a review // Annu Rev. Fish Dis. V. 2. P. 91–108.
- Wolke R.E., Murchelano R.A., Dickstein C.D., George C.J. 1985. Pigmented macrophage aggregates (MA) as fish health monitors // Bull. Environ. Contamin. Toxicol. V. 35. P. 222–227.
- Zabotkina E.A., Lapirova T.B. 2003. Vliyaniye tyazhelykh metallov na immunofiziologicheskij status ryb [Effect of heavy metals on fish immunophysiological status] // Uspekhi sovremennoji. biologii. T. 123. № 4. S. 401–408. [In Russian]
- Zabotkina E.A., Lapirova T.B., Nazarova E.A. 2009. Influence of cadmium ions on some morphofunctional and immune-physiological parameters of perch (*Perca fluviatilis*, Perciformes, Percidae) underyearlings // J. Ichthyology. V. 49. № 1. P. 111–118. DOI: 10.1134/S0032945209010147

**THE INFLUENCE OF ORGANIC AND INORGANIC TOXICANTS
ON THE MELANO-MACROPHAGE CENTER STRUCTURE OF TELEOSTEI
(A REVIEW)**

E. A. Zabotkina

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: zabel@ibiw.yaroslavl.ru*

The ontogenetic and developmental features of melano-macrophage centers (aggregates) (MMC) depending on the species, feed status, sex, environmental factors were considered. The effect of different pollutant (heavy metals, pesticides, waste water) on the number, size and structure MMA were observed.

Keywords: Teleostei, melano-macrophage centers, ontogenesis, toxicant, environmental factor

УДК 504.45.054-0.34

РТУТЬ В АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТАХ ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПОСЕЛКА ГОРОДСКОГО ТИПА НА БЕРЕГУ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

В. Т. Комов, В. А. Гремячих, Ю. Г. Удоденко, Е. В. Щедрова, М. Е. Елизаров

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

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: vkomov@ibiw.yaroslavl.ru

Определено содержание ртути в почвах, донных отложениях водных объектов и организмах животных из водных и наземных экосистем поселка городского типа и его окрестностей на берегу Рыбинского водохранилища, где промышленное производство отсутствует, а сельское хозяйство находится в депрессивном состоянии. Зарегистрированные концентрации ртути варьировали в диапазоне более двух порядков. В донных отложениях отводного канала очистных сооружений (1.76 мг/кг сухой массы) и прилегающих к канаве почвах (0.12 мг/кг сухой массы) содержание ртути превышало Кларк литосферы.

У водных беспозвоночных концентрации металла в организме были выше у представителей гетеротопных видов (личинки и имаго насекомых – до 0.85 мг/кг сухой массы) и ниже у гомотопных (моллюски – 0.11 мг/кг сырой массы). У паукообразных, ведущих исключительно хищный образ жизни, содержание металла в теле было выше у водных и околководных видов (гидрокарина – до 0.68, охотник каёмчатый – до 0.33 мг/кг сухой массы) и ниже у животных, отловленных в удаленных от водоемов биотопах (пауки-бокоходы – до 0.07 мг/кг сухой массы).

Во всех исследованных группах позвоночных (рыбы, птицы, млекопитающие) более высокие уровни накопления ртути установлены у видов, значительную часть рациона питания которых составляют гидробионты (в мышцах норки, утки-крохала, хищной рыбы – максимально 0.68–1.33 мг/кг сырой массы). Минимальные концентрации характерны для организмов, питающихся растительностью или животными-фитофагами (в мышцах зайца, галки, совы болотной, лисы и енотовидной собаки – 0.004–0.14 мг/кг сырой массы).

Основную ресурсную базу ртути, поступающей с биологическим переносом в наземные экосистемы п. Борок, помимо атмосферных выпадений составляют прилегающие к нему водоемы, в том числе и отводной канал очистных сооружений.

Ключевые слова: аккумуляция ртути, почва, донные отложения, гидробионты, наземные животные.

ВВЕДЕНИЕ

Накопление ртути в отдельных звеньях экосистем, являющихся пищевым ресурсом для теплокровных животных, остается проблемой глобального масштаба до настоящего времени [Driscoll et al., 2013; Wiener, 2013]. Рыба – основной источник поступления особо опасной, метилированной, формы ртути в организм человека, хищных млекопитающих, птиц. Употребление рыбы с высоким содержанием ртути может иметь негативные последствия для здоровья теплокровных животных [Mason et al., 2012; Driscoll et al., 2013]. Токсичность накопленных высоких доз ртути в природных условиях для рыб и беспозвоночных изучена существенно меньше, чем для теплокровных животных. Однако не единичны результаты исследований, свидетельствующие о нарушениях в поведении и функционировании физиологических систем рыб (развитие гонад, выработка половых гормонов) при накоплении ртути в мышцах до концентраций 0.2–1.0 мг/кг сырой массы [Scheuhammer et al.,

2007; Adams et al., 2010]. У личинок хирономид такие концентрации металла в теле увеличивают количество деформаций хитинизированных структур головной капсулы [Гремячих и др., 2006 (Gremyachikh et al., 2006)].

Ртуть, в отличие от других тяжелых металлов, может находиться в атмосфере в течение года, перемещаясь на сотни и тысячи километров от источника ее поступления в окружающую среду [Environmental chemistry, 2012]. В результате чего плотность атмосферных выпадений ртути на земную поверхность выравнивается. Однако неоднородность физико-химических и биологических параметров в водоемах и на их водосборах приводит к различным уровням накопления металла в одних и тех же звеньях трофической сети. Так на ограниченной территории Дарвинского заповедника в озерах, удаленных друг от друга всего лишь на несколько сотен метров, содержание ртути в мышцах рыб отличается почти на порядок [Stepanova, Komov, 1997].

Исходя из того, что ртуть – загрязнитель преимущественно глобального масштаба, а вариабельность абиотических условий и биотических взаимодействий высока даже в пределах небольшого природно-ландшафтного комплекса, представляется целесообразным установить закономерности распределения этого металла в компонентах экосистемы, в которой влияние хозяйственной деятельности имеет умеренное значение.

В связи с этим, цель работы – определе-

ние содержания ртути в почвах, донных отложениях и организмах животных из водных и наземных экосистем поселка городского типа и его окрестностей на берегу Рыбинского водохранилища, где промышленное производство отсутствует, а сельское хозяйство находится в депрессивном состоянии. Отдельная задача – определение содержания ртути в волосах населения поселка, где рацион питания является единственным источником поступления металла в организм человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 1998–2016 гг. исследовали содержание ртути в образцах почв и донных отложений, тканях животных (у беспозвоночных во всем организме) разных систематических и трофических групп, населяющих разные биотопы п. Борок (Некоузский район, Ярославская область) и его окрестностей, а также в волосах его жителей. Пробы почв (аллювиально-акку-

мулятивный горизонт – верхние 10 см) отбирали общепринятым методом на биотопах № 2, 4, 5, 8; донных отложений – драгой и дночерпателем на биотопах № 3, 6, 7 (рис. 1). Паукообразных (из биотопов № 2, 5, 8) и гидробионтов (из биотопов № 3, 6, 7, 9) отлавливали сачком.

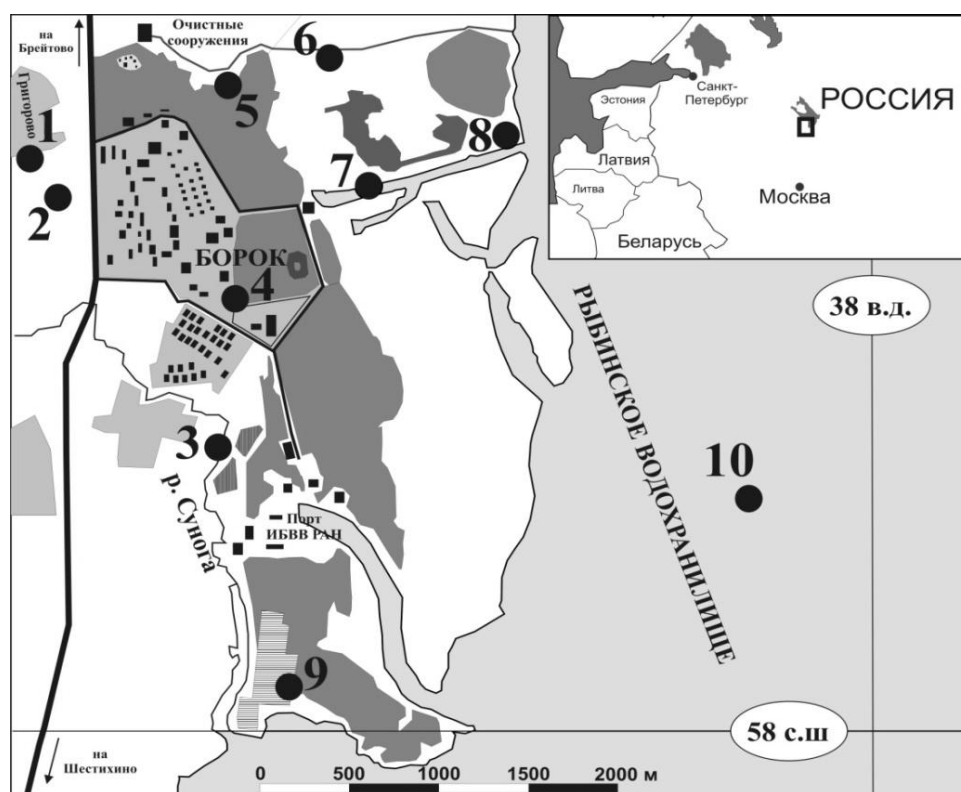


Рис. 1. Карта-схема п. Борок с биотопами, на которых производили отбор проб: 1 – пруды д. Григорево, 2 – суходольный луг, 3 – р. Сунога, 4 – парковая зона п. Борок, 5 – заливной луг, 6 – отводной канал очистных сооружений, 7 – канал водохранилища, 8 – побережье водохранилища, 9 – пруды экспериментальной базы “Сунога”, 10 – Рыбинское водохранилище.

Fig. 1. A schematic map of the s. Borok with biotopes where samples were collected: 1 – ponds of the village of Grigorevo, 2 – dry meadow, 3 – Sunoga River, 4 – a park zone of the settlement of Borok, 5 – water meadow, 6 – drainage way of waste treatment facilities, 7 – the canal of the reservoir, 8 – the littoral part of the reservoir, 9 – ponds of the experimental base “Sunoga”, 10 – Rybinsk Reservoir.

Определение ртути проводили у мелких членистоногих и пауков – в интегральных пробах, у крупных – индивидуально. Рыбу отлавливали в Рыбинском водохранилище и прудах д. Григорево (рис.1, № 1, 10) неводом, ставными сетями и на удочку. Основная часть животных и птиц получена от охотников. Часть млекопитающих (все ежи) и часть птиц – погибшие на автодорогах.

Пробы почв, донных отложений, насекомых, пауков и тканей некоторых животных сушили при температуре 39°C, поэтому была сделана проверка возможной потери металла при сушке. Для этого определение содержания ртути проводили во влажных образцах, затем – через 24, 48, 72 и 96 часов сушки. Все измерения проводили не менее чем в 3-х повторностях. В тексте и таблицах результаты измерений ртути в высушенных образцах отмечены значком “*”. Основную часть биологических проб после отбора помещали в полиэтиленовые пакеты, замораживали и до проведения анализа хранили при температуре 4–14°C.

Содержание ртути в волосах 64-х жителей п. Борок измеряли в 2005 г.

Определение ртути до 2007 г. проводили после предварительной подготовки проб (расщепления биологического материала в смеси

азотной кислоты и перекиси водорода) методом атомной абсорбции холодного пара с использованием резонансной линии 253.7 нм на анализаторе ртути Юлия-5К [Комов и др., 2004 (Komov et al., 2004)]. С 2008 г. – атомно-абсорбционным методом холодного пара на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (Люмэкс) без предварительной подготовки проб в 2–3 повторностях. Точность аналитических методов измерения контролировали с использованием сертифицированного биологического материала DORM-2 и DOLM-2 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада).

Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости $p = 0.05$ [Sokal, Rohlf, 1995]. Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm SE$). В таблицах средние значения исследованных показателей приведены с ошибками среднего, на рисунках – с доверительными интервалами. На рис. 3 и 8 по оси ординат приведены абсолютные значения концентраций ртути в образцах (мг/кг), а гистограмма построена с использованием логарифмической шкалы для тех же концентраций (мкг/кг).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пробы тканей животных, предназначенные для анализа ртути, как правило, не фиксируют формалином или спиртом, т.к. при такой процедуре происходит денатурация белка, и концентрация ртути увеличивается [Luengen et al., 2016]. Поэтому измерение содержания ртути проводят сразу после получения материала или замораживают его и хранят в замороженном состоянии до проведения анализа. Однако насекомые и ткани мелких животных даже при заморозке сильно теряют воду, что приводит к искажению результатов. В этом случае образцы высушивают и хранят в высушенном виде. То же самое относится и к пробам почв и донных отложений. В литературных источниках принято указывать режим сушки, если такой способ применялся. Контроль потери ртути (в форме металла ртуть образует пары даже при комнатной температуре) после сушки не делается.

Для оценки количества ртути, испаряющейся во время высушивания, использовали пробы почв, мышцы окуня, утки-кряквы и норки. Содержание воды в пробах составило 20, 78.1, 70 и 69.9% соответственно. В первые

сутки высушивания образцов происходило основное испарение воды (98.5%), потеря массы в последующее время была незначительной. Сравнение концентраций ртути в высушенных образцах (96 ч), и измеренных во влажных и пересчитанных на воздушно-сухую массу, не выявило статистически значимых различий во всех пробах (рис. 2).

Содержание ртути в образцах почв варьировало в диапазоне 0.009–0.143, донных отложений – 0.003–6.730 мг/кг сухой массы. Максимальные значения показателя и в почвах, и в донных отложениях отмечены для проб, отобранных в районе очистных сооружений посёлка (0.143 и 6.730 мг/кг соответственно) (табл. 1).

У двусторчатых и брюхоногих моллюсков, кольчатых червей, хоботных и бесхоботных пиявок содержание металла не превышало 0.12 мг/кг (живородка болотная), как и у большинства исследованных животных, относящихся к типу членистоногих (табл. 2), за исключением водяного клеща гидрокарины (0.68 мг/кг) и стрекозы лютки (0.38). Концентрации ртути в мышцах представителей хор-

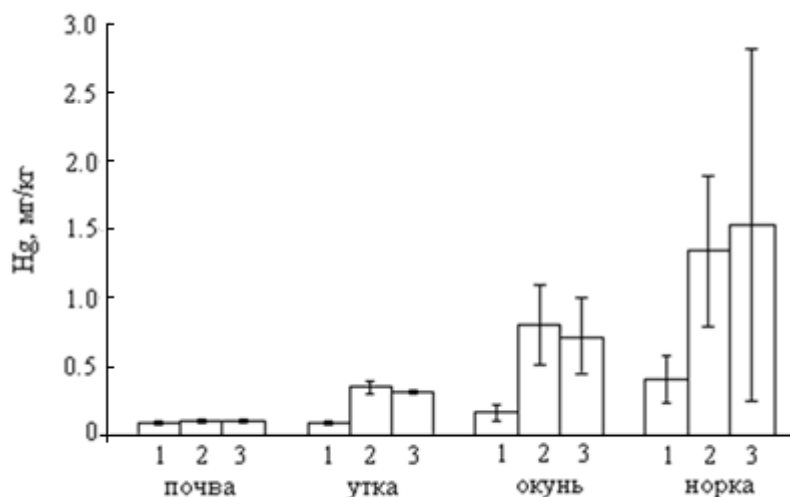


Рис. 2. Концентрации ртути: 1 – во влажной почве и сырых образцах мышц животных (мг/кг сырой массы); 2 – рассчитанная с учётом потери влаги при сушке (мг/кг сухой массы); 3 – в сухих (воздушно-сухих) образцах (мг/кг сухой массы).

Fig. 2. The mercury concentrations: 1 – in wet soil and wet samples of muscles of animals (mg/kg of wet mass); 2 – calculated concentration with regard to the moisture loss of samples during drying (mg/kg of dry mass); 3 – in dry (aerial dry) samples (mg/kg of dry mass).

Таблица 1. Содержание ртути в почве из различных биотопов и донных отложениях водоёмов

Table 1. The mercury concentration in soil from different biotopes and bottom sediments in waterbodies

Образец Sample	Биотоп Biotope	n	Hg, мг/кг сухой массы Hg, mg/kg of dry mass
Почва Soil	суходольный луг	4	0.016 ± 0.002 0.014–0.019
	заливной луг (в районе очистных сооружений)	4	0.120 ± 0.007 0.107–0.143
	парковая зона	4	0.023 ± 0.003 0.018–0.032
	прибрежье водохранилища	4	0.011 ± 0.001 0.009–0.012
	канал	2	0.006 0.003–0.010
Донные отложения Sediments	р. Сунога	4	0.030 ± 0.003 0.027–0.040
	отводная канава очистных сооружений	6	1.760 ± 1.050 0.060–6.730

Примечание. Здесь и в табл. 2 над чертой приведены средние значения и их ошибки ($x \pm SE$), под чертой – min–max.

The table presents: mean values of parameters and their errors ($x \pm SE$) are given above the line, n is in brackets, min–max is under the line.

довых были значительно выше: у большого крохалея (сем. утиные) – до 1.13 мг/кг, американской норки (сем. куньи) – 1.33 (рис. 3). У паукообразных минимальные концентрации металла отмечены для пауков бокоходов (0.01–0.06 мг/кг сухой массы), максимальные – пауков-

пизаурид, именуемых также пауками-рыболовами (0.05–0.33). У разных групп насекомых значение концентраций варьировало в тех же пределах. Исключение составили личинки двукрылых насекомых – хирономиды 0.08–0.85 мг/кг сухой массы и журчалки 0.22–0.81. Последние были отловлены в отводном канале очистных сооруже-

ний посёлка (в других водоёмах не встречались). Водных и амфибиотических представителей класса насекомых отрядов стрекоз, полужёсткокрылых, жесткокрылых и двукрылых отбирали на прудах экспериментальной базы Сунога, р. Сунога, канале и отводной канаве очистных сооружений посёлка. Минимальное среднее содержание ртути зарегистрировано у животных из прудов – 0.05 ± 0.01 и р. Сунога – 0.13 ± 0.02 , выше у насекомых из канала – 0.27 ± 0.08 и максимальное для личинок представителей отряда двукрылых из

отводной канавы очистных сооружений, на других биотопах не встречавшихся – 0.33 ± 0.08 мг/кг сухой массы (рис. 4). Средние значения показателя для насекомых из отводного канала очистных сооружений статистически значимо выше, чем у животных из прудов и р. Сунога. Зависимость содержания ртути в насекомых из разных биотопов от концентрации металла в донных отложениях соответствующих станций отбора образцов статистически не достоверна, но может рассматриваться как тенденция ($r = 0.35$ при $p \leq 0.11$).

Таблица 2. Содержание ртути в беспозвоночных и мышцах хордовых животных

Table 2. The mercury concentration in invertebrates and muscles of chordate animals

Класс/Отряд Class/Order	Семейство Family	Род/ вид Genus/species	n	Hg, мг/кг сырой или сухой* массы Hg, mg/kg of wet or dry* mass
1	2	3	4	5
тип Моллюски (Mollusca)				
Двустворчатые моллюски Bivalvia	Горошины Pisidiidae	Горошина <i>Pisidiidum</i> sp	4	0.01
Брюхоногие моллюски Gastropoda	Живородки Viviparidae	Живородящая лужанка <i>Viviparus viviparus</i> L.	14	0.01
		Живородка болотная <i>Viviparus contectus</i> Millet	3	0.12
		Прудовики <i>Limnaea stagnalis</i> L.	14	0.04
	Прудовики Lymnaeidae	Плещеноска слизистая <i>Amphipeplea glutinosa</i> Stein	13	<u>0.02</u> 0.01–0.02
		Катушки <i>Planorbis nitida</i> Muller	34	0.01
	Катушки Planorbidae	Катушка роговидная <i>Coretus corneus</i> L.	6	0.09
тип Членистоногие (Arthropoda), кл. Паукообразные (Arachnida)				
Тромбидиформные клещи Trombidiformes	Водяные клещи Hydrachnidae	Гидрокарина <i>Hydrocarina</i> sp.	39	<u>0.25 ± 0.15</u> 0.03–0.68
Пауки Araneae	Пауки-цибеиды Cybaeidae	Водяной паук <i>Argyroneta aquatica</i> Clerck	1	0.07
		Охотник каёмчатый <i>Dolomedes fimbriatus</i> Clerck	19	<u>0.16 ± 0.02*</u> 0.05–0.33
		Эварха Evarcha	33	<u>0.08 ± 0.04*</u> 0.02–0.26
	Пауки-скакуны Salticidae	Саитисы Saitis	26	<u>0.03 ± 0.002*</u> 0.02–0.03
		Пауки-гнафозиды Gnaphosidae	31	0.18*
		Пауки-бокоходы Thomisidae	64	<u>0.02 ± 0.003*</u> 0.01–0.04
		Тибеллусы Tibellus	34	<u>0.04 ± 0.02*</u> 0.01–0.07

1	2	3	4	5
		Мизуменопс Misumenops	56	$0.01 \pm 0.001^*$ 0.01–0.02
		Сетепряды Linyphia	25	$0.11 \pm 0.02^*$ 0.09–0.14
	Пауки-тенётники Theridiidae	Теридиум Theridium	175	$0.06 \pm 0.01^*$ 0.01–0.22
	Пауки-кругопряды Araneidae	Зилла Zilla	39	$0.01 \pm 0.006^*$ 0.09–0.10
	Пауки-волки Lycosidae	Трикка Tricca	75	$0.04 \pm 0.01^*$ 0.01–0.09
	Трубковые пауки Dysderidae	Discern	12	0.04*

тип Членистоногие (Arthropoda), кл. Насекомые (Insecta)

Подёнки Ephemeroptera (личинки)	Подёнки двухвостые Baetidae	<i>Baetis</i> sp.	8	0.02 ± 0.01 0.01–0.04
	Грязевые подёнки Caenidae	Ordella	2	0.09 0.01–0.17
	Стрекозы Odonata (личинки)	Коромысла Aeshnidae	3	$0.12 \pm 0.01^*$ 0.11–0.14
Полужесткокрылые Hemiptera (имаго)	Бабки Corduliidae	Бабка Cordulia	40	$0.22 \pm 0.02^*$ 0.03–0.33
		<i>Epitheca</i> sp.	1	0.02
	Настоящие стрекозы Libellulidae	Стрекоза <i>Libellula</i> sp.	1	0.02
	Лютки Lestidae	Лютка <i>Lestes</i> sp.	4	0.30 ± 0.06 0.05–0.38
	Стрелки Coenagrionidae	Стрелка <i>Coenagrion</i> sp.	1	0.02
	Водяные скорпионы Nepidae	Водяной скорпион <i>Nepa cinerea</i> L.	9	$0.12 \pm 0.01^*$ 0.06–0.20
		Ранатра палочковидная <i>Ranatra linearis</i> L.	1	0.23
	Плавты Naucjhidae	Плавт <i>Naucoris cimicoides</i> L.	2	0.05 0.03–0.07
	Плавты длиннохоботные Aphelocheiridae	Афелохирус (плавт) летний <i>Aphelocheirus aestivalis</i> Fabricius	22	$0.11 \pm 0.02^*$ 0.02–0.21
	Гладышевые Notonectidae	Гладыш <i>Notonecta</i> sp.	22	$0.18 \pm 0.02^*$ 0.02–0.39
	Гребляки Corixidae	Гребляк <i>Corixa</i> sp.	1	0.06*
			5	0.11 ± 0.04 0.05–0.18
	Водомерки Gerridae	Водомерка Gerris	23	$0.09 \pm 0.03^*$ 0.01–0.21
	Hydrometridae	Водяной бегун <i>Hydrometra gracilentia</i> Horváth	1	0.15*
Жесткокрылые Coleoptera (имаго)	Водолюбы Hydrophilidae	Водолюб малый <i>Hydrochara caraboides</i> L.	8	$0.10 \pm 0.02^*$ 0.03–0.16
	Плавунцы Dytiscidae	Плавунец широкий <i>Dytiscus latissimus</i> L.	1	0.02
		Нырялка <i>Hydroporus</i> sp.	1	0.1*
			3	0.12
		Лужник <i>Laccophilus</i> sp.	1	0.03*
			1	0.03

1	2	3	4	5
Двукрылые Diptera (личинки)	Трясинники Scirtidae Настоящие комары Culicidae Хирономиды Chironomidae Журчалки Syrphidae	Пузанчик <i>Hyphydrus</i>	9	$0.21 \pm 0.03^*$ 0.03–0.37
		Трясинник <i>Helodes</i> sp.	1	0.12
		Теобальдия <i>Teobaldia</i> sp.	1	0.03
		Хирономус <i>Chironomus</i> sp	1	0.22
		Крыска или эриталис <i>Eristalis</i> sp.	8	$0.32 \pm 0.09^*$ 0.08–0.85
			4	$0.48 \pm 0.15^*$ 0.22–0.81

тип Хордовые (Chordata), кл. Лучепёрые рыбы (Actinopterygii)

Щукообразные Esociformes	Щуковые Esocidae	Щука обыкновенная <i>Esox lucius</i> L.	8	0.33 ± 0.05 0.20–0.62
Карпообразные Cypriniformes	Карповые Cyprinidae	Лещ <i>Abramis brama</i> L.	4	0.08 ± 0.01 0.06–0.1
Окунеобразные Perciformes	Окунёвые Percidae	Окунь речной <i>Perca fluviatilis</i> L.	102	0.26 ± 0.01 0.03–0.68
		Судак обыкновенный <i>Sander lucioperca</i> L.	7	0.12 ± 0.08 0.08–0.14
	Головешковые Odontobutidae	Ротан <i>Perccottus glenii</i> Dybowski	20	0.05 ± 0.02 0.02–0.12

тип Хордовые (Chordata), кл. Птицы (Aves)

Воробьинообразные Passeriformes	Врановые Corvidae	Серая ворона <i>Corvus cornix</i> L.	8	0.10 ± 0.04 0.02–0.36
		Галка <i>Corvus monedula</i> L.	5	0.01 ± 0.002 0.01–0.02
Гусеобразные Anseriformes	Утиные Anatidae	Кряква <i>Anas platyrhynchos</i> L.	3	0.07 ± 0.01 0.05–0.08
	Речные утки Anas	Свиязь <i>Anas penelope</i> L	1	0.04
	Крохали Mergellus	Большой крохаль <i>Mergus merganser</i> L.	3	0.70 ± 0.22 0.40–1.13
		Луток <i>Mergellus albellus</i> L.	1	0.20
Поганкообразные Podicipediformes Sharpe	Поганковые Podicipedidae	Чомга <i>Podiceps cristatus</i> L.	1	0.18
Ржанкообразные Charadriiformes	Чайковые Laridae)	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i> Pontoppidan	1	0.46
		Чайка сизая <i>Larus canus</i> L.	8	0.22 ± 0.05 0.11–0.52
		Чайка малая <i>Larus minutus</i> Pallas	3	0.35 ± 0.08 0.27–0.51
	Крачковые Sternidae	Крачка речная <i>Sterna hirundo</i> L.	1	0.49
	Бекасовые Scolopacidae	Большой кроншнеп <i>Numenius arquata</i> L.	1	0.09
		Вальдшнеп <i>Scolopax rusticola</i> L.	2	0.16 0.15–0.16
Совообразные Strigiformes	Совиные Strigidae	Сова болотная <i>Asio flammeus</i> Pontoppidan	1	0.03

1	2	3	4	5
тип Хордовые (Chordata), кл. Млекопитающие (Mammalia)				
Насекомоядные Insectivora	Ежовые Erinaceidae	Ёж европейский <i>Erinaceus europaeus</i> L.	7	0.16 ± 0.06 0.01–0.4
	Землеройковые Soricidae	Бурозубка <i>Sorex</i> sp.	2	0
	Кротовые Talpidae	Крот обыкновенный <i>Talpa europaea</i> L.	2	0.09 0.06–0.13
	Беличьи Sciuridae	Белка <i>Sciurus</i> sp	1	0.004
Грызуны Rodentia	Бобровые Castoridae	Бобр обыкновенный <i>Castor fiber</i> L.	5	0.01 ± 0.003 0–0.02
	Зайцеобразные Lagomorpha	Заяц-беляк <i>Lepus timidus</i> L.	3	0.002 ± 0.001 0.001–0.004
	Псовые Canidae	Енотовидная собака <i>Nyctereutes procyonoides</i> Gray	5	0.08 ± 0.02 0.03–0.14
	Куны Mustelidae	Лисица <i>Vulpes</i> sp.	7	0.05 ± 0.02 0.01–0.14
Хищные Carnivora		Куница лесная <i>Martes martes</i> L.	1	0.10
		Ласка обыкновенная <i>Mustela nivalis</i> L.	1	0
		Горностай <i>Mustela erminea</i> L.	1	0.0005
		Хорь лесной <i>Mustela putorius</i> L.	2	0.39 0.31–0.48
		Норка <i>Mustela</i> sp	11	0.65 ± 0.12 0.14–1.33
		Выдра речная <i>Lutra lutra</i> L.	1	0.002

Пауки, являясь облигатными хищниками, охотятся на насекомых из разных систематических групп. По системе охоты выделяют две основные эколого-этологические группы: бродячие охотники и тенетники. Статистически значимых различий в накоплении ртути животными этих двух групп выявлено не было, так же как и между животными из луговых биотопов (0.03 ± 0.01 и 0.04 ± 0.01 мг/кг сухой массы). Отмечена активная аккумуляция металла пауками, обитающими в наиболее увлажнённом из исследованных биотопов – побережье Рыбинского водохранилища: 0.15 ± 0.04 мг/кг сухой массы (рис. 5). Зависимость содержания ртути в организме пауков от её концентрации в почвах соответствующих биотопов обитания не выявлена.

Содержание ртути в мышцах рыб варьировало в диапазоне 0.02–0.68, печени окуня – 0.02–0.2 мг/кг сырой массы. Среднее значение показателя в мышцах ротана было самым низким – 0.05 мг/кг сырой массы. Концентрация

металла в мышцах леща – 0.08 – выше, чем в мышцах ротана, еще выше у судака – 0.12, максимальная у окуня и щуки – 0.27 и 0.33 мг/кг сырой массы соответственно (рис. 6). Содержание ртути в мышцах окуня статистически значимо коррелировало с его содержанием в печени ($r = 0.88$ при $p \leq 0.0001$) и с массой рыб ($r = 0.64$ при $p \leq 0.0001$). По приуроченности к определённым биотопам, способу и спектру питания были выделены три группы птиц: неводные (ворона, галка, вальдшнеп и сова болотная), околотоводные фильтраторы (кряква, свиязь и кроншнеп), околотоводные рыбоядные (большой крохаль, луток, чайка серебристая, чайка сизая, чайка малая, чомга, крачка речная). У неводных птиц и околотоводных фильтраторов содержание ртути в мышцах варьировало в диапазоне 0.01–0.36; околотоводных рыбоядных – 0.11–1.13; в печени: 0.02–0.88; 0.16–0.6 и 0.04–3.0 мг/кг сырой массы соответственно (рис. 7).

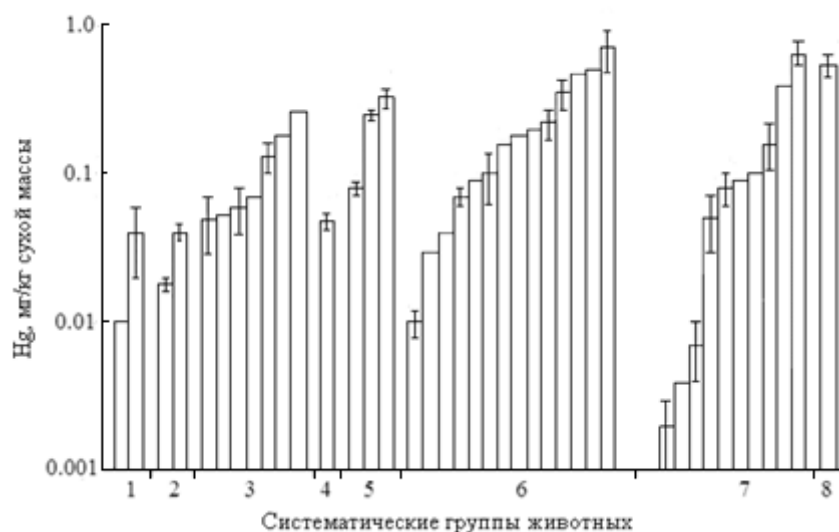


Рис. 3. Содержание ртути у животных разных систематических групп: 1 – моллюски: двустворчатые и брюхоногие; 2 – кольчатые черви: хоботные и глоточные пиявки; 3 – членистоногие: жесткокрылые, стрекозы, подёнки, пауки-цибеиды, полужесткокрылые, водяные клещи, двукрылые; 4 – земноводные; 5 – рыбы: карпообразные, окунеобразные, щукообразные; 6 – птицы: галка, сова, свиязь, кракva, крондшнеп, ворона, вальдшнеп, чомга, луток, чайка сизая, чайка малая, чайка серебристая, крачка, крохоль; 7 – млекопитающие: заяц, белка, бобр, лисица, собака, крот, куница, ёж, хорь, норка; 8 – человек (содержание ртути в волосах).

Fig. 3. The mercury concentration in animals of different systematic groups: 1 – bivalves and gastropods; 2 – annelids: jawless and proboscisless leeches; 3 – arthropods: beetles, dragonflies, mayflies, Cybaeidae, true bugs, water mites, dipterans; 4 – amphibians; 5 – fish: Cypriniformes, Perciformes, Esociformes; 6 – birds: daw, owl, Eurasian widgeon, mallard duck, curlew, crow, woodcock, great-crested grebe, magpie diver, common gull, little gull, European herring gull, morwennol, mergansers; 7 – mammals: hare, squirrel, beaver, fox, raccoon dog, mole, marten, hedgehog, polecat, mink; 8 – human (mercury concentration in hair).

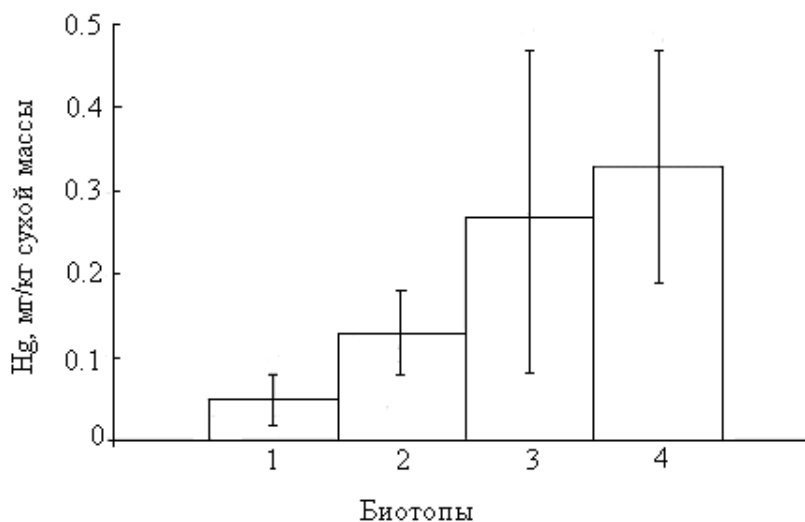


Рис. 4. Содержание ртути в насекомых из разных биотопов п. Борок: 1 – пруды экспериментальной базы “Сунога”, 2 – р. Сунога, 3 – канал, 4 – очистные сооружения.

Fig. 4. The mercury concentration in insects of different biotopes of the s. Borok: 1 – ponds of the experimental base “Sunoga”, 2 – Sunoga River, 3 – canal, 4 – treatment facilities.

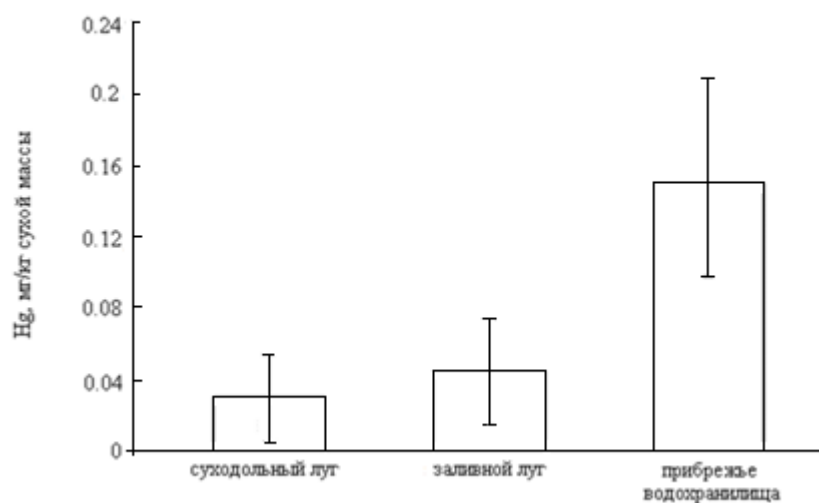


Рис. 5. Содержание ртути в пауках, отловленных на суходольном и заливном лугах, побережье водохранилища (интегральные пробы).

Fig. 5. The mercury concentration in spiders caught of dry and water meadows, in the littoral part of the reservoir (integral sample).

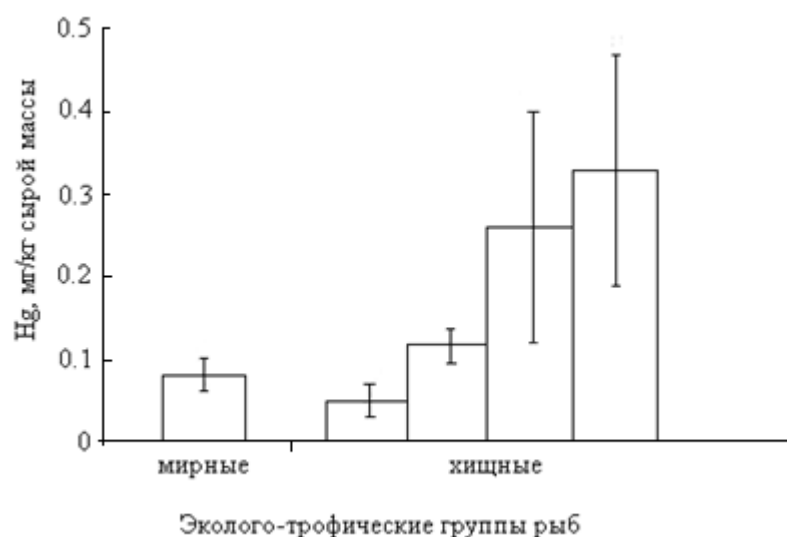


Рис. 6. Содержание ртути в мышцах рыб разных трофических групп.

Fig. 6. The mercury concentration in muscles of fish of different trophic groups.

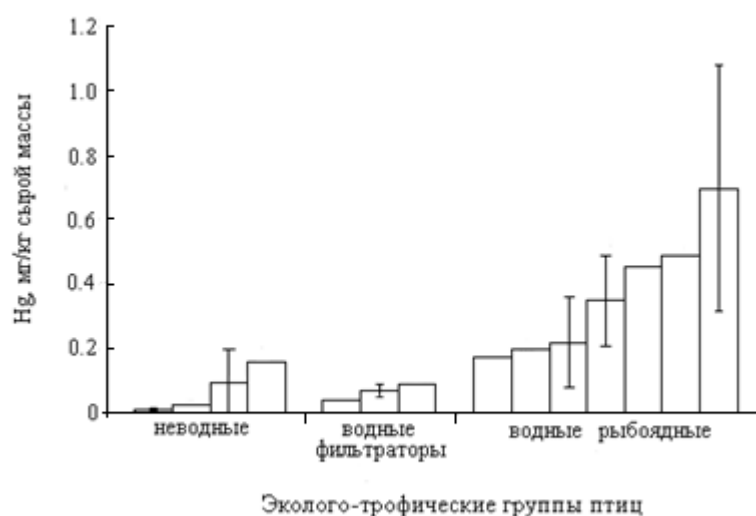


Рис. 7. Содержание ртути в мышцах птиц: неводных – галка, сова, ворона, вальдшнеп; водных фильтраторов – свиязь, кряква, крондшнеп; водных рыбоядных – чомга, луток, чайка сизая, чайка малая, чайка серебристая, крачка речная, крохаль (в порядке перечисления).

Fig. 7. The mercury concentration in muscles of birds: nonaquatic – daw, owl, crow, woodcock; water filterers – widgeon, mallard, curlew; aquatic piscivorous – great-crested grebe, smew, common gull, little gull, herring gull, common tern, merganser (in the listed order).

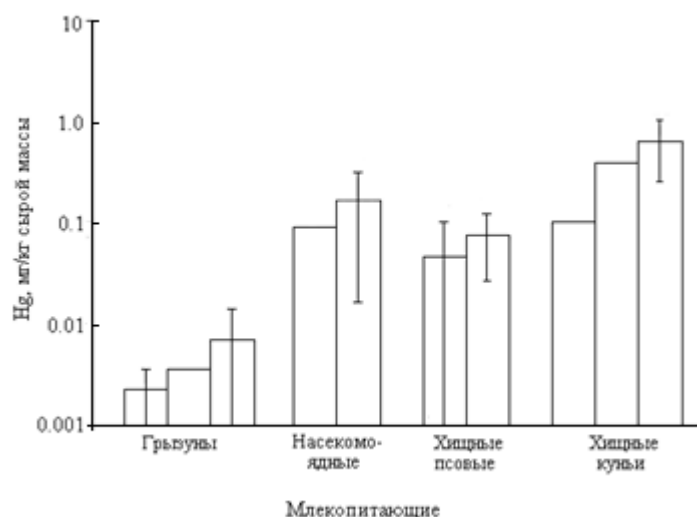


Рис. 8. Содержание ртути в мышцах млекопитающих: грызуны – заяц-беляк, белка, бобр; насекомоядные – крот, ёж; хищные псовые – лисица, енотовидная собака; хищные куны – куница, хорь, норка (в порядке перечисления).

Fig. 8. The mercury concentration in muscles of mammals: rodents – mountain hare, squirrel, beaver; insectivorous – mole, hedgehog; canids – fox, racoon dog; mustelids – marten, polecat, mink (in the listed order).

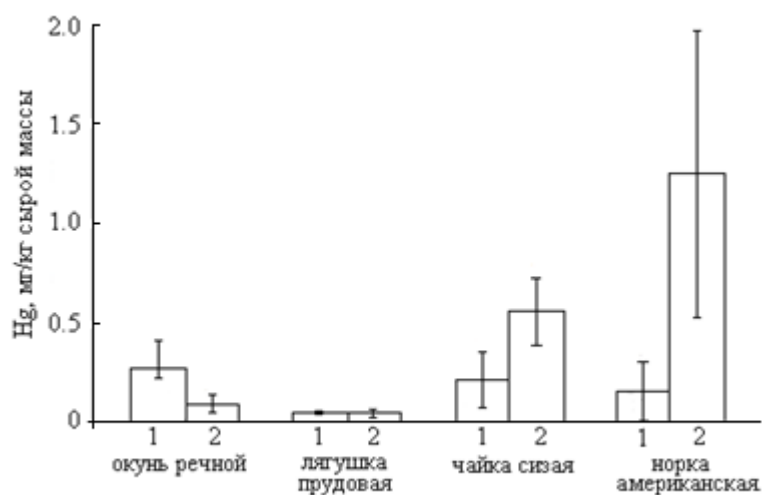


Рис. 9. Содержание ртути в мышцах и печени животных разных систематических групп.

Fig. 9. The mercury concentration in muscles and liver of animals of different systematic groups.

Таблица 3. Содержание ртути в волосах жителей п. Борок и факторы, влияющие на него

Table 3. The mercury concentration in hair of inhabitants of the s. Borok and factors affecting it

Фактор Faktor		Hg, мг/кг Hg, mg/kg		
		мужчины males	женщины females	по всей выборке pooled
пол sex		<u>0.71 ± 0.15 (39)</u> 0.01–5.49	<u>0.29 ± 0.06 (25)</u> 0.01–1.06	<u>0.54 ± 0.10 (64)</u> 0.01–5.49
цвет волос hair colour	светлые light	<u>1.03 ± 0.51 (10)</u> 0.05–5.49	<u>0.70 ± 0.07 (13)</u> 0.01–0.92	<u>0.71 ± 0.15(23)</u> 0.01–1.1
	тёмные dark	<u>0.53 ± 0.09 (23)</u> 0.09–1.42	<u>0.26 ± 0.10 (10)</u> 0.08–1.06	<u>0.45 ± 0.07 (33)</u> 0.08–1.42
	седые grey	<u>0.88 ± 0.38 (6)</u> 0.17–2.52	<u>0.55 (2)</u> 0.2, 0.89	<u>0.80 ± 0.29 (8)</u> 0.17–2.52
курение smoking	курят smokers	<u>0.75 ± 0.19 (29)</u> 0.05–5.49	<u>0.09 (2)</u> 0.08, 0.09	<u>0.71 ± 0.18 (31)</u> 0.05–5.49
	не курят non-smokers	<u>0.60 ± 0.25 (10)</u> 0.09–2.52	<u>0.31 ± 0.06 (23)</u> 0.01–1.06	<u>0.39 ± 0.09 (33)</u> 0.01–2.52
	совсем нет или редко never or seldom	<u>0.46 ± 0.10 (16)</u> 0.09–1.11	<u>0.27 ± 0.07 (16)</u> 0.01–1.06	<u>0.37 ± 0.07 (32)</u> 0.01–2.52
частота употребления рыбы fish consumption rate	часто, речную mainly fresh-water	<u>0.60 ± 0.11 (15)</u> 0.05–1.34	<u>0.29 ± 0.16 (5)</u> 0.08–0.92	<u>0.52 ± 0.09 (20)</u> 0.05–1.34
	часто, морскую mainly marine	<u>0.80 (2)</u> 0.17, 1.42	<u>0.25 ± 0.09 (3)</u> 0.11–0.41	<u>0.47 ± 0.24 (5)</u> 0.11–1.42

Примечание: над чертой – средние значения показателей и их ошибки ($x \pm SE$), в скобках – количество проб (n), под чертой – min–max.

The table presents: mean values of parameters and their errors ($x \pm SE$) are given above the line, n – number of the samples is in brackets, min–max is under the line.

Самая низкая средняя концентрация металла в мышцах и печени отмечена у галки 0.01 и 0.03, самая высокая – у крохали 0.7 и 2.55 мг/кг сырой массы. Установлена статистически значимая корреляционная зависимость между содержанием металла в печени и мышцах исследованных птиц ($r = 0.69, p \leq 0.0001$). У трёх видов околоводных птиц побережья Рыбинского водохранилища (чайка озёрная, крачка малая и крачка чёрная *Chlidonias niger* L.) концентрации металла в белке и желтке яиц составили в среднем 0.13 ± 0.03 и 0.05 ± 0.01 мг/кг сырой массы.

В классе млекопитающих определено содержание ртути у представителей 3-х отрядов: грызунов (белка, бобр, заяц-беляк), насекомоядных (ёж, бурозубка, крот) и хищных (сем. псовые – енотовидная собака, лисица и куны – куница, ласка, горноста́й, хорь, выдра, норка). У грызунов значения показателя были самыми низкими: в мышцах до 0.004, в печени – 0.02 мг/кг сырой массы. У насекомоядных выше: в мышцах до 0.13 мг/кг сырой массы, в печени 0.01–0.5 (рис. 8). В отряде хищных содержание ртути в мышцах животных варьировало от значений, находящихся ниже порога аналитического определения, до 1.33, в печени – 0.1–2.5 мг/кг сырой массы. Самые низкие концентрации ртути зарегистрированы у зайца-беляка – 0.002 в мышцах и 0.02 в печени, а самые высокие – у норки (сем. куны), в рацион питания которой входит в том числе и рыба, – 0.65 в мышцах и 1.25 мг/кг сырой массы в печени. Содержание ртути в мышцах и печени представителей отряд хищных варьировало в диапазоне: у псовых – 0.01–0.14 и 0.03–1.73, у куньих – 0.14–1.33 и 0.2–2.5 мг/кг сырой массы. У млекопитающих также имеет место статистически значимая корреляционная зависимость

между концентрацией ртути в мышцах и печени ($r = 0.70$ при $p \leq 0.0001$).

У рыб содержание ртути в мышцах выше, чем в печени. У земноводных фактически такое же. У птиц и млекопитающих значение показателя в печени выше, чем в мышцах (рис. 9). У всех животных концентрации металла в мышцах и печени статистически значимо коррелируют.

Одна из задач работы – определение фонового содержания ртути в волосах жителей п. Борок Ярославской области, удалённого от каких-либо источников загрязнения металлом, а также установление факторов, способствующих его аккумуляции. Диапазон варьирования концентраций ртути в волосах жителей посёлка, принявших участие в обследовании, составил 0.01–5.49 мг/кг сырой массы. Средний возраст для мужчин – 45.6 ± 2.1 , для женщин – 49.6 ± 1.7 лет. Содержание ртути в волосах представителей этих двух групп, 0.71 ± 0.15 мг/кг и 0.29 ± 0.06 соответственно, различалось статистически значимо, достоверной зависимости показателя от возраста, цвета волос не установлено.

При анализе данных по всей выборке отмечены достоверные различия между самым низким содержанием металла у жителей посёлка со светлыми волосами и самым высоким – с седыми (табл. 3). Из 39 обследованных мужчин 29 оказались курящими, из 25 женщин – только две. Для первых установлена достоверная корреляционная зависимость содержания ртути в волосах от длительности срока курения ($r = 0.31, p < 0.01$). По средним значениям концентрации металла в волосах жители посёлка, употреблявшие в пищу рыбу редко, часто речную или морскую не различались.

ОБСУЖДЕНИЕ

Донные отложения составляют основное хранилище ртути в пресноводных экосистемах [Ullrich et al., 2001]. В зависимости от изменения химических, физических и биологических условий среды они могут выступать в качестве вторичного источника поступления металла в экосистему [Merritt, Amirbahman, 2007; Bacon, Davidson, 2008]. При этом доля метилртути в общем объёме металла составляет 1–1.5% [Mergler et al., 2007]. Фоновые уровни общей ртути в незагрязнённых отложениях сравнимы с её содержанием в поверхностных горизонтах почв: от 0.02 до 0.1 мкг/г сухой массы [Ullrich et

al., 2001]. В донных отложениях регистрируют и экстремально высокие значения ртути: р. Нура (Казахстан) – 10–240 мг/кг, р. Идри́я (Словения) – до 1000 [Gosar et al., 1997; Ullrich et al., 2007].

Концентрации ртути в донных отложениях дельты Северной Двины – 0.02–0.40 мг/кг [Федоров и др., 2011 (Fedorov et al., 2011)], оз. Байкал, датированные 2007 г., т.е. до закрытия Байкальского целлюлозно-бумажного комбината – 0.21–0.42 мг/кг сухой массы [Гелетей и др., 2007 (Geletej et al., 2007)]. В Иркутском водохранилище зарегистрировано среднее содержание ртути 0.03 мг/кг сухой

массы, Новосибирском – 0.064, Братском – до 5.0. Это связано со сбросами в него ртутьсодержащих отходов химического комбината по производству каустической соды АО «Усоль-химпром», г. Усоль-Сибирское [Леонова, 2004 (Leonova, 2004)]. Связь между высокими, по сравнению с фоновыми, концентрациями ртути в естественных водных объектах и интенсивностью антропогенной нагрузки отмечалась многими авторами [Koniarz et al., 2015, Penedo-Hernandez et al., 2015].

Содержание металла в донных отложениях Угличского водохранилища варьировало в диапазоне 0.01–5.08, а в образцах дерново-подзолистых и торфяно-подзолистых почв водосборного бассейна, служащих источником осадкообразующего материала, было ниже – 0.01–0.30 мг/кг сухой массы [Гладкова, Малинина, 2005 (Gladkova, Malinina, 2005)]. В нашем исследовании концентрации ртути в образцах почвы составили 0.009–0.0143, в донных отложениях канала и р. Сунога – 0.003–0.04 мг/кг сухой массы, что сопоставимо с приведёнными выше концентрациями металла для незагрязнённых почв и донных отложений. В отводной канаве очистных сооружений – выше – в среднем 1.76 ± 1.05 , максимально – 6.73 мг/кг сухой массы, как на отдельных участках Братского водохранилища.

Беспозвоночные животные играют существенную роль в биоаккумуляции ртути в водных экосистемах [Кузубова и др., 2000 (Kuzubova et al., 2000)]. Являясь объектом питания для многих водных и околоводных животных и благодаря высоким показателям численности и биомассы, они активно участвуют в процессах биологического самоочищения водоёмов, в потоках веществ (ртути в том числе) и энергии, как между отдельными водными объектами, так и между водными и наземными экосистемами. Изучение содержания ртути в биоте, в первую очередь, проводилось на водоёмах, в непосредственной близости от которых располагались локальные источники загрязнения металлом.

Концентрация металла в зоопланктоне р. Рейн составила 0.4 мг/кг сырой массы, Братского водохранилища – 0.01–0.66 [Комаровский, Полищук, 1981 (Komarovsky, Polishchuk, 1981); Леонова, 2004 (Leonova, 2004)]. Значение показателя для моллюсков р. Рейн – 0.2, членистоногих ракообразных и личинок насекомых оз. Нимертон (США) – 0.36 и 0.14–1.4, р. Холстон (США) – 0.04–3.75 и 0.08–1.43 мг/кг сырой массы соответственно [Комаровский,

Полищук, 1981 (Komarovsky, Polishchuk, 1981); Мур, Рамамурти, 1987 (Mur, Ramamurti, 1987); Rask et al., 1994].

В личинках амфибиотических насекомых из разных регионов России концентрация ртути варьировала в диапазоне 0.01–0.72 мг/кг сухой массы, а именно: из водоёмов республики Адыгея – 0.02–0.72, Вологодской обл. – 0.02–0.07, Воронежской – 0.04–0.15 и Ярославской – 0.01–0.38 [Гремячих и др., 2013 (Gremjachikh et al., 2013)].

Водные беспозвоночные, отобранные в водоёмах пос. Борок, аккумуляровали ртуть в концентрациях 0.01–0.68 мг/кг сырой массы и 0.01–0.85 мг/кг сухой массы. Моллюски исследованы недостаточно, у членистоногих для представителей всех систематических групп (класс, отряд) были отмечены как низкие, так и высокие (в пределах указанного диапазона) концентрации ртути.

Водная среда, стимулируя процессы метилирования соединений ртути, способствует их активному поступлению в пищевые сети, и водные, и наземные. Поэтому высокая озёрность или заболоченность водосборного бассейна водоёма повышает интенсивность аккумуляции ртути гидробионтами и животными из околосводных биотопов [Комов и др., 2010 (Komov et al., 2010); Greenfield et al., 2001], так же как и повышенная увлажнённость мест обитания наземных животных (бурозубки, представители сем. куньих) [Комов и др., 2010 (Komov et al., 2010); Комов и др., 2012 (Komov et al., 2012)]. Уровни накопления ртути паукообразными также зависели от степени увлажнённости биотопа обитания (луг и побережье водохранилища). Самая высокая концентрация металла отмечена для охотника каёмчатого, относящегося к амфибиотическим насекомым. Обитая на берегах озёр, прудов и рек, он охотится, сидя на поверхности воды, или под водой [Иванов, 1965 (Ivanov, 1965)].

Водоёмы и наземные биотопы посёлка по результатам анализа накопления металла беспозвоночными животными следует отнести к незагрязнённым. Исключение составляет отводная канава очистных сооружений, из которой были отобраны личинки двукрылых с концентрацией ртути 0.08–0.85 мг/кг сухой массы.

Работы по изучению содержания ртути в рыбе (в силу актуальности этого вопроса с точки зрения здоровья человека) на территории России проводятся уже давно. Исследованы разные представители ихтиофауны из водоёмов Европейской части, находящихся на

территории Карелии, Архангельской, Вологодской, Ивановской, Костромской, Новгородской, Рязанской, Тверской и Ярославской областей [Степанова, Комов, 1997 (Stepanova, Komov, 1997); Комов и др., 2004 (Komov et al., 2004); Гремячих, Комов, 2008 (Gremjachikh, Komov, 2008); Комов и др., 2009 (Komov et al., 2009); Гремячих и др., 2012 (Gremjachikh et al., 2012); Моисенко, Гашкина, 2016 (Moiseenko, Gashkina, 2016)]. В настоящей работе приводятся данные только по окуню в пересчёте на сырую массу образца мышечной ткани (мг/кг сырой массы).

Содержание ртути в рыбе 10 озёр Карелии варьировало в диапазоне 0.1–1.03 мг/кг сырой массы при массе рыб 12–196 г, оз. Лача Архангельской обл. – 0.10–0.25 (98–249), 12 озёр Вологодской обл. – 0.05–1.06 (20.1–350.5) [Комов и др., 2004 (Komov et al., 2004); Гремячих, Комов, 2008 (Gremjachikh, Komov, 2008)]. По другим данным концентрация металла в окуне озёр Карелии и Архангельской обл. ниже – 0.02–0.33 мг/кг сухой массы (масса рыб не приводится) [Моисенко, Гашкина, 2016 (Moiseenko, Gashkina, 2016)]. В рыбе из 5 озёр Костромской обл. значения показателя составили 0.06–0.33 мг/кг сырой массы при массе рыб 22.2–59.4, оз. Неро и оз. Плещеево Ярославской обл. – 0.01–0.22 (15–688), устья р. Созь Тверской обл. – 0.38 ± 0.01 (72 ± 6.0) [Комов и др., 2004 (Komov et al., 2004); Гремячих, Комов, 2008 (Gremjachikh, Komov, 2008)]. В окуне из 15 озёр государственного природного заповедника “Рдейский” Новгородской обл. содержание ртути варьировало в диапазоне 0.01–2.40 мг/кг сырой массы при массе рыб 8–209 г [Комов и др., 2009 (Komov et al., 2009)]. Максимальные фоновые концентрации ртути в рыбе из незагрязнённых пресных водоёмов – 0.2 мг/кг сырой массы, хотя для хищных видов и рыб из водоемов возле источников поступления металла значения показателя могут быть значительно выше [Ullrich et al., 2001]. Средние концентрации металла в мышцах рыб Волжского плёса Рыбинского водохранилища и прудов д. Григорево не превышали максимальные фоновые для незагрязнённых водоёмов – 0.05–0.12 и были ожидаемо выше у хищных видов – окуня и щуки (0.26 и 0.33 мг/кг сырой массы соответственно).

Основная доля работ, по изучению ртутного загрязнения с использованием в качестве объекта исследования птиц, приходится на преимущественно рыбоядных представителей этого класса, места обитания которых приуро-

чены к водоёмам. Скопа *Pandion haliaetus*, распространённая в обоих полушариях, единственный представитель семейства скопиных (Pandionidae) – хищная птица, в рационе питания которой преобладает рыба – наилучшим образом подходит для этих целей.

В 1991–1994 гг. исследовали гнездовья скопы, располагавшиеся в районе пресноводных Великих озёр на территории США и Канады [Hughes et al., 1997]. Основной объект питания птицы в этом регионе – жёлтый окунь. Концентрация ртути в мышцах 4–5-ти летнего окуня 0.24–0.6 мг/кг сухой массы. У скопы содержание металла составило: в яйцах – 0.42–1.4 мг/кг сухой массы, перьях птенцов 28–35-ти дневного возраста – 2.14–10.98, перьях взрослых птиц – 6.7–28.8. Результаты пространственного анализа ртутной нагрузки на водоёмы по значению показателя в перьях птенцов скопы и мышечной ткани желтого окуня совпадали в наибольшей степени. По мнению авторов, концентрация ртути в яйцах скопы отражала ртутную нагрузку на биотопы размножения, зимовок и путей миграции, в перьях – условия питания на биотопах обитания.

Содержание ртути в гомогенате яиц скопы бассейна рек Фразер и Колумбия (северо-западное побережье Тихого океана) было ниже и варьировало в диапазоне 34.1–118 мг/кг сухой массы [Elliot et al., 2000]. Гнездовья птиц располагались ниже мест стока в реки бытовых и промышленных вод.

В нашем случае определение содержания ртути в яйцах птиц побережья Рыбинского водохранилища проводилось из расчёта на сырую массу. Сравнить полученные данные с уже имеющимися не представляется возможным из-за отсутствия данных по потере влаги содержимым яиц при сушке. Однако очевидно, что гомогенизация содержимого яиц лишает возможности выявить разницу между концентрацией металла в белке и желтке.

У других представителей рыбоядных птиц – чаек Форстера из залива Сан-Франциско (Калифорния) – отмечено изменение в содержании ртути в пухе, а в последующем, в перьях птенцов по мере их роста [Askerman et al., 2011]. По мнению авторов, высокие концентрации металла в пухе объясняются вкладом материнского организма. Последующее их снижение – переходом птиц на самостоятельное питание. Повышение содержания ртути в перьях чаек, авторы связывают с увеличением их массы и замедлением роста перьев. Концентрация металла в мышцах птиц составила

0.4–1.2, печени – 0.9–1.0 мг/кг сухой массы.

Содержание ртути в мягких тканях белохвостого орлана *Haliaeetus albicilla* и скопы, отловленных на территории Польши (преимущественно западной её части), варьировало в мышцах в интервале 0.45–2.91 и 2–3.51, печени – 0.92–3.76 и 2.33–3.76 мг/кг сухой массы [Kalisinska et al., 2014].

Из рыбоядных птиц, обитающих в окрестностях посёлка, только у большого крохала содержание ртути в мышцах и печени соответствовало уровню показателя у белохвостого орлана и скопы, отловленных на загрязнённых территориях Польши. В табл. 2 приведены данные в пересчете на сырую массу. Проведённый нами эксперимент по определению потери влаги при сушке образцов тканей (в том числе у кряквы), позволяет внести необходимые коррективы и сравнивать наши данные с имеющимися в литературе. Концентрации металла в мягких тканях остальных рыбоядных птиц (всех видов чаек, лутка, кряквы и чомги) находятся в границах средних значений для данной группы птиц. Ещё ниже значение показателя для водных фильтраторов (в рационе преобладает растительная пища) и птиц, место обитание которых не приурочено непосредственно к водоёмам. Среди них по уровню накопления металла в органах и тканях выделяется серая ворона, птица всеядная, питающаяся в том числе и рыбой, и вальдшнеп, обитатель сильно увлажнённых, заболоченных лесов.

При изучении накопления ртути млекопитающими животными в первую очередь привлекают внимание представители отр. хищные. Содержание металла в печени выдр и норок (сем. куны) Северной Америки варьировало в пределах 0.26–8.66 и 0.85–10.0 мг/кг сырой массы [Evans et al., 2000]. Высокие концентрации ртути в органах этих животных связаны, вероятно, с их преимущественным питанием рыбой [Wiener et al., 2002].

Концентрации общей ртути в мышцах и печени хищных млекопитающих семейства Куны Вологодской области составили 0.01–1.44 и 0.01–2.27 мг/кг сырой массы [Комов и др., 2012 (Komov et al., 2012)]. Самое высокое содержание металла было отмечено для американской норки (в мышцах 0.25–5.08, печени 0.57–6.49), среднее – для куницы (0.10–1.44 и 0.11–2.27), самое низкое – для горностая (0.03–0.06 и 0.04–0.12) и ласки (0.01–0.44 и 0.01–0.64 мг/кг сырой массы). У куниц с удалением мест их обитания от промышленно-развитых

районов области значение показателя снижалось, а с увеличением среднегодового количества осадков, доли территории, занятой озёрами и низинными болотами, – возрастало.

У лис (сем. псовые), отловленных в 2004–2009 гг. в западных областях Польши, Хорватии и Италии, содержание ртути в печени и почках составило 0.007–0.06 [Alleva et al., 2006; Kalisinska et al., 2009; Bilandzic et al., 2010], а на более загрязнённых территориях Испании и острове Милин (Польша) – 0.30–1.28 мг/кг сырой массы [Millan et al., 2008; Kalisinska et al., 2009]. Значение показателя в мышцах и печени представителей семейства псовых Череповецкого района Вологодской области (Россия) варьировало в диапазоне 0.01–0.32 и 0.11–0.64 – у лис, 0.03–0.54 и 0.07–0.96 мг/кг сырой массы – у енотовидных собак [Komov et al., 2016].

В нашем исследовании представители класса млекопитающих, обитающие в окрестностях п. Борок, по уровню содержания ртути в мышцах расположились в следующее порядке: хищные (куны) > насекомоядные > грызуны. Значение показателя для псовых и куньих ниже литературно известных для животных районов и территорий, подверженных сильному антропогенному воздействию, однако, сопоставимо с ними.

По данным Всемирной организации здравоохранения большую часть ртути человек получает при частом употреблении в пищу рыбы и морепродуктов [WHO, 1991]. Поэтому основная часть работ по изучению содержания металла в волосах населения (в отсутствие локальных источников ртути) проводилась и проводится в тех регионах мира, где рыба является основным источником белка для подавляющего большинства жителей – в островных, расположенных на берегах мировых океанов и развивающихся государствах. В Куала-Лумпур (Малайзия), значительном торгово-промышленном центре страны, средний уровень общего содержания ртути в волосах жителей составил 3.36 (0.59–18.73 мг/кг) [Alakili et al., 2008]. Установлена положительная значимая корреляция между общей концентрацией ртути в волосах представителей местного населения и количеством еженедельно потребляемой ими рыбы. Менее выраженной была зависимость значений показателя от возраста, пола и принадлежности к определённой этнической группе (малайской, китайской, индийской), что авторы связали с разницей в пищевых предпочтениях. Многие авторы и до этого

признавали определяющим фактором для процессов аккумуляции металла в волосах наличие в пищевом рационе значительных количеств рыбы и морепродуктов. Влияли на накопление и пол, возраст, наличие вредных привычек, социальное положение и пр. [Sarmani et al., 1994; Dickman et al., 1998; Feng et al., 1998].

Для жителей индийского г. Калькутта и расположенной в его окрестностях рыбацкой деревни Сундарбан из всех исследованных факторов (возраст, образ жизни, курение, употребление алкоголя и морепродуктов в значительных количествах) определяющими для аккумуляции ртути в волосах оказались возраст и место проживания [Gibb et al., 2016]. Концентрация ртути у жителей развивающихся стран Кении, Индонезии, Танзании составила 0.48–4.6 и у более 61% обследованных превышала 1 мг/кг [Trasande et al., 2016]. С увеличением значения показателя авторами отмечено снижение уровня интеллекта у пациентов.

В России в специализированных учреждениях проводятся исследования содержания металла в волосах и других средах (кровь, моча) пациентов, как правило, в тех случаях, когда есть подозрение на отравление ртутью. В последнее время появились работы, в которых делается попытка оценить ситуацию с загрязнением на территориях, испытывающих различную ртутную нагрузку: от природоохранных заповедников до крупных промышленных центров. В крупном промышленном г. Череповец, расположенном на противоположной стороне Рыбинского водохранилища севернее п. Борок, было проведено исследование концентрации ртути в волосах 217 (155

женщин и 62 мужчин) [Максимова, Иванова, 2016 (Maksimova, Ivanova, 2016)]. Минимальное значение показателя было ниже порога аналитического обнаружения (около 0), максимальное – 3.05, и только у 2% обследованных превышало 1 мг/кг. Достоверных различий по содержанию ртути между женщинами и мужчинами обнаружено не было, в отличие от более высоких значений показателя для возрастной группы старше 35 лет. Авторы констатировали, что концентрация металла в волосах жителей города не превышает биологически допустимых значений (5.0 мг/кг), принятых в РФ. Однако по данным Всемирной организации здравоохранения содержание ртути в волосах, превышающее 2 мг/кг, удваивает риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [WHO, 2004].

У 64-х обследованных жителей поселка (25 женщин и 35 мужчин) содержание ртути в волосах варьировало в диапазоне 0.01–5.49 мг/кг. У мужчин значение было выше и зависело от стажа курения. То, что не было выявлено различий между группами, употребляющими с разной частотой рыбу, связано, возможно, с ограниченностью выборки. Зависимости содержания металла в волосах от возраста не выявлено: по этому признаку группы обследованных жителей посёлка были однородны. То, что максимально высокая концентрация ртути (5.49 мг/кг) была установлена для одного мужчины, и только у 3% обследованных она превышала 2 мг/кг, свидетельствует, что и по этому показателю существенных проблем с загрязнением ртутью в посёлке нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Почвы и донные отложения водоемов п. Борок и прилегающих к нему территорий в связи с низким содержанием в них ртути не могут быть источниками поступления токсичных соединений металла в биотические компоненты экосистем. Исключение составляет объект хозяйственной деятельности – отводной канал очистных сооружений, однако, масштабы этого сооружения невелики по сравнению с объемами водохранилища и других водоемов в пределах обследованной территории. Поступление ртути из отводного канала в окружающие его биотопы ограничено. Несмотря на высокие концентрации ртути в его донных отложениях и обитающих там беспозвоночных, содержание металла в пауках,

отловленных в непосредственной близости отводного канала, не отличается от уровней накопления ртути в пауках с суходольного луга, т.е. на значительном расстоянии от канала. Корреляционной зависимости между содержанием ртути в почвах и пауках не отмечено, что может свидетельствовать о незначительном поступлении металла в биотические компоненты из почв, в отличие от водоемов, где установлена слабая связь между уровнем накопления его в гидробионтах и содержанием в донных отложениях. Выявленные отличия в накоплении ртути между представителями гомотопных и гетеротопных организмов свидетельствуют, что гетеротопные организмы, накапливающие большее количество металла,

с одной стороны, опасны для поедающих их животных, а с другой – могут быть каналом переноса потенциально токсичных соединений из водных экосистем в наземные. Максимальные уровни накопления ртути в мышцах рыб зарегистрированы у окуня и щуки, преимущественно хищных видов, а у птиц и млекопитающих наибольшие концентрации ртути определены у представителей, в рацион питания которых входят рыбы и другие гидробионты. Хищные птицы и млекопитающие, в рацион питания которых рыба и гидробионты не входят, накапливают ртуть в незначительных количествах, соизмеримых с содержанием металла в организмах гомотопных видов или растительноядных животных. Что свидетель-

ствует, во-первых, о небольшом участии растительности в процессах миграции ртути и, во-вторых, о преимущественной приуроченности поступления ртути в биотические компоненты к водным экосистемам. Установленные уровни содержания ртути в волосах жителей поселка соизмеримы с концентрациями в биологическом материале животных, питающихся рыбой, и значительно выше, чем у растительноядных. Несмотря на умеренные уровни содержания металла в волосах жителей поселка, где нет других значительных источников поступления металла в организм, кроме пищи (употребления рыбы из местных водоемов), риск для здоровья некоторых групп населения существует.

Авторы выражают благодарность сотруднику лаборатории физиологии и токсикологии водных животных, к.б.н. Л.Н. Лапкиной и выпускнице Воронежского ГУ В.А. Королёвой за предоставленные данные по червям и наукообразным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гелетей В.Ф., Калмычков Г.В., Пархоменко И.Ю. Ртуть в осадочной толще озера Байкал // Геохимия. 2007. № 2. С. 199–207.
- Гладкова Н.С., Малинина М.С. Модель распределения валовой ртути в профиле лесных подзолистых почв // Почвоведение. 2005. № 8. С. 848–854.
- Гремячих В.А., Гребенюк Л.П., Комов В.Т., Степанова И.К. Накопление ртути и ее тератогенное действие на личинок *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) // Биология внутр. вод. 2006. № 1. С. 99–107.
- Гремячих В.А., Комов В.Т. Особенности накопления ртути в мышцах окуня // Состояние экосистемы озера Неро в начале XXI века. М.: Наука, 2008. С. 263–275.
- Гремячих В.А., Комов В.Т., Транквилевский Д.В., Шаповалов М.И., Моторин А.А. Содержание ртути в водных и амфибиотических насекомых различных водоёмов и водотоков европейской части России // Гидроэнтомология в России и в сопредельных странах: Матер. V Всероссийского симпозиума по амфибиотическим и водным насекомым. Борок, 2013. С. 46–51.
- Иванов А.В. Пауки. Их строение, образ жизни и значение для человека. Л.: Типография ЛОЛГУ, 1965. 304 с.
- Комаровский Ф.Я., Полищук Л.Р. Ртуть и другие тяжелые металлы в водной среде: миграции, накопление, токсичность для гидробионтов // Гидробиол. журн. 1981. Т. XVII. № 5. С. 71–83.
- Комов В.Т., Степанова И.К., Гремячих В.А. Содержание ртути в мышцах рыб из водоемов Северо-Запада России: причины интенсивного накопления и оценка негативного эффекта на состояние здоровья людей // Актуальные проблемы водной токсикологии: Сб. тез. докл. Борок, 2004. С. 99–123.
- Комов В.Т., Гремячих В.А., Камшилова Т.Б., Лобус Н.В. Содержание ртути в мышцах окуня из озёр Полистово-Ловатского верхового болотного массива // Труды государственного природного заповедника «Рдейский». Великий Новгород. 2009. С. 102–115.
- Комов В.Т., Гремячих В.А., Сапельников С.Ф., Удоденко Ю.Г. Содержание ртути в почвах и в мелких млекопитающих различных биотопов Воронежского заповедника // Ртуть в биосфере. Эколого-геохимические аспекты: Матер. Международного симпозиума. М.: ГЕОХИ РАН, 2010. С. 281–286.
- Комов В.Т., Стёпина Е.С., Гремячих В.А., Поддубная Н.Я., Борисов М.Я. Содержание ртути в органах млекопитающих семейства куньих (Mustelidae) Вологодской области // Поволжский экол. ж. 2012. № 4. С. 385–393.
- Кузубова Л.И., Шуваева О.В., Аношин Г.Н. Метилртуть в окружающей среде: распространение, образование в природе, методы определения. Аналит. обзор // Экология. Вып. 59. Новосибирск: ГПНТБ СОРАН, 2000. 82 с.
- Леонова Г.А. Биогеохимическая индикация загрязнения водных экосистем тяжёлыми металлами // Водн. ресурсы. 2004. Т. 31. № 2. С. 215–222.
- Максимова О.Ю., Иванова Е.С. Содержание ртути в волосах жителей г. Череповец Вологодской области // Международный студенческий научный вестник. 2016. №4. С. 268–272.
- Моисеенко Т.И., Гашкина Н.А. Биоаккумуляция ртути в рыбах как индикатор уровня загрязнения вод // Геохимия. 2016. № 6. С. 495–504.
- Мур Дж. В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. М.: Мир, 1987. 288 с.

- Федоров Ю.А., Овсепян А.Э., Лисицын А.П., Доценко И.В., Новигатский А.Н., Шевченко В.П. Закономерности распределения ртути в донных отложениях по разрезу река Северная Двина – Белое море // Доклады академии наук. 2011. Т. 436. № 1. С. 99–102.
- Ackerman J.T., Eagles-Smith C.A., Herzog M.P. Bird mercury concentrations change rapidly as chicks age: toxicological risk is highest at hatching and fledging // Environ. Sci. Technol. 2011. V. 45. P. 5418–5425.
- Adams D.H., Sonne C., Basu N., Dietz R., Nam D.H., Leifsson P.S., Jensen A.L. Mercury contamination in spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*: An assessment of liver, kidney, blood and nervous system health // Sci. Total Environ. 2010. V. 408. P. 5808–5816.
- Alakili I., Bobaker A.M., Sarmani S.B., Elkhidir E. Determination of total mercury concentration level in hair of the Kuala Lumpur residents: A Linear Regression Approach // Garyounis Univ. Press J. Sci. Its Appl. 2008. V. 2. № 1. P. 52–59.
- Alleve E., Francia N., Pandolfi M., De Marinis A.M., Chiarotti F., Santucci D. Organochlorine and heavy-metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro province, Italy: an analytic overview for potential bioindicators // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2006. V. 51. P. 123–134.
- Bacon J.R., Davidson C.M. Is there a future for sequential chemical extraction? // Analyst. 2008. V. 133. P. 25–46.
- Bilandzic N., Dezdek D., Sedak M., Dokic M., Solomun B., Varenina I., Knezevic Z., Slavica A. Concentrations of trace elements in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and stone marten (*Martes foina*) from suburban and rural areas in Croatia // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2010. V. 85. P. 486–491.
- Dickman M., Leung C., Leung M. Hong Kong male subfertility links to mercury in human hair and fish // Sci. Total Environ. 1998. V. 214. P. 165–174.
- Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. Mercury as a global pollutant: Sources, pathways, and effects // Environ. Sci. Technol. 2013. V. 47. P. 4967–4983.
- Elliot J.E., Machmer M.M., Wilson L.K., Henny C.J. Contaminants in ospreys from the Pacific Northwest: organochlorine pesticides, polychlorinated biphenils, and mercury, 1991–1997 // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2000. V. 38. P. 93–106.
- Environmental chemistry and toxicology of mercury. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2012. 596 p.
- Evans R.D., Addison E.M., Villeneuve J.Y., MacDonald K.S., Joachim D.G. Distribution of inorganic and methylmercury among tissues in mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra canadensis*) // Environ. Res. (Sect. A). 2000. V. 84. P. 133–139.
- Feng Q., Suzuki Y., Hisashige A. Hair mercury levels of residents in China, Indonesia and Japan // Arch. Environ. Health. 1998. V. 53. № 1. P. 36–44.
- Fortin C., Beauchamp G., Dansereau M., Lariviere N., Belanger D. Spatial variation in mercury concentrations in wild mink and river otter carcasses from the James Bay Territory, Quebec, Canada // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2001. V. 40. P. 121–127.
- Gibb H., O'Leary K.G., Sarkar S.K., Wang J., Liguori L., Rainis H., Smith K.A., Chatterjee M. Hair mercury concentrations in residents of Sundarban and Calcutta, India // Environ. Res. 2016. V. 150. P. 616–621.
- Gosar M., Pirc S., Bidovec M. Mercury in the Idrija River sediments as a reflection of mining and smelting activities of the Idrija mercury mine // J. Geochem. Exploration. 1997. V. 58. P. 125–131.
- Greenfield B.K., Hrabik T.R., Harvey C.J., Carpenter S.R. Predicting mercury levels in yellow perch: use of water chemistry trophic ecology and spatial taints // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2001. № 58. P. 1419–1429.
- Hughes K.D., Ewins P.J., Clark K.E. A comparison of mercury levels in feathers and eggs of osprey (*Pandion haliaetus*) in the North American Great Lakes // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1997. V. 33. P. 441–452.
- Kalisinska E., Lisowski P., Salicki W., Kucharska T., Kavetska K. Mercury in wild terrestrial carnivorous mammals from north-western Poland and unusual fish diet of red fox // Acta. Theriol. 2009. V. 54. P. 345–356.
- Kalisinska E., Gorecki J., Lanocha N., Okonska A. Total and methylmercury in soft tissues of white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) and osprey (*Pandion haliaetus*) collected in Poland // AMBIO. 2014. V. 43. P. 858–870. DOI 10.1007/s13280-014-0533-8.
- Komov V.T., Ivanova E.S., Gremyachikh V.A. Mercury content in organs and tissues of indigenous (*Vulpes vulpes* L.) and invasive (*Nyctereutes procyonoides* Gray) species of canids from areas near Cherepovets (North-Western) // Bull Environ Contam Toxicol. 2016. V. 97. № 4. P. 480–485. DOI 10.1007/s00128-016-1891-7.
- Koniarz T., Tarnawski M., Baran A., Florenska N. Mercury contamination of bottom sediments in water reservoirs of southern Poland // Geology, Geophysics and Environment. 2015. V. 41. № 2. P. 169–175.
- Luengen A.C., Foslund H.V., Greenfield B.K. Decline in methylmercury in museum-preserved bivalves from San Francisco Bay, California // Sci. Total Envir. 2016. V. 572. P. 782–793.
- Mason R.P., Choi A.L., Fitzgerald W.F., Hammerschmidt C.R., Lamborg C.H., Soerensen A.L., Sunderland E.M. Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications // Environ. Res. 2012. V. 119. P. 101–117.
- Mergler D., Anderson H.A., Chan L.H.M., Mahaffey K.R., Murray M., Sakamoto M., Stern A.H. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern // Ambio: J. Hum. Environ. 2007. V. 36. P. 3–11.
- Merritt K.A., Amirbahman A. Mercury dynamics in sulfide-rich sediments: geochemical influence on contaminant mobilization within the Penobscot River estuary, Maine, USA // Geochim. Cosmochim. Acta. 2007. V. 71. P. 929–941.
- Millan J., Mateo R., Taggart M.A., Lopez-Bao J.V., Viota M., Monsalve L., Camarero P.R., Blazquez E., Jimenez B. Levels of heavy metals and metalloids in critically endangered *Iberian lynx* and other wild carnivores from Southern Spain // Sci. Total Environ. 2008. V. 399. P. 193–201.

- Penedo-Hernandez J., Marrugo-Negrete J., Diez S. Speciation and bioavailability of mercury in sediments impacted by gold mining in Colombia // *Chemosphere*. 2015. V. 119. P. 1289–1295.
- Rask M., Metsälä T.R., Salonen K. Mercury in the food chains of a small polyhumic forest lake in Southern Finland // *Mercury pollution: integration and synthesis*. Boca Raton: Florida: Lewis Publ., 1994. P. 409–425.
- Sarmani S., Kiprawi A., Ismail R. Mercury determination in hair of Malaysian fishermen by neutron activation analysis // *Biol. Trace Element. Res.* 1994. V. 44. P. 435–441.
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. Effects of environmental methylmercury on health of wild birds, mammals, and fish // *AMBIO*. 2007. V. 36. P. 12–18.
- 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.
- Stepanova I.K., Komov V.T. Mercury accumulation in fish from water bodies of the Vologodskaya Oblast // *Russ. J. Ecol.* 1997. V. 28. № 4. P. 260–265.
- Trasande L., DiGangi J., Evers D.C., Petrlik J., Buck D.G., Beeler B., Turnquist M.A., Regan K. Economic implications of mercury exposure in the context of the global mercury treaty: hair mercury levels and estimated lost economic productivity in selected developing countries // *J. Environ. Management*. 2016. V. 183. P. 229–235.
- Ullrich S.M., Tanton T.W., Abdrashitova S.A. Mercury in the aquatic environment: A review of factors affecting methylation. *Critical Reviews // Environ. Sci. Technol.* 2001. V. 31. № 3. P. 241–293.
- Ullrich S.M., Ilyushchenko M.A., Uskov G.A., Tanton T.A. Mercury distribution and transport in a contaminated river system in Kazakhstan and associated impacts on aquatic biota // *Applied Geochemistry*. 2007. № 22. P. 2706–2734.
- WHO. *Inorganic mercury // Environmental Health Criteria. International Program on Chemical Safety*. Geneva: WHO, 1991. № 118. 134 p.
- WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants (Sixty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) // *WHO Technical Report Series*. № 922. Geneva: WHO, 2004. 176 p.
- Wiener J.G., Krabbenhoft D.P., Heinz G.H., Scheuhammer A.M. *Ecotoxicology of mercury // Handbook of Ecotoxicology*. Boca Raton: Lewis Publishers, 2002. P. 409–463.
- Wiener J.G. Mercury exposed: Advances in environmental analysis and ecotoxicology of a highly toxic metal // *Environ. Toxicol. Chem.* 2013. V. 32. № 10. P. 2175–2178.
- Yates D.E., Mayach D.T., Munney K., Evers D.C., Major A., Kaur T., Taylor R.J. Mercury Levels in Mink (*Mustela vison*) and River Otter (*Lontra canadensis*) from Northeastern North America // *Ecotoxicology*. 2005. V. 14. P. 263–274.

REFERENCES

- Ackerman J.T., Eagles-Smith C.A., Herzog M.P. 2011. Bird mercury concentrations change rapidly as chicks age: toxicological risk is highest at hatching and fledging // *Environ. Sci. Technol.* V.45. P. 5418–5425.
- Adams D.H., Sonne C., Basu N., Dietz R., Nam D-H., Leifsson P.S., Jensen A.L. 2010. Mercury contamination in spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*: An assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health // *Sci. Total Environ.* V. 408. P. 5808–5816.
- Alakili I., Bobaker A.M., Sarmani S.B., Elkhidir E. 2008. Determination of total mercury concentration level in hair of the Kuala Lumpur residents: A Linear Regression Approach // *Garyounis University Press Journal of Science and Its Applications*. V. 2. № 1. P. 52–59.
- Alleva E., Francia N., Pandolfi M., De Marinis A.M., Chiarotti F., Santucci D. 2006. Organochlorine and heavy-metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro province, Italy: an analytic overview for potential bioindicators // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* V. 51. P. 123–134.
- Bacon J.R., Davidson C.M. 2008. Is there a future for sequential chemical extraction? // *Analyst*. V. 133. P. 25–46.
- Bilandzic N., Dezdek D., Sedak M., Dokic M., Solomun B., Varenina I., Knezevic Z., Slavica A. 2010. Concentrations of trace elements in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and stone marten (*Martes foina*) from suburban and rural areas in Croatia // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 85. P. 486–491.
- Dickman M., Leung C., Leung M. 1998. Hong Kong male subfertility links to mercury in human hair and fish // *Sci. Total. Environ.* V. 214. P. 165–174.
- Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. 2013. Mercury as a global pollutant: Sources, pathways, and effects // *Environ. Sci. Technol.* V. 47. P. 4967–4983.
- Environmental chemistry and toxicology of mercury*. 2012. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 596 p.
- Elliot J.E., Machmer M.M., Wilson L.K., Henny C.J. 2000. Contaminants in ospreys from the Pacific Northwest: Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenils, and mercury, 1991–1997 // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* V. 38. P. 93–106.
- Evans R.D., Addison E.M., Villeneuve J.Y., MacDonald K.S., Joachim D.G. 2000. Distribution of inorganic and methylmercury among tissues in mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra canadensis*) // *Environ. Res. (Sect. A)*. V. 84. P. 133–139.
- Fedorov Ju.A., Ovsepjan A.Je., Lisicyn A.P., Docenko I.V., Novigatskij A.N., Shevchenko V.P. 2011. Zakonomernosti raspredelenija rtuti v donnyh otlozhenijah po razrezu reka Severnaja Dvina – Beloe more [Laws of distribution of mercury in sediments along the section of the Northern Dvina River – White Sea] // *Doklady akademii nauk*. V. 436. № 1. S. 99–102. [In Russian]

- Feng Q., Suzuki Y., Hisashige A. 1998. Hair mercury levels of residents in China, Indonesia and Japan // Arch. Environ. Health. V. 53. № 1. P. 36–44.
- Fortin C., Beauchamp G., Dansereau M., Lariviere N., Belanger D. 2001. Spatial variation in mercury concentrations in wild mink and river otter carcasses from the James Bay Territory, Quebec, Canada // Arch. Environ. Contam. Toxicol. V. 40. P. 121–127.
- Geletej V.F., Kalmychikov G.V., Parhomenko I.Ju. 2007. Rtut' v osadochnoj tolshhe ozera Bajkal [The mercury in the sediment of Lake Baikal] // Geohimija. № 2. S. 199–207. [In Russian]
- Gibb H., O'Leary K.G., Sarkar S.K., Wang J., Liguori L., Rainis H., Smith K.A., Chatterjee M. 2016. Hair mercury concentrations in residents of Sundarban and Calcutta, India // Environ. Res. V. 150. P. 616–621.
- Gladkova N.S., Malinina M.S. 2005. Model' raspredelenija valovoj rtuti v profile lesnyh podzolistyh pochv [Model distribution gross mercury in forest podzolic soil profile] // Pochvovedenie. № 8. S. 848–854. [In Russian]
- Gosar M., Pirc S., Bidovec M. 1997. Mercury in the Idrija river sediments as a reflection of mining and smelting activities of the Idrija mercury mine // J. Geochem. Exploration. V. 58. P. 125–131.
- Greenfield B.K., Hrabik T.R., Harvey C.J., Carpenter S.R. 2001. Predicting mercury levels in yellow perch: use of water chemistry trophic ecology and spatial taints // Can. J. Fish. Aquat. Sci. № 58. P. 1419–1429.
- Gremjachikh V.A., Grebenyuk L.P., Komov V.T., Stepanova I.K. 2006. Nakopleniye rtuti i yeye teratogennoye deystviye na lichinok Chironomus riparius Meigen (Diptera: Chironomidae) [Accumulation of mercury and its teratogenic effect on the larvae of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae)] // Biology Int. Water. № 1. C.99–107. [In Russian]
- Gremjachikh V.A., Komov V.T. 2008. Osobennosti nakopleniya rtuti v myshchah okunja [Features of mercury accumulation in the muscles of perch] // Sostojanie jekosistemy ozera Nero v nachale XXI veka. M.: Nauka, S. 263–275. [In Russian]
- Gremjachikh V.A., Komov V.T., Trankvilevskij D.V., Shapovalov M.I., Motorin A.A. 2013. Soderzhanie rtuti v vodnyh i amfibioticheskikh nasekomyh razlichnyh vodojomov i vodotokov evropejskoj chasti Rossii [The content of mercury in the water and aquatic insects of different reservoirs and waterways of European Russia] // Gidrotomologija v Rossii i v sopredel'nyh stranah: Mater. V Vserossijskogo simpoziuma po amfibioticheskim i vodnym nasekomym. Jaroslavl': Filigran', S. 46–51. [In Russian]
- Hughes K.D., Ewins P.J., Clark K.E. 1997. A comparison of mercury levels in feathers and eggs of osprey (*Pandion haliaetus*) in the North American Great Lakes // Arch. Environ. Contam. Toxicol. V. 33. P. 441–452.
- Ivanov A.V. 1965. Pauki [Spiders]. Leningrad: Tipografija LOLGU, S. 195. [In Russian]
- Kalisinska E., Lisowski P., Salicki W., Kucharska T., Kavetska K. 2009. Mercury in wild terrestrial carnivorous mammals from north-western Poland and unusual fish diet of red fox // Acta. Theriol. V. 54. P. 345–356.
- Kalisinska E., Gorecki J., Lanocha N., Okonska A. 2014. Total and methylmercury in soft tissues of white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) and osprey (*Pandion haliaetus*) collected in Poland // AMBIO. V. 43. P. 858–870. DOI 10.1007/s 13280-014-0533-8.
- Komarovsky F.Ya., Polishchuk L.R. 1981. Rtut i drugie tyazhelye metallyi v vodnoy srede: migratsii, nakoplenie, toksichnost dlya gidrobiontov [Mercury and other heavy metals in an aqueous medium: migration, accumulation, toxicity for hydrobionts] // Gidrobiol. Journal. T. XVII. № 5. S. 71–83.
- Komov V.T., Stepanova I.K., Gremjachikh V.A. 2004. Soderzhanie rtuti v myshchah ryb iz vodoemov Severo-Zapada Rossii: prichiny intensivnogo nakopleniya i ocenka negativnogo jeffekta na sostojanie zdorov'ja ljudej [Mercury in the muscles of fish from waters of the North-West of Russia: Causes intensive accumulation and assessment of adverse effects on human health] // Aktual'nye problemy vodnoj toksikologii: Sb. tez. dokl. Borok, S. 99–123. [In Russian]
- Komov V.T., Gremjachikh V.A., Kamshilova T.B., Lobus N.V. 2009. Soderzhanie rtuti v myshchah okunja iz ozor Polistovo-Lovatskogo verhovogo bolotnogo massiva [The mercury content in the muscles of perch from lakes Polistovo-Lovatskaya upland bog] // Trudy gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika «Rdejskij». Velikij Novgorod. S. 102–115. [In Russian]
- Komov V.T., Stjopina E.S., Gremjachikh V.A., Poddubnaja N.Ja., Borisov M.Ja. 2012. Soderzhanie rtuti v organah mlekovitajushchih semejstva kun'ih (Mustelidae) Vologodskoj oblasti [The content of mercury in the bodies of mammals weasel family (Mustelidae) Vologda region] // Povolzhskij jekologicheskij zhurnal. № 4. S. 385–393. [In Russian]
- Komov V.T., Gremjachikh V.A., Sapel'nikov S.F., Udodenko Ju.G. 2012. Soderzhanie rtuti v pochvah i v melkih mlekovitajushchih razlichnyh biotopov Voronezhskogo zapovednika [The content of mercury in soils and small mammals of different habitats Voronezh Reserve] // Mercury in the biosphere. Ecological-geochemical aspects: Mater. Mezhdunarodnogo simpoziuma. M.: GEOHI RAN, S. 281–286. [In Russian]
- Komov V.T., Ivanova E.S., Gremjachikh V.A. 2016. Mercury content in organs and tissues of indigenous (*Vulpes vulpes* L.) and invasive (*Nyctereutes procyonoides* Gray) species of canids from areas near Cherepovets (North-Western) // Bull Environ Contam Toxicol. V. 97. № 4. P. 480–485. DOI 10.1007/s00128-016-1891-7.
- Koniarz T., Tarnawski M., Baran A., Florenska N. 2015. Mercury contamination of bottom sediments in water reservoirs of southern Poland // Geology, Geophysics and Environment. V. 41. № 2. P. 169–175.

- Kuzubova L.I., Shuvaeva O.V., Anoshin G.N. 2000. Metiltut' v okruzhajushhej srede: (Rasprostranenie, obrazovanie v prirode, metody opredelenija) [Methylmercury in the environment: (Dissemination, education in nature, methods of determination)]. Analit. Obzor // Ecology. V. 59. Novosibirsk: GPNTB SORAN, 82 s. [In Russian]
- Leonova G.A. 2004. Biogeohimicheskaja indikacija zagriznenija vodnyh jekosistem tjazhjolymi metallami [Biogeochemical aquatic ecosystems contamination by heavy metals indication] // Vodnye resursy. T. 31. № 2. S. 215–222. [In Russian]
- Luengen A.C., Foslund H.V., Greenfield B.K. 2016. Decline in methylmercury in museum-preserved bivalves from San Francisco Bay, California // Sci. of the Total Envir. V. 572. P. 782–793.
- Maksimova O.Ju., Ivanova E.S. 2016. Soderzhanie rtuti v volosah zhitelej g. Cherepovca, Vologodskoj oblasti [The content of mercury in the hair of inhabitants of Cherepovets, Vologda Oblast]. // Mezhdunarodnyj studencheskij nauchnyj vestnik. №4. S. 268–272. [In Russian]
- Mason R.P., Choi A.L., Fitzgerald W.F., Hammerschmidt C.R., Lamborg C.H., Soerensen A.L., Sunderland E.M. 2012. Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications // Environ. Res. V. 119. P. 101–117.
- Mergler D., Anderson H.A., Chan L.H.M., Mahaffey K.R., Murray M., Sakamoto M., Stern A.H. 2007. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern // Ambio: J. Hum. Environ. V. 36. P. 3–11.
- Merritt K.A., Amirbahman A. 2007. Mercury dynamics in sulfide-rich sediments: geochemical influence on contaminant mobilization within the Penobscot River estuary, Maine, USA // Geochim. Cosmochim. Acta. V. 71. P. 929–941.
- Millan J., Mateo R., Taggart M.A., Lopez-Bao J.V., Viota M., Monsalve L., Camarero P.R., Blazquez E., Jimenez B. 2008. Levels of heavy metals and metalloids in critically endangered Iberian lynx and other wild carnivores from Southern Spain // Sci. Total. Environ. V. 399. P. 193–201.
- Moiseenko T.I., Gashkina N.A. 2016. Bioakkumuljacija rtuti v rybakh kak indikator urovnja zagriznenija vod [The bioaccumulation of mercury in fish as an indicator of water pollution] // Geohimija. № 6. S. 495–504. DOI:10.7868/s0016752516060042 [In Russian]
- Mur Dzh. V., Ramamurti S. 1987. Tjzhelye metally v prirodnyh vodah [Heavy metals in natural waters] // M.: Mir. 288 s. [In Russian]
- Penedo-Hernandez J., Marrugo-Negrete J., Diez S. 2015. Speciation and bioavailability of mercury in sediments impacted by gold mining in Colombia // Chemosphere. V. 119. P. 1289–1295.
- Rask M., Metsälä T.R., Salonen K. 1994. Mercury in the food chains of a small polyhumic forest lake in Southern Finland // Mercury pollution: integration and synthesis. Boca Raton, Florida: Lewis Publ. P. 409–425.
- Sarmani S., Kiprawi A., Ismail R. 1994. Mercury determination in hair of Malaysian fishermen by neutron activation analysis // Biol. Trace Element. Res. V. 44. P. 435–441.
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. 2007. Effects of environmental methylmercury on health of wild birds, mammals, and fish // AMBIO. V. 36. P. 12–18.
- Sokal R.R., Rohlf F. J. 1995. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY.: W.H. Freeman and Co., 887 p.
- Stepanova I.K., Komov V.T. 1997. Mercury accumulation in fish from water bodies of the Vologodskaya Oblast // Russ. J. Ecol. V. 28. № 4. P. 260–265.
- Trasande L., DiGangi J., Evers D.C., Petrlik J., Buck D.G., Beeler B., Turnquist M.A., Regan K. 2016. Economic implications of mercury exposure in the context of the global mercury treaty: Hair mercury levels and estimated lost economic productivity in selected developing countries // J. Environ. Management. V. 183. P. 229–235.
- Ullrich S.M., Tanton T.W., Abdrashitova S.A. 2001. Mercury in the aquatic environment: A review of factors affecting methylation. Critical Reviews // Environ. Sci. Techn. V. 31. № 3. P. 241–293.
- Ullrich S.M., Ilyushchenko M.A., Uskov G.A., Tanton T.A. 2007. Mercury distribution and transport in a contaminated river system in Kazakhstan and associated impacts on aquatic biota // Applied Geochemistry. № 22. P. 2706–2734.
- WHO. 1991. Inorganic mercury. № 118 // Environmental Health Criteria. International Program on Chemical Safety. Geneva: WHO. 134 p.
- WHO. 2004. Evaluation of certain food additives and contaminants (Sixty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) // WHO Technical Report Series. № 922. Geneva: WHO. 176 p.
- Wiener J.G., Krabbenhoft D.P., Heinz G.H., Scheuhammer A.M. 2002. Ecotoxicology of mercury // Handbook of Ecotoxicology. Boca Raton: Lewis Publishers. P. 409–463.
- Wiener J.G. 2013. Mercury exposed: Advances in environmental analysis and ecotoxicology of a highly toxic metal // Environ. Toxicol. Chem. V. 32. № 10. P. 2175–2178.
- Yates D.E., Mayach D.T., Munney K., Evers D.C., Major A., Kaur T., Taylor R.J. 2005. Mercury Levels in Mink (*Mustela vison*) and River Otter (*Lontra canadensis*) from Northeastern North America // Ecotoxicology. V. 14. P. 263–274.

MERCURY IN ABIOTIC AND BIOTIC COMPONENTS OF AQUATIC AND TERRESTRIAL ECOSYSTEMS IN THE URBAN SETTLEMENT ON THE SHORE OF THE RYBINSK RESERVOIR

V. T. Komov, V. A. Gremyachikh, Yu. G. Udodenko, Ye. V. Shchedrova, M. Ye. Yelizarov

Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences

152742 Borok, Russia, e-mail: vkomov @ ibiw.yaroslavl.ru

The content of mercury is determined in soil, sediments of waterbodies and in organisms of animals from aquatic and terrestrial ecosystems in the settlement and its vicinity on the shore of the Rybinsk Reservoir, where industrial enterprises are completely absent and the agricultural sector is in a depressed state. The recorded mercury concentrations varied in the range of more than two orders. The mercury concentration exceeded the Clarke number in the lithosphere only in bottom sediments of the diversion ditch of the treatment facilities (1.76 mg/kg dry weight) and in soils adjacent to the ditch (0.12 mg/kg dry weight).

The concentration of mercury in organism of aquatic invertebrates was higher in representatives of heterotopic species (larvae and imagoes of insects – up to 0.85 mg/kg dry weight) and lower in homotopic species (mollusks – 0.11 mg/kg wet weight). In arachnids with exclusively predatory mode of life the concentration of mercury in the body was higher in aquatic and semi-aquatic species (hydracarina – up to 0.68 mg/kg wet weight, raft spider – up to 0.33 mg/kg dry weight) and lower in animals which were captured in biotopes remote from waterbodies (crab spiders – up to 0.07 mg/kg dry weight).

In all studied groups of vertebrates (fish, birds, mammals) higher levels of mercury accumulations were recorded in animals the diet of which consisted partly of hydrobionts (in muscles of mink, common merganser, predatory fish – the maximum of 0.68–1.33 mg/kg wet weight).

The minimum concentrations of the metal are characteristic of organisms which feed on vegetation or phytophagous animals (in muscles of hare, daw, short-eared owl, fox, and raccoon dog – 0.004–0.14 mg/kg wet weight) that is comparable with the concentration of mercury in mollusks.

In addition to precipitation, and the diversion ditch of water treatment facilities, waterbodies adjacent to the settlement are a resource base of mercury inflowing terrestrial ecosystems via biological transfer.

Keywords: accumulation of mercury, soil, bottom sediments, aquatic organisms, terrestrial animals

УДК 595.143:597.6:574.64

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНИЗМЕ АМФИБИЙ И ПИЯВОК ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ И ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ВЫЗЫВАЕМЫХ ЕЮ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ

В. Т. Комов¹, Е. С. Иванова², В. А. Гремячих¹, Л. Н. Лапкина¹, Л. В. Козлова²,
Е. Н. Желеток², А. М. Киркина², Д. Э. Кудряшова², Е. В. Щедрова¹, Д. Г. Селезнев¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: vkomov@ibiw.yaroslavl.ru

²Череповецкий государственный университет, 162600 г. Череповец, пр. Луначарского, 5

Определено содержание ртути в органах пяти видов земноводных и телах семи видов пиявок, отловленных в природе. Средние значения показателя у амфибий лежат в диапазоне 0.007–0.101, пиявок – 0.014–0.065 мг/кг сырой массы. Выявлена зависимость концентрации ртути в объектах исследования от таксономического положения животных, особенностей среды их обитания, вида исследуемой ткани. В эксперименте установлены последствия алиментарного поступления ртути в организм животных на ряд биологических параметров (скорость метаморфоза личинок жабы, модификация поведения головастики прудовой лягушки и пиявок). Результаты исследования вносят вклад в изучение механизмов миграции и распределения соединений ртути в водных, околоводных и наземных экосистемах и могут быть использованы для экологического мониторинга окружающей среды, а также включены в курсы вузовских дисциплин по специальности экология и токсикология.

Ключевые слова: хвостатые и бесхвостые амфибии, плоские, челюстные, глоточные пиявки, ртуть.

ВВЕДЕНИЕ

Ртуть в водной среде существует в виде множества физических форм и химических соединений – элементарная ртуть (Hg^0), неорганические соединения (Hg^{2+}), монометилртуть (CH_3Hg^+), диметилртуть (CH_3HgCH_3), что сказывается на механизме ее распространения, способности к биоаккумуляции, на проявлении токсических свойств, поскольку разные формы по-разному проникают, метаболизируются и выводятся из организма. Одно из самых распространенных и опасных ее соединений – метилртуть [Bloom, 1992; Ellis, 1989; Freedman, 1989]. Сегодня об ее агрессивности известно не только специалистам, но и общественности многих стран. Этому способствовали случаи массовых ртутных отравлений животных (особенно птиц) и человека, начавшиеся в середине 20 века в Японии и ряде других стран по причине загрязнения окружающей среды метилртутью, активно циркулирующей по трофическим сетям, аккумулируемой морепродуктами, попадающими в рацион питания наземных позвоночных, в том числе и человека.

У метилртути более высокая, по сравнению с неорганическими формами ртути, способность проникать через биологические мембраны, вступать в химическую связь с сульфгидрильными SH-группами белковых молекул, что приводит к подавлению ряда

мембранных и митохондриальных ферментов, к развитию патологических процессов, в том числе нарушению сенсорных и двигательных функций центральной нервной системы. Спектр патологических изменений, вызываемый метилртутью в организме на всех его уровнях, широк и не специфичен, к тому же она способствует активации перекисного окисления липидов [Казначеев, Дарянин, 1989 (Kaznacheev, Daryanin, 1989); Габайдуллин и др., 1999 (Gabaydulin et al., 1999); Немова и др., 2014 (Nemova et al., 2014)].

Выведение метилртути из организма животных происходит медленно, что приводит к ее быстрому накоплению – особенно в объектах, замыкающих пищевую пирамиду, таких как рыбы, птицы и млекопитающие [Scheuhammer et al., 2007]. В связи с этим, именно у них процессы накопления и распределения метилртути в организме исследованы более полно по сравнению с другими группами позвоночных. Земноводные в этом плане изучены мало. То же самое можно сказать о некоторых водных беспозвоночных, в частности, пиявках – их водных и амфибионтных видах. Земноводные и пиявки – хищные животные, консументы 2-го и более высоких порядков, являются важными представителями водных, околоводных и наземных экосистем, часто отмеча-

ются в массовом количестве. Однако их роль в накоплении и передаче ртути по трофическим сетям, распределении металла в организме животных, биологические последствия, к которым приводят эти процессы, на сегодня изучены недостаточно.

Цель работы – в полевых и эксперимен-

тальных исследованиях выявить основные закономерности накопления ртути и ее распределение по различным органам у массовых видов земноводных, а также в телах разных видов пиявок; проследить в эксперименте возможные биологические последствия поступления металла в организм животных с пищей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сбор земноводных и пиявок осуществляли в мае–июле 2014–2016 гг. на территории 9 районов Вологодской области, различающихся природно-климатическими условиями и степенью развития промышленности (табл. 1), а также в п. Борок Некоузского района Ярославской области. Использованные в работе

виды земноводных приведены в таблице 1 с учетом общепринятой в настоящее время таксономической системы [Ананьева, 1998 (Ananueva, 1998); Писанец, 2007 (Pisanets, 2007); Дунаев, Орлова, 2012 (Dunaev, Orlova, 2012); Кузьмин, 2012 (Kuzmin, 2012)].

Таблица 1. Собранные и обработанные представители земноводных – кл. Amphibia

Table 1. The collected and analyzed organisms of amphibians, class Amphibia

Объект Object	Место сбора, район Site of sampling, region	Количество Number of	
		Особей Specimens	Проб Samples
Отряд Caudata (хвостатые амфибии)			
Сем. Salamandridae			
Обыкновенный тритон <i>Lissotriton vulgaris</i> (Linnaeus, 1758) = <i>Triturus vulgaris</i> L. 1758	Кирилловский	5	30
Отряд Anura (бесхвостые амфибии)			
Семейство Bufonidae (настоящие жабы)			
Серая жаба <i>Bufo bufo</i> (Linnaeus, 1758)	Кирилловский	7	42
	Череповецкий	6	36
	Шекснинский	9	54
Семейство Ranidae (настоящие лягушки)			
Род бурые лягушки	Великоустюгский	8	40
	Тотемский	9	54
	Вытегорский	8	40
	Кадуйский	8	40
	Вожегодский	7	42
	Вашкинский	7	42
	Некоузский		
Травяная лягушка <i>Rana temporaria</i> Linnaeus, 1758	(Ярославская обл.)	15	90
Род зеленые лягушки			
Прудовая лягушка <i>Pelophylax lessonae</i> (Camerano, 1882) = <i>Rana esculenta</i> Linnaeus, 1758) = <i>Rana lessonae</i>	Череповецкий,	4	24
Озерная лягушка <i>Pelophylax ridibundus</i> (Pallas, 1771) = <i>Rana ridibunda</i>	Вашкинский	7	42

Краткая характеристика использованных в работе земноводных.

Обыкновенный тритон *Lissotriton vulgaris* размножается в воде стоячих и слабопроточных лесных водоемов. Личинки тритона в отличие от личинок бесхвостых амфибий ведут хищный образ жизни: поедают дафний и других мелких водных беспозвоночных. Взрослые особи кормятся в водоемах моллюсками, ракообразными, личинками насекомых,

на суше – жуками, гусеницами бабочек, многоножками, пауками, дождевыми червями и другими беспозвоночными. В рационе питания преобладают черви и многоножки. На суше тритон тяготеет к листовым и смешанным, реже хвойным лесам, зарослям кустарника, достигает в длину 8–11 см [Кузьмин, 2012 (Kuzmin, 2012)].

Серая жаба *Bufo bufo* предпочитает влажные места с высокой травянистой расти-

тельностью. Самка крупнее самца и достигает в длину 13–14 см. После зимней спячки жабы для размножения мигрируют к водоемам, проходя иногда до 2.5 км. Выклев головастика наступает через 3–15 суток и зависит от температуры воды, личиночное развитие по той же причине длится 45–95 суток. В питании головастика доля животных кормов составляет 48.9% [Моткова, Гаранин, 1987 (Motkova, Garanin, 1987)]. В период размножения жабы не питаются, у отнерестившихся особей среди кормов преобладают наземные беспозвоночные – жуки, муравьи, двукрылые, многоножки и т. д. Крупные жабы могут нападать на мелких ящериц, мышей, в пищу сеголеток попадают водные беспозвоночные.

Травяная лягушка *Rana temporaria* достигает в длину 10 см. Лето проводит на суше, удаляясь от водоемов на значительные расстояния, но населяет лишь влажные биотопы – смешанные и лиственные леса, заболоченные луга, болота и антропогенные ландшафты (поля, сады, парки). Она способна без вреда для себя терять большее количество воды, чем прудовая лягушка, но значительно меньше, чем жабы. Головастики питаются детритом, водорослями и высшими растениями, животная пища потребляется в меньшем количестве. В период метаморфоза (после прорыва передних конечностей) питание на время прекращается, и возобновляется, когда особи еще имеют длинный остаток хвоста [Вершинин, 1995 (Vershinin, 1995)]. Взрослые лягушки активны ранним утром и в темное время суток, но в пасмурную погоду встречаются и днем. Кормятся в основном сухопутными беспозвоночными, набор которых в рационе сильно зависит от температуры и влажности [Кузьмин, Сурова, 1994 (Kuzmin, Surova, 1994)].

Прудовая лягушка *Pelophylax lessonae* – полуводный вид. Она обычна в лесной зоне, осваивает небольшие заросшие растительностью речки, заливные луга, болота, пруды, ямы, песчаные карьеры с водой, лужи, колеи лесных дорог. Размеры тела 8–11 см. Головастики проходят развитие за 1.5–2.5 месяца, иногда и зимуют. Питаются в основном микроскопическими водорослями. Половозрелые особи едят водных беспозвоночных, личинок насекомых, но их в рационе не более 50%. Они потребляют также икру и мальков рыб, сеголеток лягушек, личинок тритонов, жерлянок, чесночниц и жаб. Брачный пост у прудовой лягушки отсутствует [Дунаев, 1999 (Dunaev, 1999), Файзулин и др., 2013 (Faizulin et al., 2013)].

Озерная лягушка *Pelophylax ridibundus* – самый крупный вид в фауне земноводных России, длина тела до 15 см. Обитает в воде или около нее, активна почти круглые сутки, днем уходит в водоем пополнить запас влаги в теле, ночь проводит на суше. Активное питание головастика начинается после расходования запасов желтка и прорыва рта. В их рационе – одноклеточные диатомовые и зеленые водоросли, простейшие, жгутиковые. С возрастом набор объектов питания расширяется, добавляются мелкие ракообразные. Добычей лягушек наряду с беспозвоночными становятся головастики других видов и взрослые амфибии (краснобрюхая жерлянка, зеленая жаба, остромордая лягушка и др., включая особей собственного вида), а также мальки рыб, рептилии (прыткая ящерица, молодые особи обыкновенного и водяного ужа), некоторые виды птиц и мелкие млекопитающие [Файзулин и др., 2013 (Faizulin et al., 2013)].

Видовую принадлежность пиявок определяли по Е.И. Лукину [Лукин, 1977 (Lukin, 1977)] (табл. 2). Исследованные виды животных (табл. 1, 2) расположены внутри каждого класса в соответствии с их местом в эволюционном ряду – от более древних к более молодым и продвинутым [Лукин, 1976 (Lukin, 1976)].

Краткая характеристика использованных в работе пиявок и их отличительные признаки. Представители отряда Rhynchobdellida (хоботные) сем. Glossiphoniidae (плоские) не умеют плавать, своих жертв или хозяев не преследуют, а поджидают. В большинстве своем питаются жидкостями, которые высасывают из тел беспозвоночных. Имеются виды, высасывающие кровь рыб или птиц.

Hemiclepsis marginata – кровосос, эктопаразит рыб и амфибий. После насыщения пиявка покидает хозяина и несколько дней или недель до нового кормления ведет свободный от паразитизма образ жизни. Отличительные признаки – тело визуально разделяется на туловище и “голову”, на которой расположены две пары глаз. Длина взрослой особи в покое 2.5–3 см; консистенция тела мягкая; покровы зеленовато-желто-коричневые [Лукин, 1976 (Lukin, 1976)].

Glossiphonia complanata высасывает содержимое тел водных моллюсков. В спокойном состоянии похожа на маленький широкий листочек, сужающийся к обоим концам тела. Длина ее около 3 см, ширина 8–10 мм, на спинной стороне две продольные темные пунктирные линии, сближающиеся между собой и достигающие до 3-х пар глаз [Лукин, 1976 (Lukin, 1976)].

Helobdella stagnalis высасывает содержимое тел олигохет, хирономид и других личинок водных насекомых, мелких членистоногих. Относится к массовым видам. Остальные виды этого семейства редко встречаются в водоемах, несмотря на их широкое распространение. В спокойном состоянии *H. stagnalis* не более 1 см в длину, при ширине около 3 мм. На переднем конце тела находится линзообразная коричневая пластинка, по которой пиявку можно узнать без прочих отличительных признаков, а также по одной паре крупных глаз (остальные виды имеют от 2 до 5 пар глаз) [Лукин, 1976 (Lukin, 1976)].

Пиявки отряда Arhynchobdellida (бесхоботные), представители семейств Hirudinidae (челюстные) и Erpobdellidae (глоточные) – хищные виды, эврифаги, активные охотники, заглатывающие своих жертв целиком.

Haemopsis sanguisuga (сем. челюстные) – самая крупная пиявка среди представителей

класса, длиной около 10 см. На головном конце 5 пар глаз. *H. sanguisuga* – амфибия, эврибионт, в круг ее пищевых объектов попадают не только разнообразные водные беспозвоночные, но и почвенные черви – олигохеты, головастики лягушек, мальки и молодь мелких рыб. Нападает на крупных рыб-производителей, держащихся у дна.

Семейство Erpobdellidae считается эволюционно самым молодым и прогрессивным в классе пиявок. Представители подрода *Erpobdella* – наиболее примитивные в семействе, подрода *Dina* – более продвинутые [Лукин, 1976 (Lukin, 1976)]. Все виды семейства – пищевые конкуренты. Спектр пищевых объектов очень широк и ограничивается лишь размером жертвы. Чаще всего пиявки заглатывают олигохет, личинок насекомых, в частности хирономид, мелких ракообразных – водяных осликов и других беспозвоночных.

Таблица 2. Собранные и обработанные пиявки (кл. Hirudinea)

Table 2. The collected and analyzed organisms of leeches (class Hirudinea)

Объект Object	Место сбора, район Site of sampling, region	Количество Number of		
		Особей Specimens	Проб Samples	
Отряд Rhynchobdellea (хоботные пиявки)				
Сем. Glossiphoniidae (плоские)				
<i>Hemiclepsis marginata</i> (O.F. Muller, 1774)	Различные водоемы (пру- ды, канал) в окрестностях п. Борок,	34	34	
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)		26	26	
<i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)		50	5	
Отряд Arhynchobdellea (бесхоботные пиявки)				
Сем. Hirudinidae (челюстные)				
<i>Haemopsis sanguisuga</i> Savigny, 1820	Пруды в окрестностях п. Борок,	10	20	
Сем. Erpobdellidae (глоточные)				
<i>Erpobdella (Erpobdella) octoculata</i> (Linnaeus, 1758)		12	12	
<i>Erpobdella (Erpobdella) testasia</i> Savigny, 1820		6	6	
<i>Erpobdella (Dina) lineata</i> (O.F. Muller, 1774)		8	8	

Erpobdella octoculata пиявка длиной до 8 см, шириной менее 1 см, ее темное тело уплощено и усыпано на спине многочисленными мелкими сосочками и желтыми пятнышками, которые расположены на каждом кольце сомита, образуя поперечные ряды. На задней присоске ряды пятнышек радиальные.

Erpobdella testasea более узкая пиявка по сравнению с *E. octoculata*, поверхность ее тела – гладкая, с оттенком коричневого или серого цветов; на спине – срединная еще более

темная полоса с неровными краями; брюшко чуть светлее спины.

Erpobdella (Dina) lineata – гладкая коричневая пиявка с двумя срединными более светлыми продольными полосами с ровными краями на спине. Брюшко чуть светлее спины. Вид по происхождению южный. В отличие от всех выше упомянутых редкий для Ярославского Поволжья. Все особи были отловлены в одном пересыхающем пруду, где не обитали их конкуренты – *E. octoculata* и *E. testasea*.

Пиявок разбирали по видам, определяли массу каждой особи у крупных видов или общую массу нескольких пиявок у мелких (*Haemotopis stagnalis*) и помещали в пластмассовых пробирках в холодильник. Таким образом, каждая проба *H. stagnalis* состояла из нескольких особей, пробы других видов – из одной пиявки, за исключением *H. sanguisuga*. У этого крупного вида от одной особи брали на анализ 2 пробы – часть спинной мышцы и внутренние органы.

Отловленных земноводных подвергали декапитации для изъятия органов: печени, почек, сердца, мышц, кожи, стенки кишечника. Пробу каждого органа взвешивали и помещали в полиэтиленовый пакет, хранили в замороженном виде при температуре от -4 до -16°C .

Содержание ртути в каждой пробе определяли в лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН и лаборатории биохимии кафедры биологии Череповецкого государственного университета на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО атомно-абсорбционным методом холодного пара с диапазоном измерения 0.001 – 5 мг/кг. Пробу массой 10 – 50 мг помещали на кварцевый дозатор, переносили в ячейку термализа и сжигали при температуре 300°C в течение 1 – 2 минут (для данного анализатора не требуется какой-либо предварительной обработки или разложения образцов). Точность аналитических методов измерения контролировали с использованием сертифицированного биологического материала DORM-2 и DOLM-2 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада).

Помимо объектов из природы, содержание ртути определяли в экспериментальных животных – головастиках двух видов амфибий (жабы и травяной лягушки) и пиявках двух видов семейства глоточных – *Erpobdella* (*E.*) *octoculata* и *E. (D.) lineata* с целью подтверждения основного алиментарного пути поступления в их организм ртути, а также выявления возможных последствий хронической ртутной интоксикации. Пиявок *E. octoculata* отлавливали в трех разных прудах, по 40 особей из каждой популяции. Животных содержали по 20 экз. в двухлитровых эксикаторах.

Головастики амфибий также были поделены на контрольную и опытную группы: личинок серой жабы содержали по 300 особей в больших пластиковых аквариумах объемом около 500 л; личинок прудовой лягушки – в аквариумах меньшего объема (≈ 200 л) по 150 особей в каждом.

Емкости с животными находились в помещении с температурой 18 – 21°C . Ежедневно, утром в емкости помещали рыбный фарш из расчета 5% от массы головастика. Головастики во всех случаях питались в основном микрофлорой, растущей на фарше, а пиявки – непосредственно фаршем. Для контроля использовали фарш из мышц минтая и плотвы с низким (0.02); для опыта – фарш из мышц окуня с высоким (0.07 – 0.11 мг/кг сырой массы) содержанием ртути. Головастикам воду не меняли, но убрали остатки не съеденного корма; пиявкам после кормления воду заменяли.

Для анализа содержания ртути у головастика жаб их отбирали на одной и той же стадии метаморфоза, а именно при “появлении задних конечностей”. Достижение этой стадии разными особями было растянуто больше, чем на две недели. У головастика прудовой лягушки накопленную ртуть измеряли на стадии метаморфоза “лягушонок с остатками хвоста” через 17 дней после их вылова из пруда на стадии “появление развитых складок жаберных крышек”.

Для выявления возможного влияния ртути на поведение пиявок исследовали их тигмотаксис. С этой целью в емкости с пиявками помещали предметные стекла и ежедневно регистрировали число особей, расположившихся под стеклом (рис. 1). Наблюдения вели за 4-мя группами пиявок от 14 до 28 дней.

О влиянии накопленной ртути на поведение земноводных судили в опыте “хищник-жертва”. Жертвами являлись головастики прудовой лягушки *Pelophylax lessonae*, которых через 17 дней кормления рыбным фаршем с разным содержанием ртути, помещали по 10 опытных и контрольных особей в отдельные емкости объемом 3 л на стадии метаморфоза “лягушонок с остатками хвоста”. Эффективность реакции избегания ими хищника – интактной пиявки *Herpobdella octoculata*, сутки проведенной без пищи, оценивали по количеству проведенных ею успешных атак на протяжении 1 часа. Опыт и контроль проводили в десятикратной повторности.

Статистический анализ. Результаты представляли в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm m\bar{x}$). Достоверность различий оценивали, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест Фишера) при уровне значимости $p \leq 0.05$ [Sokal, Rolf, 1995]. Если распределение исходных данных отличалось от нормального [Shapiro, Wilk, 1965], то использовали ранго-

вый критерий Краскела-Уоллеса [Kruskal, Wallis, 1952], а также пермутационный аналог дисперсионного анализа, основанный на матрице расстояний. Для определения корреляционных связей между количеством металла в

разных парах органов животных и зависимости его количества в органах от местообитания объектов использовали коэффициент корреляции Пирсона ($s, p \leq 0.05$).



Рис. 1. Проявление положительного тигмотаксиса глоточными пиявками.

Fig. 1. Manifestation of positive thigmotaxis by some pharyngeal leeches.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание ртути в организме отловленных в природных водоемах и прудах амфибий и пиявок. Амфибии. Содержание ртути в органах у 5 исследованных видов амфибий – представителей двух отрядов земноводных, отловленных в Вологодской и Ярославской областях, варьирует в пределах 0.002–0.238 мг/кг сырой массы (всего 580 проб). Средние концентрации ртути по всем органам каждого вида исследованных земноводных (табл. 3) независимо от их места сбора (табл. 1), как правило, ниже, чем у представителей других классов позвоночных этого же региона [Комов и др., 2012 (Komov et al., 2012); Stepanova, Komov, 1997)].

Представитель отряда хвостатых амфибий (обыкновенный тритон) менее всех способен накапливать ртуть. У амфибий отряда бесхвостые земноводные (жаба и лягушки) средние концентрации ртути в исследованных органах (за исключением кожи) превышают таковые у тритона иногда в 2 и более раз (табл. 3). Можно предположить, что эти отли-

чия обусловлены их принадлежностью к разным отрядам и характером питания.

Установлено, что внутри отряда бесхвостых амфибий диапазон накопленной ртути меньше в органах серой жабы из сем. *Bufo*nidae (0.007–0.067 мг/кг), чем в органах 3 видов лягушек сем. *Ranidae* (0.019–0.101), за исключением печени прудовой и травяной лягушек. Этот орган у них по содержанию металла уступает таковому у жаб, в отличие от кожи, кишечника, сердца, скелетных мышц и почек. У представителей двух указанных семейств в большинстве органов различия по содержанию ртути статистически достоверны. Вероятно, и в данном случае принадлежность вида к определенной таксономической группе – семейству – отражается на способности животных накапливать в организме ртуть.

Для представителей одного сем. *Ranidae* установлено, что у лягушек на уровне родов (зеленые и бурые) отличия более выражены, чем на уровне видов одного рода – зеленые

(прудовая и озерная лягушки). У бурой травяной лягушки концентрации ртути во всех без исключения органах ниже, чем у зеленой озерной (табл. 3). В то же время в органах зеленых лягушек (прудовой и озерной) достоверные отличия в содержании металла отмечены только в сердце, почках и печени.

Таблица 3. Содержание ртути (мг/кг сырой массы) в органах разных видов амфибий (виды расположены сверху вниз в последовательности от более древних к более прогрессивным)

Table 3. The mercury content (mg/kg wet weight) in organs of different amphibian species (species are presented top-down in a sequence from more ancient to more progressive ones)

Вид Species	Орган Organ					
	Кожа Skin	Кишечник Intestine	Сердце Heart	Мышцы Muscles	Почки Kidneys	Печень Liver
Обыкновенный tritон	0.023 ± 0.003^{ab} 0.015–0.030	0.009 ± 0.001^a 0.006–0.012	0.015 ± 0.002^a 0.010–0.020	0.012 ± 0.002^{ab} 0.006–0.017	0.021 ± 0.003^a 0.013–0.030	0.031 ± 0.004^a 0.019–0.044
Серая жаба	0.007 ± 0.001^c 0.001–0.021	0.010 ± 0.001^a 0.002–0.023	0.021 ± 0.003^b 0.004–0.054	0.023 ± 0.001^a 0.002–0.029	0.034 ± 0.002^{abc} 0.002–0.052	0.067 ± 0.005^a 0.004–0.084
Травяная лягушка	0.019 ± 0.001^b 0.004–0.051	0.021 ± 0.001^b 0.002–0.051	0.021 ± 0.003^b 0.003–0.075	0.027 ± 0.002^c 0.008–0.063	0.038 ± 0.003^b 0.008–0.102	0.056 ± 0.005^a 0.010–0.153
Прудовая лягушка	0.022 ± 0.005^b 0.009–0.061	0.025 ± 0.002^{bc} 0.014–0.038	0.025 ± 0.004^b 0.008–0.059	0.048 ± 0.006^d 0.013–0.091	0.050 ± 0.009^c 0.010–0.095	0.055 ± 0.018^b 0.021–0.238
Озерная лягушка	0.027 ± 0.003^d 0.014–0.043	0.030 ± 0.002^c 0.019–0.041	0.058 ± 0.004^c 0.042–0.078	0.050 ± 0.002^d 0.037–0.059	0.074 ± 0.003^d 0.048–0.088	0.101 ± 0.003^c 0.089–0.123

Примечание. Над чертой – средние значения и их ошибки ($x \pm tx$); под чертой – диапазон разброса. a, b, c – значения с разными буквенными надстрочными индексами достоверно различаются между видами (в колонках), при уровне значимости $p < 0.05$.

Таким образом, уровень накопления ртути в классе земноводных в определенной степени связан с местом вида в филогенетическом ряду, принадлежностью его к тому или иному отряду, семейству, роду и виду.

По содержанию ртути исследованные органы у разных видов амфибий не вполне совпадают: у озерной лягушки это печень > почки > сердце > мышцы > кишечник > кожа. У остальных трех бесхвостых амфибий – скелетные мышцы накапливают ртути больше, чем мышца сердца, причем у прудовой лягушки эти различия достоверны. У всех пяти исследованных видов земноводных самое высокое содержание металла отмечено в печени, ниже – в почках. По данным других авторов мышцы жабы *Bufo bufo* из района Тулос (Финляндия) содержали ртути 0.03мг/кг сырой массы, в то время как печень накопила в 4 раза больше – 0.12 [Terhivuo, 1984]. В почках озерной лягушки, обитающей в Казахстане, обнаружено металла 0.21, в печени – 0.38 мг/кг [Токтамысsoва, Маханбетова, 2007 (Toktamyssova, Makhanbetova, 2007)].

Более низкие концентрации зарегистрированы у лягушки прудовой. Среди исследованных земноводных озерная лягушка – филогенетически более продвинутая, и в органах представителей этого вида определены максимальные уровни накопления металла.

Среди исследованных земноводных жаба и озерная лягушка – наиболее крупные и прожорливые хищники, жертвами их являются любые организмы, которых они способны проглотить. Печень именно этих 2-х видов содержит ртути в большем количестве по сравнению с печенью других, более мелких видов амфибий, рацион питания которых более жестко ограничен величиной поедаемых объектов и сводится часто к молодым жертвам, которые еще не сумели накопить того количества металла, присутствующего во взрослых особях того же вида. Установлено, что у озерной лягушки, выловленной в природе в разных местах страны, представлено наибольшее разнообразие типов морфологических аномалий (всего 14), по сравнению с другими видами амфибий, обитающих там же [Файзулин, 2005, 2011, 2012 (Faizulin, 2005, 2011, 2012); Файзулин, Чихляев, 2006 (Faizulin, Chikhlyayev, 2006)]. Вероятно, это отражает интенсивность токсического пресса, под которым находится данный вид и непосредственно связанного с особенностями питания озерной лягушки.

В работах на зеленых и бурых лягушках показано, что уровни накопления ртути амфибиями определяются спектром их питания. Концентрация металла значительно выше в органах и тканях зеленых лягушек (озерная, прудовая), основу кормового спектра которых составляют гидробионты, в частности – водные беспозвоночные. У бурой лягушки (травяная) и жабы в рационе питания преобладают наземные виды насекомых и других беспозвоночных. Полученные данные свидетельствуют, что ртуть в организм исследованных видов амфибий поступает преимущественно с водными объектами питания. Ранее этот факт описан американскими учеными [Bank et al., 2007], которые проанализировали содержание ртути в головастиках 3-х видов амфибий из национального парка Акадия, предположительно загрязненного в 1947 г. ртутью в результате пожара. Они установили, что средняя концентрация металла у головастиков лягушки-быка составляла 0.0191 ± 0.0074 мг/кг сырой массы, головастика зеленой лягушки – 0.0253 ± 0.0015 , двулинейной саламандры – 0.0661 ± 0.0034 . Различия объяснили тем, что головастики указанных видов лягушек питаются водорослями, а головастики саламандры – мелкими водными беспозвоночными [Bank et al., 2007]. Помимо алиментарного поступления ртути в организм амфибий, теоретически возможно проникновение металла через кожные покровы, которые соприкасаются с водой и могут адсорбировать из нее различные соединения. Однако ртути в коже всех исследованных животных оказалось менее всего. Ее содержание у тритона (0.023 мг/кг) и лягушек (0.023 – среднее по всем 3 видам) одинаково, в коже жабы – достоверно ниже (0.007) (табл. 3). Особенности отличий в распределении ртути по органам между хвостатыми и бесхвостыми амфибиями в том, что у тритона в кожных покровах количество металла близко к таковому в почках и печени, а у бесхвостых – в 2–10 раз меньше по сравнению с другими органами.

Среди бесхвостых амфибий различия по накоплению ртути в коже жабы и двух видов зеленых лягушек выражены более отчетливо, чем в коже жабы и травяной лягушки (табл. 3). Жаба – наиболее сухопутная амфибия, реже всех соприкасается с водой и донными осадками, которые составляют, по мнению некоторых исследователей, основное хранилище ртути в пресноводных водоемах – от 20 до 100 нг/г [Li et al., 2010], превосходя в этом воздушную и наземную среду. Обе зеленые лягушки – озер-

ная и прудовая – обитают только вблизи водоема, не покидают его берегов и вынуждены многократно в течение дня погружаться в воду, чтобы кожа, как губка, впитывала в себя новую порцию воды, необходимую для нормальной жизнедеятельности. В отличие от них травяная лягушка обитает порой за несколько километров от водоема и пополняет запасы воды в организме подобно жабе, используя дожди, лужи или обильные росы.

Соотношение количества ртути в органах с наибольшими и наименьшими концентрациями (печень / кожа) самое высокое у жабы – около 10. У лягушек оно ниже: озерной – 3.7, прудовой – 2.5, травяной – около 3. Различия в распределении ртути по другим органам не столь велики. Концентрация металла в печени – наиболее выраженный и потому предпочтительный индикатор ртутного загрязнения при проведении мониторинга среды с использованием земноводных, хотя и выявление ртути в других органах также может оказаться полезным для подобных целей.

Место обитания животных оказывает влияние на количество аккумулированной ими ртути. Земноводные – не исключение, что подтверждают наши исследования, выполненные на травяной лягушке, собранной в 6 районах Вологодской области (рис. 2). Для особей из популяций, обитающих в северо-западных районах области (богатых крупными озерами и заболоченными территориями), отмечены высокие концентрации ртути в органах, особенно – печени: в Вытегорском районе – 0.10, Вашкинском – 0.082, Вожегодском – 0.083 мг/кг. Аналогичные показатели были ниже у особей из популяций, населяющих районы Великоустюгский – 0.017 (восток области) и Тотемский – 0.031 мг/кг (центральная часть области), которые лишены крупных озер. По содержанию ртути в печени травяной лягушки близок к ним Кадуйский район – 0.024 мг/кг. Выявлена достоверная положительная корреляция между концентрацией ртути в печени и мышцах травяной лягушки и озерностью территории обитания, а также среднегодовым количеством выпадающих там осадков. В печени травяной лягушки, отловленной в Ярославской области в окрестностях Борка, расположенного на берегу Рыбинского водохранилища и окруженного густой сетью каналов, речек, прудов, зафиксировано 0.073 мг/кг сырой массы ртути. Эта величина близка к значениям, ранее обнаруженным у амфибий, живущих в озерном крае Вологодской области, и много больше та-

ковых, обнаруженных у лягушек из относительно безводных районов области.

Ранее было показано, что в органах травяной лягушки (печень, почки, мышцы, легкие и икра), отловленной в Финляндии в относительно чистой зоне (южная часть, с. Тулос), среднее содержание ртути колебалось в пределах 0.03–0.08, а у лягушек из окрестностей г. Хельсинки и г. Порвoo – 0.03–0.19 мг/кг сырой массы [Terhivuo et al., 1984]. Статистически значимые различия по накоплению металла у амфибий этих двух популяций выявлены только в печени. Наши данные по этому орга-

ну травяной лягушки из семи районов двух вышеуказанных областей центральной России оказались ниже, чем у лягушек из окрестностей г. Хельсинки – 0.19 мг/кг, и сопоставимы с лягушками из экологически чистого Тулоса – 0.08, поскольку лежат в диапазоне 0.017–0.1. Таким образом, обследованный нами регион страны, при использовании в качестве индикатора ртутного загрязнения содержание металла в печени травяной лягушки, в целом выглядит благополучно. Это подтверждают и данные, полученные на других амфибиях.

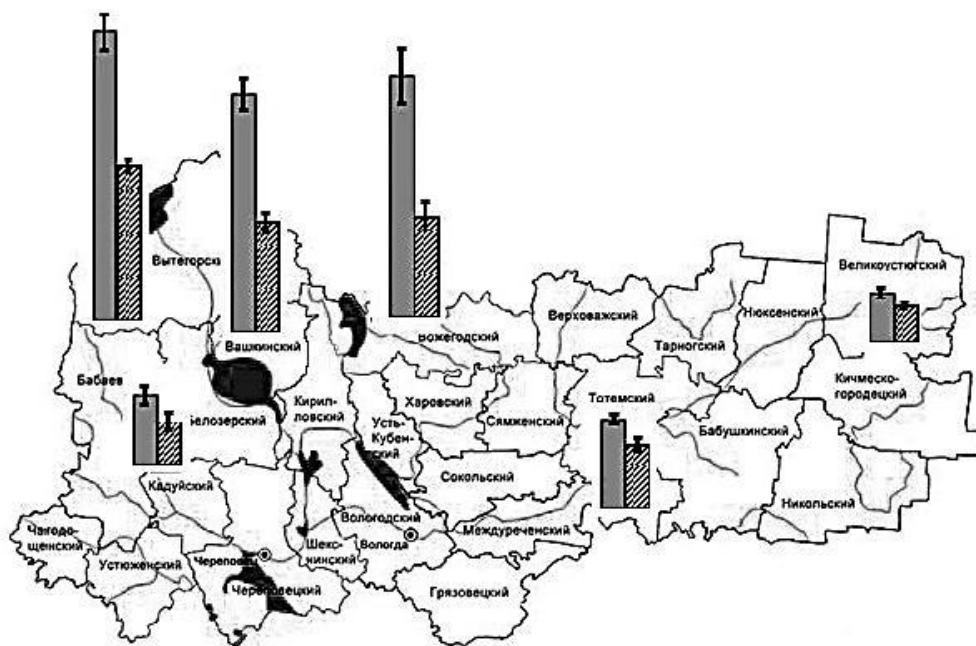


Рис. 2. Содержание ртути в печени (сплошная заливка) и в мышцах (узорная заливка столбца) травяной лягушки из разных районов Вологодской области.

Fig. 2. The mercury content in liver (entire shading) and muscles (patterned shading) of common frog from different regions of Vologda oblast.

В печени серых жаб Вологодской области из промышленно развитого Череповецкого района среднее содержание ртути было выше (0.075 мг/кг), чем у жаб, отловленных в Кирилловском (0.053) и Шекснинском (0.04) районах, удаленных на 50–100 км от заводов г. Череповца.

В вышеупомянутой работе [Terhivuo et al., 1984] приведены минимальные и максимальные уровни ртути, обнаруженные в разных органах серой жабы и травяной лягушки (0.03–0.12 мг/кг), отловленных в лесах Финляндии, не подверженных промышленному воздействию. Указанный для них диапазон выше аналогичного для наших земноводных

того же вида (0.003–0.101 мг/кг) во всех обследованных нами районах.

Различия усугубляются, если сравнивать концентрации ртути в печени жабы (0.067 мг/кг) и травяной лягушки (0.056), обитающих в Вологодской области, со значениями показателя для представителей тех же видов, отловленных в экологически чистых районах Югославии (0.74 и 0.48) [Bугне et al., 1975]. В районе крупного ртутного месторождения Идрии эти значения на порядки больше – 21.75 и 21.05 мг/кг соответственно [Bугне et al., 1975].

Концентрация ртути в печени и почках озерной лягушки из Череповецкого р-на Вологодской обл. (0.100 и 0.079 мг/кг соответ-

ственно) в несколько раз ниже, чем в этих же органах у озерной лягушки из окрестностей центра металлургической и горнодобывающей промышленности Центрального Казахстана – г. Темир-тау (0.38 и 0.21 мг/кг соответственно) [Токтамысова, Маханбетова, 2007 (Toktamyssova, Mahanbetova, 2007)]. То есть, содержание металла в окружающей среде – наиболее важный фактор, определяющий процесс аккумуляции его земноводными.

Пиявки в качестве пищевых объектов по своим размерам доступны всем видам исследованных амфибий, в том числе тритонам, зеленым и бурым лягушкам. Эти черви плотоядны, следовательно, способны аккумулировать и передавать ртуть далее по пищевым цепям.

У пиявок, отловленных в природе и при-

надлежащих к разным отрядам, семействам, родам и видам, зафиксировано различное содержание ртути (табл. 4). В целом можно сказать, что ее значения и различия в некоторой мере определяются видом и местом пиявки в филогенетическом ряду (табл. 4). Более четко это наблюдается при сопоставлении представителей из низких таксонов и менее – высоких. У представителей отряда хоботных (три вида из семейства плоские пиявки) на единицу сырой массы в среднем приходится 0.018 мг/кг, а у бесхоботных пиявок (филогенетически более продвинутый отряд) – больше – 0.043 (среднее значение по трем видам глоточных пиявок) и – 0.049 (среднее значение по органам челюстной пиявки).

Таблица 4. Содержание ртути (мг/кг сырой массы) у разных видов пиявок (расположены сверху вниз в последовательности от филогенетически более древних к более прогрессивным)

Table 4. The mercury content (mg/kg, wet weight) in different species of leeches (species are presented top-down in a sequence from more ancient phylogenetically to more progressive ones)

Вид Species	Hg	Описание пробы Sampe
<i>Hemiclepsis marginata</i>	0.022±0.007 0.012–0.051	Тело каждой особи целиком
<i>Glossiphonia complanata</i>	0.018±0.010 0.001–0.061	Тело каждой особи целиком
<i>Helobdella stagnalis</i>	0.014±0.008 0.000–0.021	Тела от группы особей
<i>Haemopsis sanguisuga</i>	0.034±0.017 0.001–0.074	Кожно-мускульный мешок
<i>H. sanguisuga</i>	0.065±0.032 0.008–0.134	Внутренние органы
<i>Erpobdella (Erpobdella) octoculata</i>	0.040±0.001 0.004–0.090	Тело каждой особи целиком (среднее по пиявкам из 3 разных прудов)
<i>E. (E.) testasea</i>	0.048±0.0196 0.011–0.099	Тело каждой особи целиком
<i>E. (Dina) lineata</i>	0.031±0.078 0.020–0.060	Тело каждой особи целиком

Авторы далеки от утверждения, что уровень эволюционного развития пиявок влияет на аккумуляцию ими ртути. Несомненно, этот процесс сильнейшим образом зависит от экзогенных и многих эндогенных (эколого-биологических и физиологических особенностей исследуемого организма) факторов. Это было продемонстрировано выше на примере амфибий, и как нам видится, справедливо для представителей класса пиявки.

Внутри семейства плоских пиявок средние видовые значения концентраций ртути у представителей родов *Hemiclepsis*, *Glossiphonia* и *Helobdella* различаются, хотя и не статистически значимо. Так кровососущая пиявка *Hemiclepsis marginata* находится на самой

вершине пищевой пирамиды, что отличает ее от двух других плоских пиявок и, возможно, это определяет более высокий уровень накопления ею металла по сравнению с ними. Хозяевами *H. marginata* наряду с карасями являются хищные виды – щука и зеленые лягушки – животные, концентрация ртути в органах и тканях которых выше, чем в поедаемых ими жертвах. Но в теле *H. marginata*, ртути на единицу массы оказалось меньше, чем в организмах, на которых она паразитирует, возможно, по ряду причин. Накопление ртути длится всю жизнь, а ее продолжительность у данной пиявки редко составляет более 2-х лет, рыбы и амфибии живут в несколько раз дольше. Кровь позвоночных содержит гораздо меньше ртути,

чем их мышцы или другие органы. Кроме того, *H. marginata* после 4–5 кормлений достигает половозрелости и в последующие 1.5–2 месяца не питается, неподвижно сидит в укромном месте 10–14 дней, пока формируются яйца и еще 2–3 недели “насиживает” их после откладки на субстрат.

Наименьшее количество ртути (0.014 мг/кг) среди плоских пиявок обнаружено у *Helobdella stagnalis*. Возможно, сказывается короткая продолжительность жизни – около 6 месяцев и 1–2 репродуктивных цикла. При этом материнская особь носит вылупившуюся из яиц и прикрепившуюся к ней молодь на своем брюшке, и определенное время кормит ее секретом своих желез, следовательно, ртуть может частично выводиться с продуктами вскармливания потомства.

Glossiphonia complanata живет более двух лет, приступает к размножению обычно на 2-м году жизни и занимает промежуточное положение по накоплению ртути среди плоских пиявок.

Глоточные пиявки, отловленные в четырех прудах вблизи п. Борок, принадлежат к 3-м видам подродов *Erpobdella* и *Dina*. В отличие от плоских пиявок все они очень активные, подвижные и прожорливые хищники, питание которых в теплый период года не прекращается ни на один день. У них отсутствуют длительные периоды голодания, вызванные заботой о потомстве, как у плоских пиявок. Глоточные пиявки откладывают единичные коконы (в среднем с семью яйцами в них). *E. (E.) octoculata* и *E. (E.) testacea* относятся к видам с широким кормовым спектром: в различных по типу водоемах у п. Борок В.П. Луферовым установлено 27 видов животных, поедаемых этими червями [Луферов, 1963 (Luferov, 1963)]. Среднее содержание ртути у всех видов глоточных пиявок оказалось выше, чем у плоских пиявок, что относится и к виду *E. (D.) lineata*. Данный вид – южный вселенец, обитает в пересыхающем пруду с относительно бедным населением макрозообентоса. Особи *E. (D.) lineata* по своей природе или в наших широтах и условиях мельче представителей подсем. *Erpobdella* (*Erpobdella*). На момент вылова они оказались ювенильными, в то время как черви подсем. *Erpobdella* либо уже достигли половозрелости, либо были к ней близки. Пищевой спектр сравниваемых видов пиявок различен. Глоточные пиявки всеядны. Пруды и канал богаче представлены долгоживущими беспозвоночными, чем пересыхаю-

щий пруд, в котором преобладают короткоживущие виды, в основном личинки разных комаров. Вероятно, поэтому объекты питания *E. (D.) lineata* из пруда в отличие от таковых, поедаемых глоточными пиявками в других водоемах накапливали ртуть менее интенсивно. Не исключено, что особи *E. (D.) lineata* существовали в пруду в полуголодном состоянии.

Внутри отряда бесхоботных в телах представителей более молодого семейства глоточных зарегистрированы более высокие концентрации ртути, чем в мышечной пробе большой ложноконской пиявки *Haemopsis sanguisuga* из сем. челюстных. В организме последней содержание ртути во внутренних органах (ботрионидная ткань пиявки выполняет функцию печени) сопоставимо и даже превосходит уровень ртути в печени некоторых земноводных.

Масса пиявки определяется в основном массой ее кожно-мускульного мешка и в меньшей мере – массой внутренних органов. Самый низкий уровень накопления ртути у червей, обнаруженный в теле плоских пиявок, чуть превышает таковой в мышцах тритона и его кишечнике, хотя и не достигает значений показателя в печени. В целом концентрации, характеризующие процесс накопления ртути разными видами пиявок, находятся в тех же пределах, что и у земноводных – в органах (печень, иногда почки), доминирующих по скорости аккумуляции и относительному (на единицу массы) содержанию металла (за редким исключением). Авторы предполагали, что ртути в земноводных окажется гораздо больше, чем в беспозвоночных, в частности пиявках, хотя бы в связи с различиями в продолжительности жизни. Выявленная незначительность отличий, возможно, связана с особенностями сред обитания и образом жизни изучаемых групп. Рацион земноводных характеризуется порой значительным присутствием в нем наземных объектов питания, а у водных червей он состоит исключительно из гидробионтов. Скорость обмена веществ у исследованных групп животных также различна. На переваривание пищевых объектов у амфибий уходит несколько дней, 7 суток при температуре 15°C [Сергеев, 2012 (Sergeev, 2012)]. Пиявки относятся к прожорливым животным, в лабораторных условиях представители бесхоботных (челюстная и глоточная пиявки) едят ежедневно, и можно видеть через просвечивающие покровы, как по утрам их желудочно-кишечный тракт заполняется едой, а спустя 3–5 часов он абсолютно пуст.

Экспериментально выявленное накопление ртути, поступающей в организм головастика и пиявок с пищей. Последствия кормления животных природным кормом с разным содержанием в нем ртути отразились на процессе ее накопления, скорости метаморфоза личинок жабы и вызвали модификацию поведения у головастика лягушки и пиявок.

Количество накопленной ртути контрольными и опытными головастиками к моменту достижения ими стадии “появление задних лапок”, существенно различалось (табл. 5). В телах контрольных головастика концентрация металла колебалась вблизи значения 0.07 мг/кг на протяжении всего эксперимента. Незначительное накопление ртути, возможно, нивелировалось увеличением массы особей по мере роста. У головастика из опыта происхо-

дило быстрое накопление ртути, и за период наблюдения ее содержание увеличилось более чем в три раза. К окончанию опыта концентрация ртути у опытных головастика (0.6 мг/кг) была выше, чем в контроле (0.069) почти в 10 раз (табл. 5). Ежедневное число головастика, достигших стадии метаморфоза “появление задних конечностей”, в контроле было меньше, чем в опыте (табл. 5). На пятый день наблюдения указанной стадии развития в опытной группе достигло 35% особей, а в контрольной – только 12%; на 10-й день – 53 и 22, на 15-й день – 88 и 39 соответственно (рис. 3).

В контрольном варианте особи с задними конечностями появлялись в случайной последовательности, и лишь после 14 суток эксперимента процесс приобретал экспоненциальный характер (рис. 4).

Таблица 5. Влияние корма с разным содержанием ртути на ее накопление головастиками и скорость их развития в эксперименте

Table 5. Mercury accumulation (mg/kg wet weight) by tadpoles in the experiment upon feeding on food items with different Hg content and the effect of feeding on the rate of their development, i.e. appearance of posterior extremities

Сутки Day	Среднее содержание ртути у головастика с задними конечностями, мг /кг сырой массы The average concentrations of mercury in tadpoles with posterior extremities, mg /kg wet weight		Количество особей с задними конечностями Appearance of posterior extremities	
	Контроль, корм 1 Control, food 1	Опыт, корм 2 Experiment, food 2	Контроль, корм 1 Control, food 1	Опыт, корм 2 Experiment, food 2
1		0.197	0	4
2	0.069	0.331	4	36
3	0.068	0.352	20	22
4	0.073	0.422	4	8
5	0.068	0.379	10	20
6	0.067	0.407	8	27
7	0.070	0.442	10	24
8	0.067	0.459	4	6
9	0.070	0.472	8	12
10	0.069	0.514	18	30
11	0.068	0.511	2	6
12	0.068	0.530	2	30
13	0.070	0.599	18	12
14	0.070	0.588	18	10
15	0.069	0.530	48	4
16	0.069	0.599	100	16

Примечание: контроль, корм 1 – 0.02 мг/кг; опыт, корм 2 – 0.07–0.11 мг/кг.

Известно, что на скорость метаморфоза амфибий в первую очередь влияют температура и химический состав окружающей среды [Лобачев, 2008 (Lobachev, 2008)]. Ртуть, присутствующая в корме, – неотъемлемая часть водной экосистемы, и ее влияние на развитие головастика подтверждено статистически: число особей с задними конечностями положительно коррелировало с накоплением ртути в

их телах (коэффициент корреляции $s = 0.96$, $p \ll 0.001$; коэффициент детерминации линейной модели $R^2 = 0.91$, условия линейной регрессии выполняются). Скорость метаморфоза у головастика, питавшихся кормом с повышенным содержанием ртути, линейно зависела от ее накопления в организме (рис. 4). Оно происходило также почти линейно со средней скоростью 0.027 мг/кг в сутки.

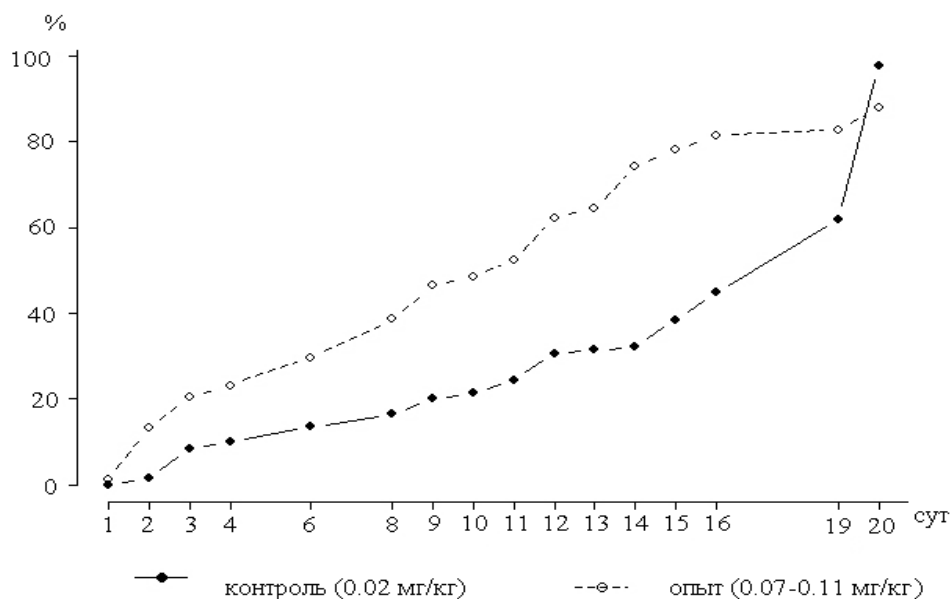


Рис. 3. Доля личинок жабы, достигших стадии метаморфоза “головастики с задними конечностями” (%), при кормлении фаршем с разным содержанием ртути (контроль – 0.02 мг/кг – сплошная линия; опыт – 0.07–0.11 мг/кг – пунктирная линия).

Fig. 3. Percent of toad larvae at the stage of metamorphosis, tadpoles with posterior extremities, upon their feeding on food items with different Hg content (control – 0.02 mg/kg is marked by a solid line; experiment – 0.07–0.11 mg/kg is marked by a dashed line).

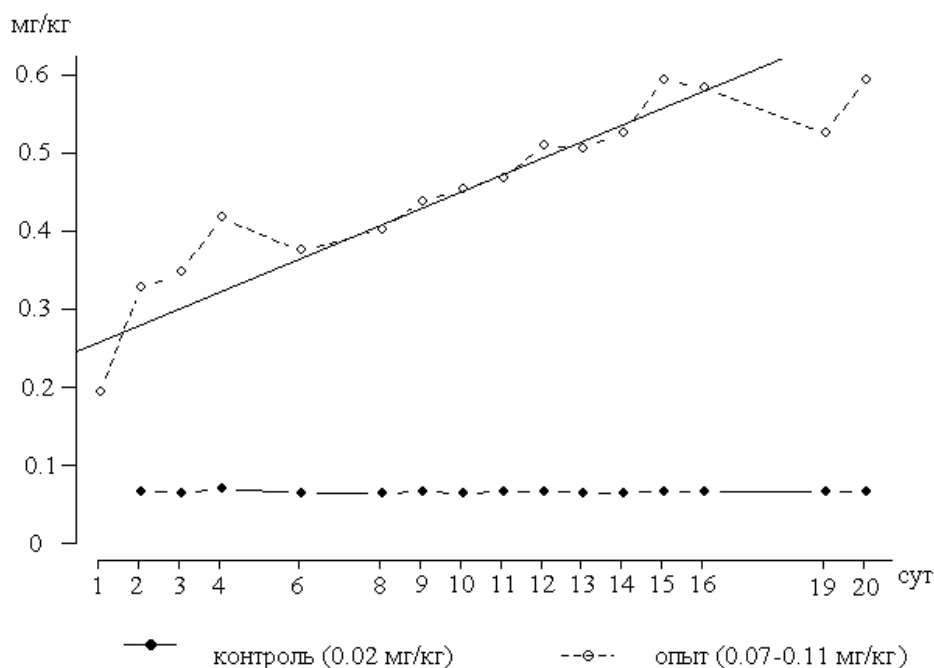


Рис. 4. Динамика накопления ртути (мг/кг сырой массы) головастиками серой жабы, получавшими корм с разным ее содержанием (контроль – 0.02 мг/кг; опыт – 0.07–0.11 мг/кг, рядом показана линия тренда линейной регрессии).

Fig. 4. Dynamics of mercury accumulation (mg/kg, wet weight) by tadpoles of common toad upon feeding on food items with different Hg content (control – 0.02 mg/kg; experiment – 0.07–0.11 mg/kg; the line of the trend of linear regression is presented nearby. Determinations were made only in tadpoles which reached the stage of appearance of posterior extremities).

Стимуляция развития головастика жабы в опыте может быть связана с неспецифической реакцией организма на токсический фактор незначительной силы, т.е. ее можно объяснить, исходя из понятия общего адаптационного синдрома Селье [Селье, 1960 (Selye, 1960)]. Согласно ему, ответная реакция организма на любой стресс, в том числе химический, включает три фазы: “тревоги”, когда происходит мобилизация и стимуляция всех ресурсов для противостояния угрожающему фактору, “сопротивления” – организм борется с негативным воздействием и последняя фаза – “утомление или истощение”. Она наступает,

если организм в борьбе истощил свои физиологические ресурсы, не сумев преодолеть стресс [Селье, 1960 (Selye, 1960)]. При использовании корма с повышенным содержанием ртути и продолжительности его потребления около трех недель, состояние опытных головастика не выходит за пределы первой и второй фаз, характеризующихся стимуляцией и подъемом всех сил организма на преодоление негативных последствий от поступления в него ртути. Закончив раньше метаморфоз, в природе молодые жабы смогли бы раньше покинуть загрязненный ртутью водоем, чем их сверстники, развивающиеся в чистой воде.

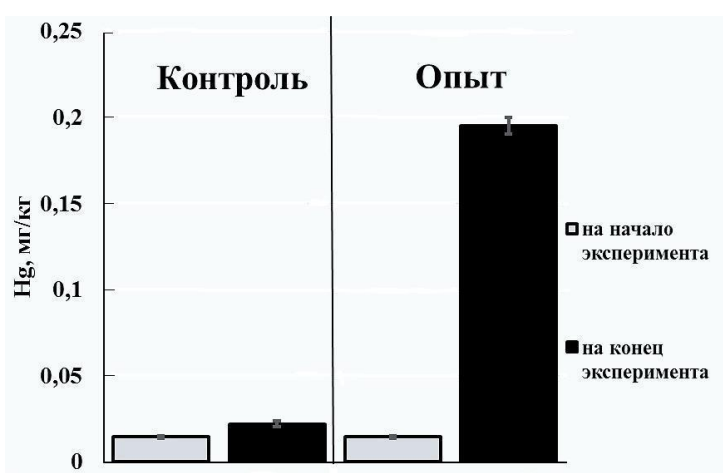


Рис. 5. Накопление ртути головастиками прудовой лягушки при кормлении рыбным фаршем с разным содержанием металла в течение 17 дней.

Fig. 5. Mercury accumulation by tadpoles of pool frog upon feeding on minced fish with different Hg content during 17 days.

Близкие значения содержания ртути (0.02–0.20 мг/кг) обнаружены у экспериментальных головастика прудовой лягушки. Концентрации ртути в день их вылова из пруда и спустя 17 дней на стадии развития – “лягушонок с остатками хвоста” (непосредственно перед тестом «хищник – жертва»), статистически достоверно различались (рис. 5).

Количество ртути в контрольных особях (0.02 мг/кг) было в 10 раз меньше, чем в опытных (0.2), что, по-видимому, и определило результат опыта “хищник – жертва”. В присутствии хищной пиявки им удавалось более ловко увертываться от нее – зарегистрировано лишь два контакта с хищницей (по одному в двух повторностях); у опытных – 12 контактов в 7 повторностях. Различие в показателе оборонительно-пищевого поведения у головастика из контрольной и опытной групп статистически достоверно (критерий Краскела–Уоллиса: $\chi^2 = 5.89$, $p = 0.015$, пермутационный аналог

ANOVA: $n = 999$, $F = 8.04$, $p = 0.029$).

Аналогичный результат был получен авторами [Ляпкина и др., 2002 (Lapkina et al., 2002)] ранее: интактные особи челюстной пиявки *Haemopis sanguisuga* быстро ловили и поедали опытных головастика лягушки и менее удачливы были при охоте за интактными особями. Это может косвенно указывать на то, что аккумулированная головастиками жабы и лягушки ртуть, достаточно быстро начинает проявлять в организме свои нейротоксические свойства. Снижение способности жертв под действием ртути успешно избегать охотника, повышало скорость их выедания и способствовало циркуляции металла в водоеме. В свою очередь хищник, поедающий в первую очередь ослабленные организмы, сам накапливал ртуть, постепенно утрачивая свои охотничьи навыки, что, видимо, позволяло системе хищник-жертва оставаться в равновесии.

Пиявок, как и головастиков земноводных, в эксперименте кормили рыбным фаршем с малым (1) и большим (2) содержанием ртути. Во всех четырех группах пиявки активно накапливали ртуть, поступающую с кормом 2 и, в меньшей мере, – с кормом 1 (табл. 6), в отличие от головастиков жабы и прудовой лягушки, у которых в контроле заметного увеличения содержания ртути не отмечали.

Относительная скорость аккумуляции ртути у пиявок в опыте (корм 2) была значительно выше, чем у головастиков при потреб-

лении ими корма с таким же содержанием металла. Например, количество ртути, обнаруженное у головастиков жабы после 15-ти суточного пребывания в опыте, достигло значения 0.6 мг/кг сырой массы, против начального 0.4 (табл. 5), т.е. выросло до 150%. У четырех групп глоточных пиявок перерасчет средних значений (месячных и 2-х месячных) на те же 15 суток дал диапазон увеличения ртути в опыте по отношению к начальному уровню 160–290%, что в среднем по всем 4 группам составило 232%.

Таблица 6. Накопление ртути глоточными пиявками в эксперименте, при кормлении фаршем с разным содержанием металла (контроль, корм 1 – 0.02 мг/кг; опыт, корм 2 – 0.07–0.11 мг/кг)

Table 6. Mercury accumulation (mg/kg, wet weight) by pharyngeal leeches in the experiment upon feeding on food items with different Hg content (food 1 – 0.02 mg/kg – control; food 2 – 0.07–0.11 mg/kg – experiment)

Вид пиявок, группа Species, group	Среднее содержание Hg в пиявках, мг/кг сырой массы The average concentration of Hg in the leeches, mg/kg wet weight					Продолжительность опыта Duration experience
	Начальное (с) The initial (c)	После корма 1 (с ₁) After feeding 1 (c ₁)	c ₁ / c	После корма 2 (с ₂) After feed 2 (c ₂)	c ₂ / c	
<i>Erpobdella</i> (<i>E.</i>) <i>octoculata</i> , группа I	0.039	<u>0.128±0.01</u> 0.070–0.220	3.3	<u>0.377±0.050</u> 0.137–1.260	9.8	2 месяца
<i>E. (E.) octoculata</i> , группа II	0.054	<u>0.123±0.04</u> 0.080–0.160	2.2	<u>0.366±0.014</u> 0.280–0.470	6.7	2 месяца
<i>E. (E.) octoculata</i> , группа III	0.041	<u>0.062±0.005</u> 0.040–0.090	1.5	<u>0.238±0.009</u> 0.174–0.280	5.8	1 месяц
<i>E. (D.) lineata</i> , группа IV	0.031	<u>0.111±0.004</u> 0.080–0.150	3.6	<u>0.346±0.018</u> 0.221–0.495	11.0	2 месяца

Примечание. В таблице над чертой – средние значения и их ошибки ($x \pm tx$), под чертой минимальное и максимальное значение показателя.

Таблица 7. Оценка влияния повышенного содержания ртути на проявление положительного тигмотаксиса по критерию Краскела-Уоллиса

Table 7. Assessment of the effect of high mercury content on manifestation of positive thigmotaxis using the Kruskal-Wallis H test. Statistically significant values are in bold type

№	Вид	Место отбора проб	n	χ^2	p
I	<i>E. octoculata</i>	Борок, Ярославская область	18	2.65	0.100
II	<i>E. octoculata</i>	Большое Дьяконово	19	5.13	0.024
III	<i>E. octoculata</i>	Малое Дьяконово	12	0.36	0.540
IV	<i>E. (D) lineata</i>	Борок, Ярославская область	20	8.26	0.004
V	<i>E. (D) lineata</i>	Вологодская область, Никольский р-он	18	5.46	0.020

Примечание: выделены статистически значимые различия.

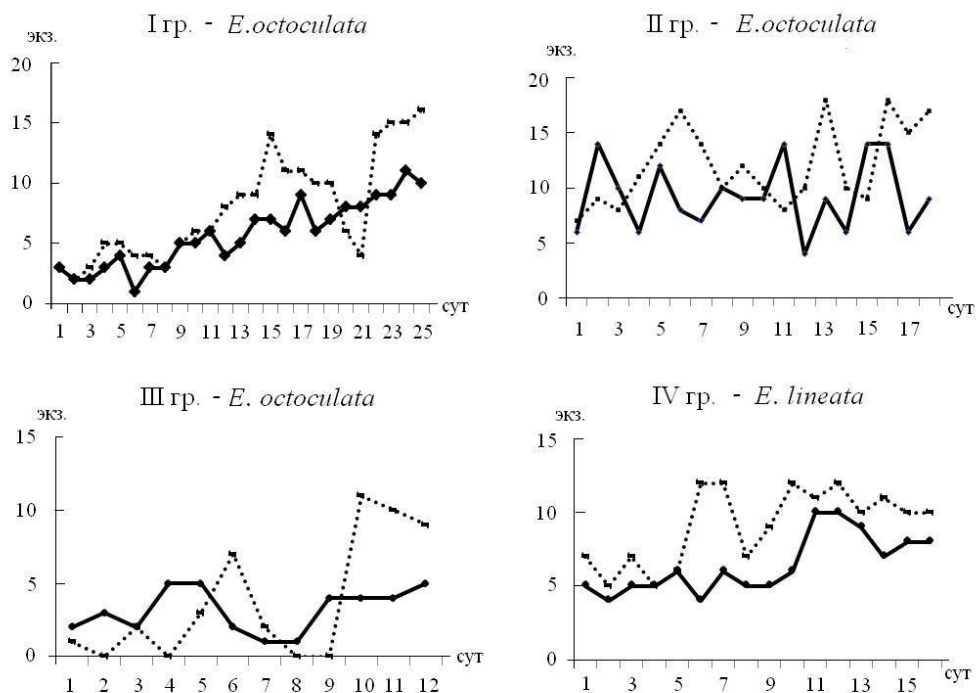


Рис. 6. Влияние концентрации ртути, присутствующей в корме, на количество пиявок, проявляющих положительный тигмотаксис. Сплошная линия – 0.02 мг/кг – контроль; пунктирная линия – 0.07–0.11 мг/кг корма – опыт.

Fig. 6. The effect of mercury concentration in the food on the number of leeches demonstrating positive thigmotaxis.; Control, 0.02 mg/kg, is denoted by a solid line; experiment, 0.07–0.11 mg/kg is denoted by a dashed line

В лабораторном эксперименте, при соблюдении одинаковых внешних условий, в том числе температурных и пищевых, у глоточных пиявок двух подсемейств зафиксирована различная скорость накопления ртути. Более быстрыми темпами (с превышением начального уровня в 11 раз) росло ее количество в телах *Erpobdella (D.) lineata*. Возможная причина в том, что выловленные пиявки оказались ювенильными и даже к концу опыта не достигли половозрелости. Известно, чем моложе особь пиявки, тем большее количество корма потребляет она на единицу своей массы [Монаков, 1998 (Monakov, 1998)]. К тому же особи *E. (E.) octoculata* в сумме по трем контрольным вариантам отложили 55 коконов, в трех опытных – 45 коконов, то есть часть червей была половозрелой, и, возможно, ртуть частично была ими выведена с коконами.

В целом, эксперимент с пиявками подтвердил: количество накопленной ими ртути, как и у головастиков, коррелировал с концентрацией ее в корме, а также с продолжительностью опыта. То есть прослеживались дозо- и времязависимые эффекты накопления алимен-

тарно поступающей в организм экспериментальных животных ртути.

По нашим наблюдениям тигмотаксис (тяготение к ориентации по тактильным раздражениям) преобладал над другими формами таксисов (фото-, рео-, хемо- и т.д.). Данный таксис имеет знак плюс, если пиявка нуждается в отдыхе и укрытии. Утоление голода, охота, поиск полового партнера, места для откладывания коконов – эти потребности для реализации требуют отрицательного тигмотаксиса.

Экспериментальные особи *E. (E.) octoculata* были половозрелыми, спаривались, откладывали коконы, частично уничтожали их, разрушали оболочку и выедали содержимое – проявляли каннибализм, т.е. вели в условиях лаборатории активную жизнь (рис. 6). В начале эксперимента лишь малая часть особей, контрольных и опытных, проявляла положительный тигмотаксис, но с каждым последующим днем у тех и других число особей, предпочитающих покой и отдых, увеличивалось, причем в опыте быстрее, чем в контроле (рис. 6). Прямо или опосредовано присутствие ртути в организме усиливало стремление пиявок забраться

под предметное стекло в позицию наибольшего соприкосновения бокаловидных органов (чувствительных структур, расположенных на ее теле метамерно, поперечными рядами) с субстратом. Статистически значимые различия в поведении пиявок в контроле и эксперименте с повышенным содержанием ртути в пище наблюдаются в трех опытах из пяти.

Агрегация пиявок под стеклом в опыте иногда была настолько велика, что с субстратом соприкасались не только рецепторы брюшка, спины, но и боковых поверхностей –

черви вплотную прилегали друг к другу. Ранее в других токсикологических экспериментах многократно наблюдали, как хроническая интоксикация способствовала агрегации пиявок – они собирались в клубок. Подобное происходило и под действием других неблагоприятных факторов – голода, низких температур.

Таким образом, неспецифическое усиление положительного тигмотаксиса можно расценивать как модификацию поведения пиявок под влиянием такого негативного фактора, как накопление в их организме ртути.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Содержание ртути в различных органах амфибий и телах пиявок, отловленных в водоемах Вологодской и Ярославской областей, варьировало в широком интервале концентраций (0.004–0.101 мг/кг сырой массы). Как правило, оно было ниже значений показателя, ранее выявленных авторами при исследовании рыб и теплокровных позвоночных, обитающих в тех же регионах. В каждом из классов наблюдали следующую тенденцию – у более высокоорганизованных и филогенетически более молодых видов концентрации ртути в органах или телах были выше, чем у низкоорганизованных и филогенетически более древних.

При неравномерном распределении ртути по органам амфибий, наиболее высокие ее концентрации у всех исследованных животных были отмечены в печени. Различия в уровнях накопления ртути разными органами земноводных могли определяться популяционными

различиями, если представители вида обитали в разных по экологическому статусу районах, или – в разных средах (водной, наземной). Чем больше гидробионтов присутствовало в пищевом рационе амфибий, тем интенсивнее они накапливали ртуть.

В эксперименте, вне зависимости от видовой принадлежности животных (головастики жабы и прудовой лягушки, пиявки сем. *Erpobdellidae* (*E. (E) octoculata* и *E. (D) lineata*)), содержание ртути в телах всегда коррелировало с концентрацией металла в корме. Выявлены дозо- и времязависимый эффекты накопления ртути в организме животных, а также некоторые биологические последствия, вызванные этим процессом – увеличение скорости метаморфоза личинок жабы, модификация поведения головастиков прудовой лягушки и пиявок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ананьева Н.Б., Боркин Л.Я., Даревский И.С., Орлов Н.Л. Энциклопедия природы России: земноводные и пресмыкающиеся. Москва: ABF, 1998. 596 с.
- Вершинин В.Л. Видовой комплекс амфибий в экосистемах крупного города // Экология. 1995. № 4. С. 299–306.
- Габайдуллин А.Г., Ильина Е.М., Рыжов В.В., Хамитова Р.Я. Охрана окружающей среды от ртутного загрязнения. Казань: Магариф, 1999. 95 с.
- Дунаев Е.А. Разнообразие земноводных (по материалам экспозиции Зоологического музея МГУ). М.: Изд-во МГУ, 1999. 304 с.
- Дунаев Е.А., Орлова В.Ф. Земноводные и пресмыкающиеся России. Атлас-определитель. М.: Фитон +, 2012. 320 с.
- Казначеев С.В., Дарянин В.Д. Воздействие ртути и ее соединений на организм человека в экологических ситуациях // Поведение ртути и других тяжелых металлов в экосистемах: Аналитический обзор. Ч. II: Процессы биоаккумуляции и экотоксикологии. Новосибирск: ГПНТБ СО АН СССР, 1989. С. 122–146.
- Комов В.Т., Степина Е.С., Гремячих В.А., Поддубная Н.Я., Борисов М.Я. Содержание ртути в органах млекопитающих семейства куных (*Mustelidae*) Вологодской области // Поволжский экологический журнал. 2012. № 4. С. 385–393.
- Кузьмин С.Л. Земноводные бывшего СССР. 2-е изд. М.: Т-во научн. изд. КМК, 2012. 370 с.
- Кузьмин С.Л., Сурова Г.С. Обеспеченность травяной лягушки (*Rana temporaria*) пищей в разных географических популяциях // Экология. 1994. № 4. С. 59–66.
- Лапкина Л.Н., Комов В.Т., Степанова И.К. Влияние алиментарно поступающей ртути на результативность реакций у хищника и жертвы // Современные проблемы водной токсикологии: сб. тез. докл. I Всероссийской конференции. Борок, 2002. С. 48–49.

- Лобачев Е.А. Влияние колебаний экологических факторов на эмбрионально-личиночное развитие земноводных. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Саранск, 2008. 23 с.
- Лукин Е.И. Фауна СССР. Пиявки. Л.: Наука, 1976. 484 с.
- Лукин Е.И. Пиявки // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Л.: ЗИН АН СССР, 1977. 510 с.
- Луферов В.П. Наблюдения по биологии пиявок рода *Herpobdella* // Материалы по биологии и гидрологии волжских водохр. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1963. С. 61–65.
- Моткова М.Ю., Гаранин В.И. Роль личинок бесхвостых амфибий в трофических цепях пресных водоемов // Экология урбанизированных территорий. Казань: Изд-во Казанск. ун-та, 1987. С. 33–42.
- Монаков А.В. Питание пресноводных беспозвоночных. М.: ИПЭЭ РАН, 1998. 320 с.
- Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Мещерякова О.В., Комов В.Т. Ртуть в рыбах // Биосфера. 2014. Т. 6. № 2. С. 176–186.
- Писанец Е.М. Амфибии Украины // Справочник-определитель земноводных Украины. Киев: Зоол. музей ННПМ НАН Украины, 2007. 312 с.
- Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медгиз, 1960. 254 с.
- Сергеев Б.Ф. Мир амфибий. М.: Книжный дом "ЛИБРОКОМ", 2012. 192 с.
- Токтамысова З.С., Маханбетова Г.М. Озерная и остромордая лягушки на дестабилизированных территориях Центрального Казахстана // Биоразнообразие и роль животных в экосистемах: сб. материалов IV Междунар. конф. Днепропетровск: ДНУ, 2007. С. 403–404.
- Файзулин А.И. Анализ разнообразия морфологических аномалий как критерий оценки состояния популяции озерной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura, Amphibia) в Самарской области // Популяции в пространстве и времени: сб. материалов VIII Всерос. популяционного семинара. Н. Новгород, 2005. С. 433–434.
- Файзулин А.И. О морфологических аномалиях бесхвостых земноводных (Anura, Amphibia) Волжского бассейна // Праці Укр. Герпетол. Товариства. 2011. № 3. С. 201–207.
- Файзулин А.И. Встречаемость и разнообразие морфологических аномалий популяций озерной лягушки (Anura, Amphibia) Среднего Поволжья // Изв. Самар. НЦ РАН. 2012. Т. 14. № 5. С. 150–159.
- Файзулин А.И., Чихляев И.В. Морфологические аномалии бесхвостых земноводных (Anura, Amphibia) Среднего Поволжья // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: сб. научн. тр. Вып. 9. Тольятти, 2006. С. 178–182.
- Файзулин А.И., Чихляев И.В., Кузовенко А.Е. Амфибии Самарской области. Тольятти: Кассандра, 2006. 140 с.
- Banks M.S., Crocker J., Connery B., Amirbahman A. Mercury bioaccumulation green frog (*Rana clamitans*) and gulf frog (*Rana catesbeiana*) tadpoles from Acadia National Park, Maine, USA. 2007 // Environ. Toxicol. Chem. 2013. V. 26. P. 118–125.
- Bloom N. S. On the chemical form of mercury in edible fish and marine in-vertebrate tissue // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1992. V. 49. P. 1010–1017.
- Byrne A.R., Kosta L., Stegnar P. The occurrence of mercury in amphibian // Environ. Lett, 1975. V. 8. P. 147–155.
- Ellis D. Environments at risk. Case histories of impact assessment. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag, 1989. 329 p.
- Freedman B. Environmental ecology. San Diego: Academic Press Inc., 1989. 424 p.
- Kruskal W. H., Wallis W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis // J. Amer. Statistic. Ass. 1952. V. 47. № 260. P. 583–621.
- Li Y.H., Sohrin Y., Takamatsu T. Lake Biwa and the ocean: geochemical similarity and difference // Limnology. 2010. V. 12. № 1. P. 89–101.
- 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. V. 36. № 1. P. 12–18.
- Shapiro S.S., Wilk M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples) // Biometrika. 1965. V. 52. № 3–4. P. 591–611.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of Statistics in biological research. N.Y.: W.H. Freeman and Company, 1995. 887 p.
- Stepanova I.K., Komov V.T. Mercury accumulation in fish from water bodies of the Vologodskaya oblast // Russ. J. Ecol. 1997. V. 28. № 4. С. 260–264.
- 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. V. 21. P. 41–44.

REFERENCES

- Ananeva N.B., Borkin L.Y., Darevskiy I.S., Orlov N.L. 1998. Zemnovodnye i presmykayushchiesya: enciklopediya prirody Rossii [Encyclopedia of the nature of Russia: amphibians and reptiles]. M.: ABF. S. 19–174. [In Russian].
- Banks M.S., Crocker J., Connery B., Amirbahman A. 2013. Mercury bioaccumulation green frog (*Rana clamitans*) and gulf frog (*Rana catesbeiana*) tadpoles from Acadia National Park, Maine, USA. 2007 // Environ. Toxicol. and Chem. V. 26. P. 118–125.

- Bloom N.S. 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine in-vertebrate tissue // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 49. P. 1010–1017.
- Byrne A.R., Kosta L., Stegnar P. 1975. The occurrence of mercury in amphibian // Environ. Lett. V. 8. P. 147–155.
- Dunaev E.A. 1999. Raznoobrazie zemnovodnykh po materialam ehkspozicii Zoologicheskogo muzeya MGU [The diversity of amphibians (based on the materials of the exposition of the Zoological Museum of Moscow State University)]. M.: Izd-vo MGU. 304 s. [In Russian]
- Dunaev E.A., Orlova V.F. 2012. Zemnovodnye i presmykayushchiesya Rossii: Atlas opredelitel [Amphibians and reptiles of Russia. Definitive Atlas]. M.: Fiton. 320 s. [In Russian]
- Ellis D. 1989. Environments at risk. Case histories of impact assessment. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag. 329 p.
- Fayzulin A.I. 2005. Analiz raznoobraziya morfologicheskikh anomalii kak kriteriya ocenki sostoyaniya populyatsii ozernoy lyagushki *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura Amphibia) v Samarskoy oblasti // Populyatsii v prostranstve i vremeni: Sb. Mat. VIII Vseros. populyacionnogo seminar [Analysis of the diversity of morphological anomalies as a criterion for assessing the state of the population of the lake frog *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura, Amphibia) in the Samara Region // Population in Space and Time: Sat. Materials VIII Vseros. Population workshop]. N. Novgorod. S. 433–434. [In Russian]
- Fayzulin A.I. 2011. O morfologicheskikh anomaliiakh beskhvostykh zemnovodnykh Anura Amphibia Volzhskogo basseyna [About morphological anomalies of tailless amphibians (Anura, Amphibia) of the Volga Basin] // Praci. Ukr. Gerpetol. Tovaristva. № 3. S. 201–207. [In Russian]
- Fayzulin A.I. 2012. Vstrechaemost i raznoobrazie morfologicheskikh anomalii populyatsiy ozernoy lyagushki Anura Amphibia Srednego Povolzhya [The occurrence and diversity of morphological anomalies in populations of the lake frog (Anura, Amphibia) of the Middle Volga region] // Izv. Samar. NC RAN. T. 14. № 5. S. 150–159. [In Russian]
- Fayzulin A.I., Chikhlyayev I.V. 2006. Morfologicheskie anomalii beskhvostykh zemnovodnykh Anura Amphibia Srednego Povolzhya // Aktualnye problemy gerpektologii i toksikologii [Morphological anomalies of tailless amphibians (Anura, Amphibia) of the Middle Volga region // Actual problems of herpetology and toxicology] Sb. nauchn tr. Vyp. 9. Tolyatti. S. 178–182. [In Russian]
- Fayzulin A.I., Chikhlyayev I.V., Kuzovenko A.E. 2006. Amfibii Samarskoy oblasti [Amphibians of the Samara Region]. Tolyatti. Cassandra. 140 s. [In Russian]
- Freedman B. 1989. Environmental ecology. San Diego: Academic Press Inc. 424 p.
- Gabaydullin A.G., Ilina E.M., Ryzhov V.V., Khamitova R.Y. 1999. Okhrana okruzhayushchey sredy ot rtutnogo zagryazneniya [Environmental protection from mercury pollution]. Kazan: Magarif. 95 s. [In Russian]
- Kaznacheev S.V., Daryanin V.D. 1989. Vozdeystvie rtuti i ee soedineniy na organizm cheloveka v ehkologicheskikh situatsiyakh Povedenie rtuti i drugih tyazhelykh metallov v ehkositemakh. Analiticheskiy obzor [The effect of mercury and its compounds on the human body in environmental situations // Behavior of mercury and other heavy metals in ecosystems: Analytical review. Part II: Bioaccumulation and ecotoxicology processes]. Novosibirsk: GPNTB SO AN SSSR. CH. II. Processy bioakkumulyatsii i ehkotoxikologii. S. 122–146. [In Russian]
- Komov V.T., Stepina E.S., Gremyachikh V.A., Poddubnaya N.Y., Borisov M.Y. 2012. Soderzhanie rtuti v organakh mlekoopitayushchikh semeystva kunikh (MUSTELIDAE) Vologodskoy oblasti [The content of mercury in the mammalian organs of the family Kunich (Mustelidae) of the Vologda region] // Povolzhskiy ehkologicheskii zhurnal. № 4. S. 385–393. [In Russian]
- Kruskal W.H., Wallis W.A. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis // Journal of the American Statistical Association. V. 47. № 260. P. 583–621.
- Kuzmin S.L. 2012. Zemnovodnye byvshego SSSR [Amphibious Former USSR]. 2-e izd M. T-vo nauchn Izd. KMK. 370 c. [In Russian]
- Kuzmin S.L., Surova G.S. 1994. Obespechennost travyanoy lyagushki *Rana temporaria* pishchey v raznykh geograficheskikh populyatsiyakh [Provision of herbal frog (*Rana temporaria*) food in different geographical populations] // Ekologiya. № 4. S. 59–66. [In Russian]
- Lapkina L.N., Komov V.T., Stepanova I.K. 2002. Vliyanie alimentarno postupayushchey rtuti na rezultativnost reaktsiy u khishchnika i zhertvy Sovremennye problemy vodnoy toksikologii [Influence of alimentary received mercury on the effectiveness of reactions in a predator and prey // Current problems of aquatic toxicology] // Tezisy dokladov Vserossiyskoy konferentsii. Borok. S. 48–49. [In Russian]
- Li Y.H., Sohrin Y., Takamatsu T. 2010. Lake Biwa and the ocean: geochemical similarity and difference // Limnology. V. 12, № 1. P. 89–101.
- Lobachev E.A. 2008. Vliyanie kolebaniy ehkologicheskikh faktorov na ehmbriionalno - lichinochnoe razvitiye zemnovodnykh [Influence of fluctuations of ecological factors on embryonic-larval development of amphibians]. Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Saransk. 23 s. [In Russian]
- Lukin E.I. 1976. Fauna SSSR // Piyavki [Fauna of the USSR. Leeches]. L.: Nauka. 484 s. [In Russian]
- Lukin E.I. 1977. Piyavki. Opredelitel presnovodnykh bespozvonochnykh Evropeyskoy chasti SSSR [Leeches // The determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR]. L.: ZIN AN SSSR. 510 s. [In Russian]
- Luferov V.P. 1963. Nablyudeniya po biologii piyavok roda *Herpobdella* [Observations on the biology of leeches of the genus *Herpobdella* // Materials on Biology and Hydrol. Volga reservoirs] // Mater Po biolog i gidrol volzhskikh vodokhr. M.; L.: Izd-vo AN SSSR. S. 61–65. [In Russian]

- Motkova M.Y., Garanin V.I. 1987. Rol lichinok beskhvostykh amfibiyy v troficheskikh cepyakh presnykh vodoemov // *Ekologiya urbanizirovannykh territoriy* [The role of larvae of tailless amphibians in trophic chains of fresh water bodies // *Ecology of urbanized territories*]. Kazan: Izd-vo Kazansk un-t. S. 33–42. [In Russian]
- Monakov A.V. 1998. Pitaniye presnovodnykh bespozvonochnykh [Nutrition of freshwater invertebrates]. M. IPEHEH RAN. 320 s. [In Russian]
- Nemova N.N., Lysenko L.A., Meshcheryakova O.V., Komov V.T. 2014. Rtut v rybakh [Mercury in fish] // *Biosfera*. T. 66. № 2. S. 176–186. [In Russian]
- Pisanec E.M. 2007. Amfibii Ukrainy Spravochnik-opredelitel zemnovodnykh Ukrainy [Amphibian of Ukraine // Guide-determinant of amphibians of Ukraine]. Kiev: Zool Muzey NNPM NAN Ukrainy. 312 s. [In Russian]
- Sele G. 1960. Ocherki ob adaptacionom syndrome [Essays on Adaptation Syndrome]. M.: Medgiz. 254 s. [In Russian].
- Sergeev B.F. 2012. Mir amfmbiyy [The world of amphibians]. M Knizhnyy dom. LIBROKOM URSS. 192 s. [In Russian]
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. 2007. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals and fish // *Ambio*. V. 36. № 1. P. 12–18.
- Shapiro S.S., Wilk M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples) // *Biometrika*. V. 52. № 3–4. P. 591–611.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. 1995. Biometry. The principals and practice of Statistics in biological research. N.Y.: W.H. Freeman and Company. 887 p.
- Stepanova I.K., Komov V.T. 1997. Mercury accumulation in fish from water bodies of the Vologodskaya oblast // *Russian Journal of Ecology*. T. 28. № 4. S. 260–264.
- Terhivuo J., Lodenium M., Nuorteva P., Tulisalo E. 1984. Mercury content of common frogs (*Rana temporaria* L.) and common toads (*Bufo bufo* L.) collected in southern Finland // *Ann. Zool. Fennici*. V. 21. P. 41–44.
- Toktamysova Z.S., Makhanbetova G.M. 2007. Ozernaya i ostromordaya lyagushki na destabilizirovannykh territoriyakh Centralnogo Kazakhstana // *Bioraznoobrazie i rol zhivotnykh ehkositemakh: Materialy IV mezhdunarodnoy konferencii* [Lacustrine and Acute Frogs in the Destabilized Territories of Central Kazakhstan // *Biodiversity and the Role of Animals in Ecosystems*]. Dnepropetrovsk: DNU. S. 403–404. [In Russian]
- Vershinin V.L. 1995. Vidovoy kompleks amfibiyy v ehkositemakh krupnogo goroda [Species complex of amphibians in the ecosystems of a large city] // *Ekologiya*. № 4. S. 299–306. [In Russian]

THE MERCURY CONTENT IN THE ORGANISM OF AMPHIBIANS AND LEECHES FROM WATERBODIES OF VOLOGDA AND YAROSLAVL OBLASTS AND EXPERIMENTAL VERIFICATION OF ITS BIOLOGICAL CONSEQUENCES

V. T. Komov¹, E. S. Ivanova², V. A. Gremyachikh¹, L. N. Lapkina¹, L. V. Kozlova², E. N. Zheletok², A. M. Kirkina², D. E. Kudryashova², E. V. Schedrova¹, D. G. Seleznev¹

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: vkomov@ibiw.yaroslavl.ru*

²*Cherepovets State University, Cherepovets, Lunacharski 5, 162600, Russia*

The mercury accumulation has been determined in organs of five species of amphibians and in bodies of seven species of leeches which were caught in nature. Average values of Hg (mg/kg, wet weight) range within 0.007–0.101 in amphibians and within 0.014–0.065 in leeches. The dependence of the mercury content in the studied specimens on the taxonomic status of animals, features of their habitats, and the tissue type has been found. The effect of animals' feeding the natural food with different mercury concentrations on some biological parameters (the rate of metamorphosis of toad larvae, behavior modification of tadpoles of pool frogs and leeches) is established. The results of the studies make the contribution to the study of migration mechanisms and distribution of mercury compounds in aquatic, semi-aquatic and terrestrial ecosystems. They can be applied for ecological monitoring of the environment and can be included in the course of disciplines at higher education institutions on ecology and toxicology specialty.

Keywords: amphibians – orders Caudata, Anura; leeches – families Glossiphoniidae, Hirudinidae, Herpobdellidae; mercury

УДК 574.64:577.12:597

РЕАКЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКОВОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА РЫБ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ (ОБЗОР)

Т. Б. Лапирова

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

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: ltb@ibiw.yaroslavl.ru

В работе приводится анализ результатов исследований, посвященных проблеме влияния кадмия на основные показатели белкового и углеводного обмена рыб. Показано, что даже малые дозы токсиканта вызывают заметные сдвиги данных параметров, однако динамика и направленность их неоднозначны. При использовании этих показателей в мониторинговых работах и при оценке состояния здоровья популяций необходимо принимать во внимание дозу и сроки воздействия токсиканта, а также видовую принадлежность рыб.

Ключевые слова: рыбы, кадмий, сывороточные белки, глюкоза.

Антропогенное загрязнение водной среды – одна из острейших проблем, стоящих перед человечеством практически во всех уголках планеты. Часто оно является основополагающим в ряду факторов, влияющих на состояние водной биоты. Известно, что к наиболее опасным и распространенным поллютантам относятся тяжелые металлы (ТМ). Исследование, предпринятое с целью сравнения острой токсичности широкого ряда ТМ показало, что самым токсичным для водных организмов оказался кадмий [Borgmann et al., 2005].

Основными источниками загрязнения окружающей среды этим элементом являются производство цветных металлов, сжигание твердых отходов, угля, сточные воды горно-металлургических комбинатов, производство минеральных удобрений, красителей и т.д. [Okada et al., 1997; Demirak et al., 2006; Kalman et al., 2010; Dhanakumar et al., 2015; Maier et al., 2015].

В окружающей среде кадмий присутствует в виде двухвалентного иона, который осаждается в форме карбоната и может вновь высвобождаться в кислой среде [Мирошниченко, Юрмазова, 2010 (Miroshnichenko, Urmazova, 2010)]. Эти авторы указывают также на то, что кадмий накапливается водными животными, но не концентрируется в пищевых цепях. Другие исследователи, напротив, указывают на то, что постоянный рост загрязнения кадмием водной среды приводит к увеличению накопления его в тканях водных организмов на всех трофических уровнях [Giles, 1988; Nordberg et al., 2007].

Известно, что ряд металлов, таких, как железо, цинк, кобальт, медь и другие играют важную роль в жизнедеятельности животных

организмов. Это так называемые эссенциальные металлы, присутствуя в очень малых дозах (отсюда название – микроэлементы), они обеспечивают ряд важнейших функций. Молекулы их входят в состав ферментов, витаминов, являются антиоксидантами и т.д. Однако поступая в организм из внешней среды в дозах, превышающих необходимую, они могут оказывать токсическое действие. Кадмий, наряду с такими металлами, как свинец, ртуть и т.п., не относится к эссенциальным, он является ксенобиотиком, т.е. чужеродным элементом, не участвующим в пластическом или энергетическом обмене [Саловарова и др., 2007 (Salovarova et al., 2007); Theron et al., 2012; Authman et al., 2015]. Считается, что токсичность ксенобиотиков для организма возрастает с увеличением их концентрации в среде [Sfakianakis et al., 2015].

Имеются данные, что ионы Cd легко связываются и встраиваются в третичную структуру широкого ряда биологически активных молекул, в частности, они имеют аффинность к сульфгидрильным и гидроксильным группам [O'Neill, 1981]. В результате связывания функциональных групп ферментов или вытеснения микроэлементов из их активных центров, может происходить инактивация металлоферментов, ингибирование окислительного фосфорилирования, блокирование важнейших биохимических реакций, вследствие чего нарушается клеточный метаболизм в тканях и органах рыб [Matović et al., 2011].

Учитывая высокую токсичность кадмия и широкое его распространение в водоемах, влияние ксенобиотика на гидробионтов и, в частности, рыб, интенсивно изучается.

На настоящий момент имеется большое количество данных по этой проблеме, однако при этом они достаточно разрозненны и неоднозначны [Заботкина, Лапирова, 2003 (Zabotkina, Lapirova, 2003)]. Также следует отметить, что в основном исследования посвящены проблемам биоаккумуляции токсиканта, влиянию его на ранние стадии развития, гистологические альтерации, неплохо изучен эффект воздействия кадмия на лейкоцитарное звено крови рыб. Однако для оценки физиологического статуса животных необходимо проведение полного гематологического анализа, признанного во всем мире в качестве ценного инструмента для мониторинга состояния здоровья рыб [Серпунин, 2010; (Serpunin, 2010); Satheeshkumar et al., 2012a, b]. Важной составной частью этого исследования является изучение биохимических параметров крови. При том, что рыбы давно используются в качестве индикаторных организмов при оценке состояния природных водоемов, до сих пор не решен окончательно вопрос о правомочности использования важнейших физиолого-биохимических показателей, таких, например, как концентрация белка плазмы крови и уровня гликемии, в качестве маркеров при проведении мониторинговых работ. Учитывая вышеизложенное, ясно, что анализ и систематизация имеющихся по этой проблеме данных не теряет своей актуальности.

Цель работы – анализ изменений основных физиолого-биохимических параметров крови, характеризующих белковый и углеводный обмен рыб, при воздействии кадмия.

Известно, что кровь рыб, как и других позвоночных, выполняет в организме ряд основополагающих функций: трофическую, защитную, обменную, гомеостатическую и т.д. [Житенева и др., 2001 (Zhiteneva et al., 2001); Иванова, 2005 (Ivanova, 2005)]. Осуществляются эти функции в основном за счет белковых соединений, поэтому содержание общего белка плазмы крови является ценным индикатором состояния животного [Peyghan et al., 2014]. Установлено, что этот параметр зависит от сезона, физиологического состояния, возраста и некоторых других факторов, но любое воздействие, в том числе токсическое, вызывает сдвиги показателя, направленные, в конечном счете, на поддержание гомеостаза [Иванов, 2003 (Ivanov, 2003); Satheeshkumar et al., 2012 b]. Некоторые исследователи относят изменения в содержании общего белка сыворотки крови к самым ранним показателям отравления ТМ [Kakkar, Jaffery, 2005]. Однако ис-

пользовать этот параметр в качестве индикаторного надо с большой осторожностью, учитывая неоднозначность выявляемых изменений.

Во многих работах приводятся сведения о снижении показателя после нахождения в растворе токсиканта. Данный эффект выявлен при действии сублетальной концентрации кадмия (0.2 мг/л) на мешкожаберного сома (*Heteropneustes fossilis*) в течение 28 сут [Saxena et al., 1992]. Значительное уменьшение сывороточного белка зафиксировано у тилляпии *Oreochromis niloticus* после экспозиции в растворе хлорида кадмия 10%; 20% и 30% от LC₅₀, что составило 1.68; 3.36 и 5.03 мг/л соответственно. Это явление отмечено во всех группах подопытных рыб для всех сроков отбора проб, т.е. 10; 20 и 30 суток [Al-Asgah et al., 2015]. При действии кадмия в концентрации 5 мг/л по иону металла на годовиков карпа (*Cyprinus carpio*) снижение показателя происходило в течение всего периода наблюдений, к 28-м суткам различие с контролем достигло 26% и стало статистически достоверным [Лапирова, Микряков, 2005 (Lapirova, Mikryakov, 2005)]. Аналогичные данные приводятся для сома (*Clarias batrachus*) после 32-сут экспозиции в сульфате кадмия с концентрацией 1 мг/л (0.1 от 96-час LC₅₀) [Aria, 2014].

Следует отметить, что изменение показателя может зависеть от дозы токсиканта. У африканского сома (*Clarias gariepinus*), экспонированного в трех сублетальных концентрациях кадмия – 2; 5 и 10 мг/л в течение трех недель, также наблюдалась гипопроteinемия, но только при максимальном содержании ионов металла [El-Boshy et al., 2014]. У гибридов *Heterobranchus bidorsalis* и *Clarias gariepinus* после выдерживания в растворе соли ацетата кадмия (0.5 и 1 мг/л по иону металла) в течение 15 сут зафиксировали снижение уровня белка, происходящее параллельно с ростом концентрации соли [Kori-Siakpere, 2006].

В ряде работ приводятся данные, напротив, о повышении содержания белка сыворотки при действии токсиканта. Так, Габибов с соавт. выявили значительный рост показателя на протяжении эксперимента (30 сут) при экспозиции сеголеток карпа в хлориде кадмия концентрацией 0.1 мг/л. Максимальное превышение относительно контроля было зафиксировано на 15-е сут [Габибов и др., 2009 (Gabibov et al., 2009)]. При действии низких сублетальных доз кадмия (0.03 мг/л по иону металла) на молодь ленского осетра (*Acipenser baeri*) достоверный рост концентрации белка

выявлен в те же сроки [Лапирова, 2001 (Lapirova, 2001)]. При выдерживании форели (*Oncorhynchus mykiss*) в растворах хлорида кадмия концентрацией 1 и 3 мкг/л статистически значимое превышение показателя выявили через 30 сут, причем при большей концентрации токсиканта реакция была более выраженной [Heydarnejad et al., 2013].

При использовании более высоких концентраций кадмия повышение уровня сывороточного белка происходило быстрее. Существенный рост показателя был выявлен у тилпии (*Oreochromis niloticus*) уже на 4-е и 7-е сут при использовании токсиканта в дозе 0.5 от 96-час LC_{50} [Al-Attar, 2005]. Гиперпротеинемия зафиксирована у тилпии (*Tilapia zillii*) через 72 час экспозиции при концентрации кадмия 10.72; 17.7 и 24.78 мг/л. Автор считает, что причиной этого могут быть изменения в мобилизации сывороточного белка для связывания металла [Ghazaly, 1992].

Меньше всего данных об отсутствии влияния кадмия на данный параметр, но они также встречаются. Не выявлено изменений в уровне белка плазмы в остром опыте при высокой и в хроническом – при низкой концентрации токсиканта: карп (*Cyprinus carpio*), 96-час экспозиция при полулетальной дозе или 7.67 мг/л в расчете на ион металла [Drastichova et al., 2004]; тилпия *Oreochromis niloticus*, 30 сут, концентрация 0.05 мг/л [Öner et al., 2008]. Некоторые авторы прямо указывают на сложность интерпретации данных по этому параметру вследствие неоднозначности его изменений под влиянием ксенобиотика [Jezierska, Witeska, 2001], поэтому следует более детально рассмотреть механизмы этого процесса.

При изучении влияния неблагоприятных факторов на белки крови следует учитывать, что именно им принадлежит решающая роль в поддержании гомеостаза организма. Эту функцию могут выполнять как неспецифические защитные факторы широкого спектра действия, так и соединения с более определенными функциями, направленными, например, на снижение повреждающего эффекта ТМ. К ним, в первую очередь, относятся металло-тионеины, выявленные к настоящему времени у всех эукариот. Металлотионеины (МТ) – металлоорганические белковые соединения, характеризующиеся низким молекулярным весом, высоким содержанием цистеина, термостабильностью, некаталитической природой и выраженной способностью к связыванию катионов металлов, таких, как Ag, Cd, Cu, Hg, и

Zn [Экологическая химия: основы и концепции, 1997 (Environmental chemistry: fundamentals and concepts, 1997); Ladhar-Chaabouni et al., 2012]. Они играют важную роль в транспортировке и накоплении ТМ, а также нейтрализуют их токсическое воздействие путем снижения количества ионов свободного металла [Коновалов, 1993 (Konovalov, 1993); Hamilton, Mehrle, 1986; Vergani et al., 2005].

Уникальные структурные характеристики этих соединений обеспечивают им мощные металлосвязывающие и окислительно-восстановительные возможности, за счет которых осуществляются основные биологические функции этих белков [Coyle et al., 2002; Park et al., 2007; Sevcikova et al., 2011]. На настоящий момент к ним относят гомеостаз Zn и Cu, детоксикация Cd и Hg и защита от окислительного стресса и свободных радикалов [Bremner, Beattie, 1990; Vasak, Hasler, 2000; Isani, Carpenè, 2014]. Более поздние исследования показали, что, помимо этого, МТ повышают жизнеспособность клеток, ускоряют регенерацию тканей и блокируют пути, ведущие к воспалению и апоптозу [Swindell, 2010].

Наиболее детально изучены механизмы действия МТ у высших позвоночных [Кутяков, Салмина, 2014 (Kutyakov, Salmina, 2014); Гармаза и др., 2016 (Garmaza et al., 2016)]. Однако в связи с продолжающимся загрязнением природных вод ТМ, в настоящее время интенсивно изучаются МТ гидробионтов, в первую очередь – рыб. Несмотря на множество общих черт, присущих этим белкам у животных самых разных систематических групп, выявлены и некоторые различия. Так, показано, что у млекопитающих индукцию выработки МТ способны вызывать гормоны и ряд других факторов, в то время как у костистых рыб они не оказывают выраженного влияния на этот процесс [George et al., 1992; Burgess et al., 1993].

За счет образования кадмиевых МТ, при концентрациях в среде ниже токсичной, кадмий накапливается в тканях водных организмов. Связыванием металла с белком объясняется также и довольно высокая сопротивляемость хроническому воздействию кадмия по сравнению с острой токсичностью [Экологическая химия, 1997 (Environmental chemistry: fundamentals and concepts, 1997); Arillo et al., 1984]. Если концентрация какого-либо катиона не превышает комплексообразующую способность МТ, его токсическое действие значительно нивелируется. В противном случае металл встраивается в металлоферменты, прояв-

ляя внутриклеточные токсические свойства [Давыдова и др., 2014 (Davydova et al., 2014); Din, Frazier, 1985]. Обычно уровень экспрессии МТ является дозозависимым относительно уровня ТМ, однако этот эффект не соблюдается при очень высоком содержании токсикантов в среде, когда нагрузка превышает адаптационные возможности организма [Walker et al., 2014]. Увеличение количества ионов металла, не связанных МТ, свидетельствует об истощении детоксикационных ресурсов.

В клинической медицине МТ достаточно широко используются в качестве диагностического показателя при интоксикациях, в том числе отравлении тяжелыми металлами [Пыхтеева, 2010 (Pyhteeva, 2010); Пыхтеева и др., 2011 (Pyhteeva et al., 2011)]. Начиная с конца 1980-х годов МТ стали использовать в качестве биомаркеров биологических эффектов ТМ в водных организмах [Viarengo et al., 1997]. Тем не менее, пока единого мнения по этому вопросу нет. Некоторые исследователи считают, что применение МТ рыб в качестве биомаркеров присутствия ТМ, особенно Cd, Cu и Hg, вполне обоснованно [Isani, Carpenè, 2014]. Другие высказывают противоположное мнение, основываясь на том, что в полевых условиях не показано устойчивой связи между содержанием металлов в воде и выработкой МТ [Sevcikova et al., 2013]. Следует также отметить, что, например, у карпа выявлено связывание кадмия в плазме крови не только специфическими МТ, но и в большой степени трансферрином [De Smet et al., 2001].

Помимо специфических белков, снижающих повреждающее действие конкретных металлов, при любом изменении условий среды обитания у рыб быстро включаются механизмы неспецифической иммунной защиты, также направленные на поддержание постоянства внутренней среды организма. Из гуморальных факторов врожденного иммунитета к наиболее важным можно отнести протективные свойства сыворотки крови. Они обеспечиваются ингибирующими рост веществами, лизинами, агглютинами и т.п. [Грищенко и др., 1999 (Grishchenko et al., 1999); Кондратьева, Киташова, 2002 (Kondrat'eva, Kitashova, 2002); Галактионов, 2005 (Galaktionov, 2005); Uribe et al., 2011].

Способность кадмия оказывать влияние на основные метаболические и ферментные процессы у рыб, о чем сообщалось выше, может являться причиной нарушений в функционировании гуморального звена неспецифическо-

го иммунитета. Как свидетельствуют литературные данные, направленность этих изменений может быть различной. Приводятся сведения об угнетении антителообразования у канального сомика [Saxena et al., 1992], снижении уровня активности лизоцима, интерферона, комплемента и антител в сыворотке крови у радужной форели [O'Neill, 1981].

В то же время имеются данные и о стимулирующем влиянии ксенобиотика. После воздействия кадмием было отмечено усиление гуморального ответа у форели [Thuvander, 1989]; у карпа в течение первых 2-ух недель с начала действия токсиканта бактериостатическая активность сыворотки крови (БАСК) возросла на 40% [Лапирова, Микряков, 2005 (Lapirova, Mikryakov, 2005)], после 30-суточной экспозиции у карпа повысился уровень БАСК и иммуноглобулинов [Крючков, Алиновская, 2000 (Kryuchkov, Alinovskaya, 2000)]. Выявлен устойчивый рост концентрации иммуноглобулинов при выдерживании карпа в растворе соли кадмия в течение 60 сут, к концу срока наблюдений уровень показателя превысил контрольный более чем в 5 раз. Это позволило авторам прийти к заключению, что ионы кадмия способны инициировать адаптационные или восстановительные процессы [Крючков, Бойко, 2002 (Kryuchkov, Bojko, 2002)].

Поскольку противомикробные защитные факторы имеют в основном белковую природу, логично предположить наличие связи между содержанием сывороточного белка и наиболее информативным, интегральным показателем уровня защитных соединений в сыворотке крови – БАСК. Анализ экспериментальных данных действительно показал высокий уровень взаимосвязи (коэффициент корреляции $r = 0.96$) между этими показателями у карпа, экспонированного в растворе хлорида кадмия [Лапирова, Микряков, 2005 (Lapirova, Mikryakov, 2005)], что подтверждает приведенное выше предположение.

Кадмий обладает способностью концентрироваться в различных органах и тканях рыб. Согласно большинству сообщений аккумуляция токсиканта в органах убывает в следующем порядке: почки > печень > жабры [Norey et al., 1990; Woo et al., 1993; Kumar et al., 2005]. Несмотря на то, что почки являются главным органом-мишенью для кадмия, в печени он также обнаруживается в высоких концентрациях, вызывая различные патологические изменения в тканях органа [Rani, Ramamurthi, 1989; De Smet, Blust 2001; Rang-

sayatorn et al., 2004; Dangre et al., 2010]. Высказано предположение, что аккумуляция именно в почках и печени связана с присутствием в этих органах связывающих кадмий МТ [Dallinger et al., 1997]. Поскольку печень является у рыб основным органом протеосинтеза, гипопроотеинемия также может быть обусловлена повреждающим действием металла на орган [Öner et al., 2008; El-Boshy et al., 2014]. Уменьшение содержания белков сыворотки у рыб было обнаружено и при действии ртути. Авторы приходят к выводу, что причиной этого явления может быть как снижение выработки белка, так и усиление процессов его распада [Mary et al., 2011]. Данный вывод вполне логично отнести и к влиянию кадмия.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что при оценке влияния ионов кадмия на уровень сывороточного белка у рыб следует учитывать целый комплекс факторов. Как уже указывалось, кадмий обладает высокой нефротоксичностью, следовательно, его воздействие практически неизбежно вызывает сдвиг белкового обмена, включая усиление катаболизма белков. Далее по чувствительности к этому ксенобиотику идет печень, нарушение функционирования органа приводит к снижению протеосинтеза. Но, в то же время, поступление кадмия в окружающую среду, индуцирует выработку МТ. Одновременно в кровь начинает поступать большое количество протективных белковых соединений, обеспечивающих неспецифическую гуморальную защиту, что также повышает содержание общего белка сыворотки. Таким образом, на начальных этапах и при малых дозах воздействия более вероятен подъем показателя, при продолжающемся, хроническом влиянии, особенно в случае относительно высоких концентраций токсиканта, восстановительные способности организма ослабевают, и в результате некомпенсируемых нарушений наступает стойкое падение данного параметра.

При оценке физиологического состояния животных весьма важной характеристикой является также уровень глюкозы сыворотки крови. Глюкоза – углевод, играющий важнейшую роль в биоэнергетике, высвобождая химическую энергию (АТФ), которая затем может быть преобразована в механическую [Lucas, 1996]. Ксенобиотики, в том числе кадмий, оказывают негативное влияние на метаболизм углеводов как морских, так и пресноводных видов рыб. Как правило, в результате возникших нарушений у животных развивается гипергликемия [Vosyliene, Jankaite, 2006; Authman et al.,

2015]. Об этом свидетельствуют данные, полученные на разных видах рыб и при разных концентрациях токсиканта.

Значительный рост содержания глюкозы в сыворотке крови тиляпии (*Oreochromis niloticus*) наблюдали при действии хлорида кадмия на протяжении 30 сут при концентрациях, составивших 10; 20 и 30% от LC_{50} [Al-Asgah et al., 2015]. При экспозиции рыб этого же вида при содержании токсиканта 9.3 мг/л (0.5 от 96-час LC_{50}), повышение показателя происходило в течение 1–7 сут [Al-Attar, 2005]. Рост уровня глюкозы у анабаса (*Anabas testudineus*) отмечен в период от 7 до 28 сут при концентрации 2; 3 и 4 мг/л [Mini, 2015].

Аналогичный эффект выявлен и при более кратковременных воздействиях. В остром опыте при выдерживании мальков карпа (*Cyprinus carpio*) в хлориде кадмия полулетальной концентрации (7.67 мг/л по иону металла) в течение 96 час, выявлен существенный рост содержания глюкозы по сравнению с контролем, при этом уровень кортизола в обеих группах рыб был сравним [Drastichová et al., 2004]. Приводятся сведения о значительном росте гликемии у лосося (*Salmo salar*) после весьма непродолжительной экспозиции (8 час) при невысоких концентрациях хлорида кадмия 0.01 и 0.1 мг/л [Soengas et al., 1996].

Несмотря на общую тенденцию к подъему показателя в условиях кадмиевой интоксикации, некоторые исследователи приводят другие данные. Как показано в эксперименте на барбусе (*Puntius conchonius*), при действии кадмия в течение 24 час была выявлена значительная гипергликемия, в то время как у рыб, находившихся в том же растворе токсиканта 90 сут, произошло заметное снижение показателя [Gill, Pant, 1983]. Также статистически значимое падение уровня гликемии выявлено после 32-суточного выдерживания сома (*Clarias batrachus*) в сульфате кадмия концентрацией 1 мг/л (0.1 от 96-час LC_{50}) [Aria, 2014].

После экспозиции радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) при низких сублетальных концентрациях хлорида кадмия – 1 и 3 мкг/л, через 15 сут в обеих опытных группах отмечен значительный, почти трехкратный, рост концентрации плазменной глюкозы. Но уже к 30-м сут показатель вернулся к контролю [Heydarnejad et al., 2013]. У тиляпии *Oreochromis mossambicus* при действии кадмия в концентрации 10 мкг/л на 2-е и 4-е сут выявлена значительная гипергликемия, а также рост уровня кортизола. К 35-м сут содержание

как глюкозы, так и кортизола плазмы, также опустились до контрольных значений. На основании этих результатов авторы пришли к заключению, что рыбы способны адаптироваться к низким концентрациям кадмия в окружающей среде [Pratap, Bonga, 1990]. Эти данные указывают на то, что при оценке последствий влияния ксенобиотика, следует учитывать также его концентрацию, т.к. чем она ниже, тем выше вероятность того, что сдвиги показателя будут обратимы.

Известно, что в целом уровень глюкозы у рыб – показатель очень лабильный даже в пределах одного вида при постоянных условиях обитания [Плисецкая, 1975 (Pliseckaya, 1975)]. Тем не менее, в литературе имеются данные об отсутствии изменений показателя при действии поллютанта. Де Смет с соавторами не обнаружили существенных сдвигов в уровне глюкозы плазмы крови при выдерживании карпа (*Cyprinus carpio*) в растворе соли кадмия 0.8; 4 и 20 мкМ в течение 29 сут [De Smet, Benst, 2001].

Выявлены различия в реагировании на токсикант разных по физиологии рыб. Дышащий атмосферным воздухом сом мешкожаберный (*Heteropneustes fossilis*) и не дышащий атмосферным воздухом роху (*Labeo rohita*) находились в воде, содержащей 40 мг/л хлорида кадмия, в течение двух недель. Было установлено, что гликогенолиз происходил у обоих видов, однако сдвиги в содержании глюкозы крови были противоположны. Уровень показателя у сома снизился, что, по мнению авторов, свидетельствует о быстрой утилизации глюкозы в стрессовых условиях и, таким образом, об отсутствии нарушений в метаболизме углеводов у этих рыб. Рост гликемии у роху, напротив, указывает на нарушение этого процесса. Приведенные результаты позволяют заключить, что на механизмы углеводного обмена рыб, имеющих выраженные анатомические отличия, кадмий действует по-разному [Das, Banerjee, 1980].

При использовании в экспериментах разных концентраций ксенобиотика, рядом авторов получены данные о дозозависимом его действии на уровень глюкозы крови. Увеличение роста показателя при повышении концентрации токсиканта выявлено при действии ацетата кадмия в концентрациях 0.5 и 1 мг/л по металлу на гибриды *Heterobranchius bidorsales* и *Clarias gariepinus* в течение 15 сут [Kori-Siakpere et al., 2006]; у карпа (*Cyprinus carpio*), экспонированного 10 сут при разных сублетальных концентрациях кадмия (0.05;

0.1; 0.5 и 1.0 мг/л) [Bedii, Kenan, 2005]; радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (1 и 3 мкг/л хлорида кадмия, 15 сут) [Heydarnejad et al., 2013]. Выдерживание лосося (*Salmo salar*) в течение 8-и час в соли хлорида кадмия (0.01 и 0.1 мг/л) выявило тот же эффект. При этом параллельно росту концентрации ксенобиотика шло снижение уровня гликогена в печени [Soengas et al., 1996]. Однако эффект дозозависимости соблюдается не всегда. При помещении африканского сома *Clarias gariepinus* на 3 недели в раствор хлорида кадмия трех различных концентраций (2; 5 и 10 мг/л) значительное превышение показателя относительно контроля отмечали во всех опытных группах рыб, однако линейной эта зависимость оказалась лишь для первых двух концентраций [El-Boshy et al., 2014].

Как видно из приведенных выше данных, в подавляющем большинстве случаев под действием кадмия выявляли повышение уровня гликемии у рыб. Далее мы рассмотрим механизмы и возможные причины этого явления.

Для высших позвоночных установлена связь между повышением в крови гормонов стресса и ростом уровня глюкозы в ней [De Fronzo et al., 1980; Dallman et al., 1993; Dimitriadis et al., 1997]. У рыб эта зависимость также существует, но она несколько сложнее, поэтому до сих пор нет единого мнения о возможности использования концентрации глюкозы крови как надежного индикатора стресса. Более подходящим в этом качестве ряду авторов представляется уровень кортизола [Pottinger, 1998; Mommsen et al., 1999; Flodmark et al., 2002]. Тем не менее, основной принцип реагирования на внешнее воздействие у рыб сходен с таковым у высших позвоночных: неблагоприятные факторы как физической, так и химической природы, вызывают выброс глюкокортикоидов и катехоламинов [Mazeaud, Mazeaud, 1981; Hontela et al., 1996; Ricard et al., 1998]. Эти гормоны усиливают процесс гликогенолиза, в тканях (печень и мышцы) наблюдается падение уровня гликогена, что одновременно сопровождается ростом гликемии [Sastry, Subharda, 1985; Vijayram et al., 1989]. Помимо этого рост показателя может наблюдаться из-за снижения выработки инсулина [Almeida et al., 2001], а может быть результатом глюконеогенеза – синтеза глюкозы из неуглеводных компонентов: белка, аминокислот и т.д., что часто происходит в присутствии ксенобиотиков [Larsson, Naux, 1982; Sastry, Shukla, 1994; Mini, 2015].

Нарушение углеводного обмена может

также быть обусловлено гипоксией вследствие металл-индуцированного повреждения жабр рыб, а также компенсацией возросших энергозатрат при повышении двигательной активности, вызванной токсическим стрессом [Drastichová et al., 2004].

Результатом высокой нефротоксичности кадмия для рыб является нарушение водно-солевого баланса. Процессы, направленные на его восстановление, также требуют дополнительной энергии. По мнению авторов, повышенный уровень кортизола, вероятно, поддерживает высокие уровни глюкозы плазмы после первоначального выброса катехоламинов, поступивших в ответ на действие стресс-факторов [Soengas et al., 1996]. Показано также ингибирующее действие кадмия на удельную активность некоторых ферментов, таких как цитраткиназа, лактатдегидрогеназа и фосфофруктокиназа, в результате чего происходит снижение интенсивности гликолиза [Barnhart, 1969].

Таким образом, можно заключить, что ряд изменений, наблюдаемых в углеводном обмене рыб при поступлении в среду кадмия, может быть обусловлен действием именно этого ксенобиотика, большая же часть их но-

сит неспецифический характер, присущий действию подавляющего большинства возмущающих факторов. На начальных этапах токсического процесса, для компенсации возросших энергозатрат на восстановление возникающих нарушений, в кровь поступают повышенные количества доступного источника энергии – глюкозы. При малых дозах или коротких экспозициях далее наступает период адаптации и показатель по прошествии какого-то времени возвращается к норме. В противном случае наступает фаза истощения, организм не в состоянии далее работать в форсированном режиме, уровень глюкозы падает, и, в случае продолжающегося действия фактора, нарушения становятся необратимыми.

В заключение хотелось бы привлечь внимание к еще одной немаловажной детали. Делая выводы о влиянии любых токсикантов, в том числе и кадмия, на любые физиологические параметры, необходимо, помимо дозы, сроков воздействия и т.д., обязательно учитывать вид рыбы, т.к. известно, что они по-разному реагируют на токсические вещества, чувствительность их может различаться на 1–2 порядка [Cairns, Dickson, 1981].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Габитов М.М., Рабаданова А.И., Абдуллаева Н.М., Курбанова И.К., Сулейманова У.З., Алиева Г.С. Влияние хронического воздействия ионов свинца и кадмия на содержание общего белка и его фракций в тканях сеголеток карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2009. Т. 11. № 1 (5). С. 1066–1069.
- Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология: Учеб. пособие. М: ИКЦ “Академкнига”, 2005. 408 с.
- Гармаза Ю.М., Тамашевский А.В., Слобожанина Е.И. Металлотионеины млекопитающих: структура и биологическая роль // Изв. нац. Акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. 2016. № 1. С. 107–116.
- Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основы рыбоводства. М.: Колос, 1999. 456 с.
- Давыдова А.О., Климов Е.С., Ваганова Е.С., Ваганов А.С. Влияние физико-химических факторов на содержание тяжелых металлов в водных экосистемах. Ульяновск: УлГТУ. 2014. 167 с.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Эволюция крови. Ростов-на-Дону: Деловой мир. 2001. 114 с.
- Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б. Влияние тяжелых металлов на иммунофизиологический статус рыб (обзор) // Успехи совр. биол. 2003. Т. 123. № 4. С. 411–418.
- Иванов А.А. Физиология рыб. М.: Мир. 2003. 284 с.
- Иванова Н.Т. Материалы к сравнительной морфологии системы крови человека и животных. Ростов-на-Дону: Изд-во РГПУ. 2005. 156 с.
- Кондратьева И.А., Киташова А.А. Функционирование и регуляция иммунной системы рыб // Иммунология. 2002. № 2. С. 97–101.
- Коновалов Ю.Д. Связывание кадмия и ртути белками и низкомолекулярными тиоловыми соединениями рыб // Гидробиол. журн. 1993. № 1. С. 42–51.
- Крючков В.Н., Алиновская Ю.Б. Обратимость некоторых иммунологических показателей карпа после интоксикации кадмием // Вопр. рыбол. 2000. Т.1. № 2–3. С. 21–22.
- Крючков В.Н., Бойко А.В. Изучение механизма нефротоксичности кадмия для рыб // Совр. пробл. Каспия. Тез. докл. межд. конф. Астрахань. 2002. С. 152–155.
- Кутяков В.А., Салмина А.Б. Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках // Бюл. сиб. мед. 2014. Т. 13. Вып. 3. С. 91–99.
- Лапирова Т.Б. Влияние сублетальных концентраций ртути, меди и кадмия на иммунофизиологическое состояние молоди ленского осетра // Биол. внутр. вод. 2001. № 3. С. 80–84.
- Лапирова Т.Б., Микряков В.Р. Влияние некоторых стресс-факторов на функциональное состояние гуморального звена неспецифического иммунитета молоди карпа // Вопр. рыбол. 2005. Т. 6. № 24. С. 771–780.

- Мирошниченко Ю.Ю., Юрмазова Т.А. Химические загрязнения в биосфере и их определение: учебное пособие. Томск: Изд. нац. иссл. ТПУ. 2010. 86 с.
- Плисецкая Э.М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука. 1975. 216 с.
- Пыхтеева Е.Г. Металлотионеин: биологические функции 3. Практическое применение металлотионеина и его диагностическое значение // Акт. пробл. трансп. мед. 2010. № 2 (20). С. 58–63.
- Пыхтеева Е.Г., Потапов Е.А., Большой Д.В., Пыхтеева Е.Д. *In vitro* моделирование действия кадмия на эпителиальные клетки при предварительной индукции металлотионеина *in vivo* // Акт. пробл. трансп. мед. 2011. № 2 (24). С. 88–93.
- Саенко Г.Н. Металлы и галогены в морских организмах. М.: Наука. 1992. 200 с.
- Саловарова В.П., Приставка А.А., Берсенева О.А. Введение в биохимическую экологию: учеб. пособие. Иркутск: Изд-во ИрГУ. 2007. 159 с.
- Серпунин Г.Г. Гематологические показатели адаптаций рыб. Монография. Калининград: Изд-во ФГОУ ВПО "КГТУ". 2010. 460 с.
- Экологическая химия: Основы и концепции. М.: Мир. 1997. 396 с.
- Abadi D.R.V., Dobaradaran S., Nabipour I., Lamani X., Ravanipour M. Comparative investigation of heavy metal, trace, and macro element contents in commercially valuable fish species harvested off from the Persian Gulf // Environ. Sci. Pollut. Res. 2014. V. 22. № 9. P. 6670–6678.
- Al-Asgah N.A., Abdel-Warith A.W.A., Younis E.S.M., Allam H.Y. Haematological and biochemical parameters and tissue accumulations of cadmium in *Oreochromis niloticus* exposed to various concentrations of cadmium chloride // Saudi J. Biol. Sci. 2015. V. 22. P. 543–550.
- Al-Attar A.M. Biochemical Effects of Short-term Cadmium Exposure on the Freshwater Fish, *Oreochromis niloticus* // J. Biol. Sci. 2005. V. 5. P. 260–265.
- Almeida J.A., Novelli E.L., Pai S.D.M., Junior R.A. Environmental Cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Environ. Pollut. 2001. V. 114. № 2. P. 169–175.
- Aria A. Evaluation of biochemical and histochemical changes following the combined treatment of mercury and cadmium in a fresh water cat fish, *Clarias batrachus* (Linn) // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2014. V. 6. № 10. P. 356–358.
- Arillo A., Calamari D., Margiocco C. Biochemical effects of long-term exposure to cadmium and cooper on rainbow trout (*Salmo gairdneri*): validation on quantity criteria // Ecotoxicol. Environ. Saf. 1984. V. 8. № 2. P. 106–117.
- Authman M.M.N., Zaki M.S., Khallaf E.A., Abbas H.H. Use of Fish as Bioindicator of the Effects of Heavy Metals Pollution // J. Aquac. Res. Develop. 2015. V. 6. P. 328–341.
- Barnhart R.A. Effects of certain variables on haematological characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Trans. Am. Fish. Soc. 1969. V. 98. P. 411–418.
- Bedii C.K., Kenan N. The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758) // Tur. J. Vet. An. Sci. 2005. V. 29. P. 113–117.
- Borgmann U., Couillard Y., Doyle P., Dixon D.G. Toxicity of sixty-three metals and metalloids to *Hyalella azteca* at two levels of water hardness // Environ. Toxicol. Chem. 2005. V. 24. № 3. P. 641–652.
- Bremner I., Beattie J.H. Metallothionein and the trace minerals. Ann. Rev. Nutr. 1990. V. 10. P. 63–83.
- Burgess D., Frerichs N., George S. Control of metallothionein expression by hormones and stressors in cultured fish cell lines // Mar. Environ. Res. 1993. V. 35. P. 25–28.
- Chowdhury M.J., McDonald D.G., Wood C.M. Gastrointestinal uptake and fate of cadmium in rainbow trout acclimated to sublethal dietary cadmium // Aquat. Toxicol. 2004. V. 69. № 2. P. 149–163.
- Cairns J., Dickson K.L. Biological methods for the assessment of water quality. Cockeysville: Amer. Soc. for testing and materials. 1981. 256 p.
- Coyle P., Philcox J.C., Carey L.C., Rofe A.M. Metallothionein: the multipurpose protein // Cell. Mol. Life Sci. 2002. V. 59. № 4. P. 627–647.
- Dallinger R., Egg M., Giinter K., Hofer R. The role of metallothionein in cadmium accumulation of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from high alpine lakes // Aquat. Toxicol. 1997. V. 38. P. 47–66.
- Dallman M., Strack A., Akana S., Bradbury M., Hanson E., Scribner K., Smith M. Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow // Front Neuroendocrinol. 1993. V. 14. P. 303–347.
- Dangre A.J., Manning S., Brouwer M. Effects of cadmium on hypoxia-induced expression of hemoglobin and erythropoietin in larval sheepshead minnow, *Cyprinodon variegates*. // Aquat. Toxicol. 2010. V. 99. № 2. P. 168–175.
- De Fronzo R., Sherwin R., Felig P. Synergistic interactions of counter regulatory hormones: a mechanism for stress hyperglycemia // Acta Chir. Scand. 1980. [Suppl.] V. 498. P. 33–39.
- De Smet H., Blust R. Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2001. V. 48. № 3. P. 255–262.
- De Smet H., Blust R., Moens L. Cadmium-binding to transferrin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio* // Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol. 2001. V. 128. P. 45–53.
- Demirak A., Yilmaz F., Levent T.A., Ozdemir N. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey // Chemosphere. 2006. V. 63. P. 1451–1458.
- Dhanakumar S., Solaraj G., Mohanraj R. Heavy metal partitioning in sediments and bioaccumulation in commercial fish species of three major reservoirs of river Cauvery delta region, India // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2015. V. 113. P. 145–151.

- Dimitriadis G., Leighton B., Parry-Billings M., Sasson S., Young M., Krause U., Bevan S., Piva T., Wegener G., Newsholme E.A. Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in skeletal muscle // *Biochem. J.* 1997. V. 321. P. 707–712.
- Din W.S., Frazier J.M. Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes // *Biochem. J.* 1985. V. 230. P. 395–402.
- Drastichova J., Svobodova Z., Luskova V., Celechovska O., Kalab P. Effect of Cadmium on Blood Plasma Biochemistry in Carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2004. V. 72. P. 733–740.
- El-Boshy M.E.S., Gadalla H.A., El-Hamied F.M.A. Immunological, hematological and biochemical changes induced by short term exposure to cadmium in catfish (*Clarias gariepinus*) // *J. Coast. Life Med.* 2014. V. 2. № 3. P. 175–180.
- Flodmark L.E.W., Urke H.A., Halleraker J.H., Arnekleiv J.V., Vøllestad L.A., Poleo A.B.S. Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream // *J. Fish Biol.* 2002. V. 60 № 1. P. 238–248.
- George S., Burgess D., Leaver M., Frerichs N. Metallothionein induction in cultured fibroblasts and liver of a marine flatfish, the turbot, *Scophthalmus maximus* // *Fish Physiol. Biochem.* 1992. V. 10. P. 43–54.
- Giles M.A. Accumulation of Cadmium by Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, during Extended Exposure // *Can. J. Fish. Aquat. Sciences.* 1988. V. 45. № 6. P. 1045–1053.
- Gill T.S., Pant J.C. Cadmium toxicity: inducement of changes in blood and tissue metabolites in fish. // *Toxicol. Lett.* 1983. V. 18. № 3. P. 195–200.
- Hamilton S.J., Mehrle P.M. Metallothionein in Fish: Review of Its Importance in Assessing Stress from Metal Contaminants // *Trans. Amer. Fish. Soc.* 1986. V. 115. P. 596–609.
- Heydarnejad M.S., Khosravian-Hemamai M., Nematollahi A. Effects of cadmium at sub-lethal concentration on growth and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Irish Vet. J.* 2013. V. 66. № 11. P. 1–7.
- Hontela A., Daniel C., Ricard A.C. Effect of acute and subacute exposure to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // *Aquat. Toxicol.* 1996. V. 35. P. 171–182.
- Isani G., Carpenè E. Review Metallothioneins, Unconventional Proteins from Unconventional Animals: A Long Journey from Nematodes to Mammals // *Biomolecules.* 2014. V. 4. P. 435–457.
- Jezierska B., Witeska M. Metal Toxicity to Fish. Siedlce: Wydawnictwo A. P. 2001. 318 p.
- Johansson-Sjöbeck M.L., Larsson A. The effect of cadmium on the hematology and on the activity of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in blood and hematopoietic tissues of the flounder, *Pleuronectes flesus* L. // *Environ. Res.* 1978. V. 17. № 2. P. 191–204.
- Kakkar P., Jaffery F.N. Biological markers for metal toxicity // *Environ. Toxicol. Pharm.* 2005. V. 19. P. 335–349.
- Kalman J., Riba I., Del Valls Á.T., Blasco J. Comparative toxicity of cadmium in the commercial fish species *Sparus aurata* and *Solea senegalensis* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2010. V. 73. P. 306–311.
- Kaoud H.A., Zaki M.M., El-Dahshan A.R., Saeid S., El Zorba H.Y. Amelioration the Toxic Effects of Cadmium-Exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using *Lemna gibba* L. // *Life Sci. J.* 2011. V. 8. № 1. P. 185–195.
- Karuppasamy R., Subathra S., Puvaneswari S. Haematological responses to exposure to sublethal concentration of cadmium in air breathing fish, *Channa punctatus* (Bloch). // *J. Environ. Biol.* 2005. V. 26. P. 123–128.
- Kori-Siakpere O., Ake J.E.G., Avworo U.M. Sublethal effects of cadmium on some selected haematological parameters of *Heterobranchius bidorsalis* (a hybrid of *Heterobranchius bidorsalis* and *Clarias gariepinus*) // *Intern. J. Zool. Res.* 2006. V. 2. № 1. P. 77–83.
- Krishnani K.K., Azad I.S., Kailasam M., Thirunavukkarasu A.R., Gupta B.P. Acute toxicity of some heavy metals to Lates calcarifer fry with a note on its histopathological manifestations // *J. Environ. Sci. Health.* 2003. V. 38. P. 645–655.
- Ladhar-Chaabouni R., Machreki-Ajmi M., Hamza-Chaffai A. Use of metallothioneins as biomarkers for environmental quality assessment in the Gulf of Gabes (Tunisia) // *Environ. Monit. Assess.* 2012. V. 184. P. 2177–2192.
- Larsson Å., Haux C. Altered carbohydrate metabolism in fish exposed to sublethal levels of cadmium // *J. Environ. Biol.* 1982. V. 3. P. 71–81.
- Lucas A. Physical concepts of bioenergetics. Bioenergetics of aquatic animals. 1996. English edition, Taylor & Francis, France. 169 p.
- Maier D., Blaha L., Giesy J.P., Henneberg A., Köhler H.R. Biological plausibility as a tool to associate analytical data for micropollutants and effect potentials in wastewater, surface water, and sediments with effects in fishes // *Water Research.* 2015. V. 72. P. 127–144.
- Matović V., Buha A., Bulat Z., Dukić-Ćosić D. Cadmium toxicity revisited: Focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium // *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2011. V. 62. P. 65–76.
- Mazeaud M.M., Mazeaud F. Adrenergic responses to stress in fish. In: *Stress and fish*. 1981. Academic Press. New York. P. 49–55.
- Mini V.S. Haematological changes in a freshwater fish, *Anabas testudineus* Bloch, on exposure to heavy metal toxicant cadmium chloride // *Asian J. Sci. and Technol.* 2015. V. 6. № 1. P. 988–992.
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation // *Rev. Fish Biol. Fish.* 1999. V. 9. № 3. P. 211–268.
- Nordberg G.F., Nogawa K., Nordberg M., Friedmann J.M. Cadmium / *Handbook on the Toxicology of Metals*. Amsterdam: Elsevier. 2007. P. 445–486.

- Norey C.G., Cryer A., Kay J. Induction of metallothioneins gene expression by cadmium and the retention of the toxic metal in the tissues of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Comp. Biochem. Physiol. 1990. V. 97. C. P. 215–220.
- O'Neill J.C. The humoral immune response of *Salmo trutta* (L.) and *Cyprinus carpio* (L.) exposed heavy metals // J. Fish. Biol. 1981. V. 19. № 3. P. 297–306.
- Okada I.A., Sakuma A.M., Maio F.D., Dovidemskas S., Zenebon O. Evaluation of lead and cadmium in milk due to environmental contamination in Paraiba Valley region of South Eastern Brazil // Revista de Saúde Publication. 1997. V. 31. P. 140–143.
- Öner M., Atli G., Canli M. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures // Environ. Toxicol. Chem. 2008. V. 27. № 2. P. 360–366.
- Park H., Ahn I.Y., Choi H.J., Pyo S.H., Lee H.E. Cloning, expression and characterization of metallothionein from the Antarctic clam *Laternula elliptica* // Prot. Expres. Purif. 2007. V. 52. P. 82–88.
- Peyghan R., Khadjeh G. H., Enayati A. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* // Vet. Res. Forum. 2014. V. 5. № 3. P. 225–229.
- Pottinger T.G. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets // J. Fish Biol. 1998. V. 53. P. 728–742.
- Pourang N. Heavy metal bioaccumulation in different of two fish species with regard to their feeding habits and trophic levels // Environ. Monit. Ass. 1995. № 35. P. 207–219.
- Pratap H.B., Bonga W.S.E. Effects of water-borne cadmium on plasma cortisol and glucose in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus* // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Comp. Pharmac. 1990. V. 95. № 2. P. 313–317.
- Rangsayatorn N., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Upatham E.S., Lanza G.R., Singhakaew S. Ultrastructural changes in various organs of the fish *Puntius gonionotus* fed cadmium-enriched cyanobacteria // Environ. Toxicol. 2004. V. 19. № 6. P. 585–593.
- Rani M.J.A., Milton J.M.C., Uthiralingam M., Azhaguraj R. Quantitative variation of protein in the tissues of a fresh water fish *Clarias batrachus* exposed to mercury and chromium // Int. J. Curr. Res. 2011. V. 33. P. 230–236.
- Rani U.A., Ramamurthi R. Histopathological alteration in the liver of freshwater teleost *Tilapia mossambica* in response to cadmium toxicity // Ecotoxicol. Environ. Saf. 1989. V. 17. № 2. P. 221–216.
- Ricard A.C., Daniel C., Anderson P., Hontela A. Effect of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1998. V. 34. P. 377–381.
- Ruparellia S.G., Verma J., Sayed S.R., Rawae U.M. Effect of cadmium on blood of *Tilapia*, *Oreochromis mossambicus* (Peters), during prolonged exposure // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 1990. V.45. № 2. P. 305–312.
- Sastry K.V., Shukla V. Acute and chronic toxic effect of cadmium on some haematological, biochemical and enzymological parameters in the freshwater teleost fish *Channa punctatus* // Acta Hydrochim. Hydrobiol. 1994. V. 22. P. 171–176.
- Sastry K.V., Subharda K. In vivo effects on cadmium on some enzyme activities in tissues of the fresh water catfish, *Heteropneustes fossilis* // Environ. Res. 1985. V. 36. P. 32–45.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Kumar D. S., Jagadeesan L. Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India // Comp. Clin. Pathol. 2012a. V. 21. P. 1187–1191.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthilkumar D., Khan A.B., Jeevanantham K. Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India // Comp. Clin. Pathol. 2012b. V. 21. P. 275–281.
- Saxena M.P., Gopal K., Jones W., Ray P.K. Immune responses to *Aeromonas hydrophila* in cat fish (*Heteropneustis fossilis*) exposed to cadmium and hexachlorocyclohexane // Bull. Environ. Contam. And Toxicol. 1992. V.48. № 2. P. 194–201.
- Sevcikova M., Modra H., Kruzikova K., Zitka O., Hynek D., Adam V., Celechovska O., Kizek R., Svobodova Z. Effect of Metals on Metallothionein Content in Fish from Skalka and Želivka Reservoirs // Int. J. Electrochem. Sci. 2013. V. 8. P. 1650–1663.
- Sevcikova M., Modra H., Slaninova A., Svobodova Z. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review // Vet. Med. 2011. V. 56. № 11. P. 537–546.
- Sfakianakis D.G., Renieri E., Kentouri M., Tsatsakis A.M. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review // Envir. Res. 2015. V. 137. P. 246–255.
- Soengas J.L., Agra-Lago M.J., Carballo B., Andrés M.D., Veira J.A. Effect of an acute exposure to sublethal concentrations of cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1996. V. 57. № 4. P. 625–631.
- Swindell W.R. Metallothionein and the biology of aging // Ageing Res. Rev. 2010. V. 10. P. 132–145.
- Theron A.J., Tintinger G.R., Anderson R. Harmful Interactions of Non-Essential Heavy Metals with Cells of the Innate Immune System // J. Clin. Toxicol. 2012. V. 3. P. 1–10.
- Uribe C., Folch H., Enriquez R., Moran G. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review // Vet. Med. 2011. V. 56. № 10. P. 486–503.
- Vasak M., Hasler D.W. Metallothioneins: new functional and structural insights // Curr. Opin. Chem. Biol. 2000. V. 4. № 2. P. 177–183.
- Vergani L., Grattarola M., Borghi C., Dondero F., Viarengo A. Fish and molluscan metallothioneins // FEBS Journal. 2005. V. 272. № 23. P. 6014–6023.

- Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri R. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic mollusks // *Mar. Environ. Res.* 1997. V. 44. P. 69–84.
- Vijayram K.P., Geraldine P., Varadarajan T.S., John G., Loganathan P. Cadmium induced changes in the biochemistry of an air breathing fish *Anabas testudineus* // *J. Ecobiol.* 1989. V. 1. P. 245–251.
- Vosyliene M. Z., Jankaite A. Effect of heavy metal model mixture on rainbow trout biological parameters // *Ekologija.* 2006. V. 4. P. 12–17.
- Walker C.J., Gelsleichter J., Adams D.H., Manire C.A. Evaluation of the use of metallothionein as a biomarker for detecting physiological responses to mercury exposure in the bonethead, *Sphyrnatibur* // *Fish. Physiol. Biochem.* 2014. V. 40. № 5. P. 1361–1371.
- Wedemeyer G.A., Barton B.A., McLeay D.J. Stress and acclimation. In: *Methods for fish biology.* American Fisheries Society: Bethesda, Maryland. 1990. P. 451–489.
- Woo P.T.K., Sin Y.M., Wong M.K. The effects of short-term cadmium exposure on blue tilapia, *Oreochromis aureus* // *Environ. Biol. Fish.* 1993. V. 37. P. 67–74.
- Woodward D.F., Brumbaugh W.G., DeLonay A.J., Smith C. Effects on rainbow trout of a metals contaminated diet of benthic invertebrates from the Clark Fork river, Montana // *Trans. Amer. Fish. Soc.* № 123. 1994. P. 51–62.

REFERENCES

- Abadi D.R.V., Dobaradaran S., Nabipour I., Lamani X., Ravanipour M. 2014. Comparative investigation of heavy metal, trace, and macro element contents in commercially valuable fish species harvested off from the Persian Gulf // *Environ. Sci. Pollut. Res.* V. 22. № 9. P. 6670–6678.
- Al-Asgah N.A., Abdel-Warith A.W.A., Younis E.S.M., Allam H.Y. 2015. Haematological and biochemical parameters and tissue accumulations of cadmium in *Oreochromis niloticus* exposed to various concentrations of cadmium chloride // *Saudi J. Biol. Sci.* V. 22. P. 543–550.
- Al-Attar A.M. 2005. Biochemical Effects of Short-term Cadmium Exposure on the Freshwater Fish, *Oreochromis niloticus* // *J. Biol. Sci.* V. 5. P. 260–265.
- Almeida J.A., Novelli E.L., Pai S.D.M., Junior R.A. 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // *Environ. Pollut.* V. 114. № 2. P. 169–175.
- Aria A. 2014. Evaluation of biochemical and histochemical changes following the combined treatment of mercury and cadmium in a fresh water cat fish, *Clarias batrachus* (Linn) // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* V. 6. № 10. P. 356–358.
- Arillo A., Calamari D., Margiocco C. 1984. Biochemical effects of long-term exposure to cadmium and cooper on rainbow trout (*Salmo gairdneri*): validation on quantity criteria // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 8. № 2. P. 106–117.
- Authman M.M.N., Zaki M.S., Khallaf E.A., Abbas H.H. 2015. Use of Fish as Bioindicator of the Effects of Heavy Metals Pollution // *J. Aquac. Res. Develop.* V. 6. P. 328–341.
- Barnhart R.A. 1969. Effects of certain variables on haematological characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Trans. Am. Fish. Soc.* V. 98. P. 411–418.
- Bedii C.K., Kenan N. 2005. The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758) // *Tur. J. Vet. An. Sci.* V. 29. P. 113–117.
- Borgmann U., Couillard Y., Doyle P., Dixon D.G. 2005. Toxicity of sixty-three metals and metalloids to *Hyaella azteca* at two levels of water hardness // *Environ. Toxicol. Chem.* V. 24. № 3. P. 641–652.
- Bremner I., Beattie J.H. 1990. Metallothionein and the trace minerals // *Ann. Rev. Nutr.* V. 10. P. 63–83.
- Burgess D., Frerichs N., George S. 1993. Control of metallothionein expression by hormones and stressors in cultured fish cell lines // *Mar. Environ. Res.* V. 35. P. 25–28.
- Cairns J., Dickson K.L. 1981. Biological methods for the assessment of water quality. Cocksfieldville: Amer. Soc. for testing and materials. 256 p.
- Chowdhury M.J., McDonald D.G., Wood C.M. 2004. Gastrointestinal uptake and fate of cadmium in rainbow trout acclimated to sublethal dietary cadmium // *Aquat. Toxicol.* V. 69. № 2. P. 149–163.
- Coyle P., Philcox J.C., Carey L.C., Rofe A.M. 2002. Metallothionein: the multipurpose protein // *Cell. Mol. Life Sci.* V. 59. № 4. P. 627–647.
- Dallinger R., Egg M., Giinther K., Hofer R. 1997. The role of metallothionein in cadmium accumulation of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from high alpine lakes // *Aquat. Toxicol.* V. 38. P. 47–66.
- Dallman M., Strack A., Akana S., Bradbury M., Hanson E., Scribner K., Smith M. 1993. Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow // *Front Neuroendocrinol.* V. 14. P. 303–347.
- Dangre A.J., Manning S., Brouwer M. 2010. Effects of cadmium on hypoxia-induced expression of hemoglobin and erythropoietin in larval sheepshead minnow, *Cyprinodon variegates* // *Aquat. Toxicol.* V. 99. № 2. P. 168–175.
- Davydova A.O., Klimov E.S., Vaganova E.S., Vaganov A.S. 2014. Vliyanie fiziko-himicheskikh faktorov na sodержanie tyazhelykh metallov v vodnykh ehkositemah [Influence of physical and chemical factors on the content of heavy metals in aquatic ecosystems] Ulyanovsk: UIGTU. 167 s. [In Russian]
- De Fronzo R., Sherwin R., Felig P. 1980. Synergistic interactions of counter regulatory hormones: a mechanism for stress hyperglycemia // *Acta Chir. Scand. [Suppl.]* V. 498. P. 33–39.

- De Smet H., Blust R. 2001. Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 48. № 3. P. 255–262.
- De Smet H., Blust R., Moens L. 2001. Cadmium-binding to transferrin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio* // *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* V. 128. P. 45–53.
- Demirak A., Yilmaz F., Levent T.A., Ozdemir N. 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey // *Chemosphere*. V. 63. P. 1451–1458.
- Dhanakumar S., Solaraj G., Mohanraj R. 2015. Heavy metal partitioning in sediments and bioaccumulation in commercial fish species of three major reservoirs of river Cauvery delta region, India // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 113. P. 145–151.
- Dimitriadis G., Leighton B., Parry-Billings M., Sasson S., Young M., Krause U., Bevan S., Piva T., Wegener G., Newsholme E.A. 1997. Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in skeletal muscle // *Biochem. J.* V. 321. P. 707–712.
- Din W.S., Frazier J.M. 1985. Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes // *Biochem. J.* V. 230. P. 395–402.
- Drastichova J., Svobodova Z., Luskova V., Celechovska O., Kalab P. 2004. Effect of Cadmium on Blood Plasma Biochemistry in Carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 72. P. 733–740.
- Ehkologicheskaya himiya: Osnovy i koncepcii. 1997 [Ecological Chemistry: Basics and concepts]. M.: Mir. 396 s. [In Russian]
- El-Boshy M.E.S., Gadalla H.A., El-Hamied F.M.A. 2014. Immunological, hematological and biochemical changes induced by short term exposure to cadmium in catfish (*Clarias gariepinus*) // *J. Coast. Life Med.* V. 2. № 3. P. 175–180.
- Flodmark L.E.W., Urke H.A., Halleraker J.H., Arnekleiv J.V., Vøllestad L.A., Poleo A.B.S. 2002. Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream // *J. Fish Biol.* V. 60. № 1. P. 238–248.
- Gabibov M.M., Rabadanova A.I., Abdullaeva N.M., Kurbanova I.K., Sulejmanova U.Z., Alieva G.S. 2009. Vliyanie hronicheskogo vozdejstviya ionov svinca i kadmiya na sodержanie obshchego belka i ego frakcij v tkanyah segoletok karpa (*Cyprinus carpio* L.) [Effect of chronic exposure to lead and cadmium ions in the total protein content and its fractions in the tissues of carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.)] // *Izv. Samarskogo nauch. centra RAN.* T. 11. № 1 (5). S. 1066–1069. [In Russian]
- Galaktionov V.G. 2005. Evolyucionnaya immunologiya: Ucheb. posobie [Evolutionary immunology: tutorial]. M: IKC “Akademkniga”. 408 s. [In Russian]
- Garmaza YU.M., Tamashevskij A.V., Slobozhanina E.I. 2016. Metallothioneiny mlekopitayushchih: struktura i biologicheskaya rol' [Mammalian metallothioneins: structure and biological role] // *Ser. boil. nauk.* № 1. S. 107–116. [In Russian]
- George S., Burgess D., Leaver M., Frerichs N. 1992. Metallothionein induction in cultured fibroblasts and liver of a marine flatfish, the turbot, *Scophthalmus maximus* // *Fish Physiol. Biochem.* V. 10. P. 43–54.
- Giles M.A. 1988. Accumulation of Cadmium by Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, during Extended Exposure // *Can. J. Fish. Aquat. Sciences.* V. 45. № 6. P. 1045–1053.
- Gill T.S., Pant J.C. 1983. Cadmium toxicity: inducement of changes in blood and tissue metabolites in fish. // *Toxicol. Lett.* V. 18. № 3. P. 195–200.
- Grishchenko L.I., Akbaev M.SH., Vasil'kov G.V. 1999. Bolezni ryb i osnovy rybovodstva [Fish diseases and fishery bases]. M.: Kolos. 456 s. [In Russian]
- Hamilton S.J., Mehrle P.M. 1986. Metallothionein in Fish: Review of Its Importance in Assessing Stress from Metal Contaminants // *Trans. Amer. Fish. Soc.* V. 115. P. 596–609.
- Heydarnejad M.S., Khosravian-Hemamai M., Nematollahi A. 2013. Effects of cadmium at sub-lethal concentration on growth and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Irish Vet. J.* V. 66. № 11. P. 1–7.
- Hontela A., Daniel C., Ricard A.C. 1996. Effect of acute and subacute exposure to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // *Aquat. Toxicol.* V. 35. P. 171–182.
- Isani G., Carpenè E. 2014. Review Metallothioneins, Unconventional Proteins from Unconventional Animals: A Long Journey from Nematodes to Mammals // *Biomolecules.* V. 4. P. 435–457.
- Ivanov A.A. 2003. Fiziologiya ryb [Fish physiology]. M.: Mir. 284 s. [In Russian]
- Ivanova N.T. 2005. Materialy k sravnitel'noj morfologii sistemy krovi cheloveka i zhivotnyh [Materials for the comparative morphology of the system of human and animal blood]. Rostov na Donu: RGPU. 156 s. [In Russian]
- Jezierska B., Witeska M. 2001. Metal Toxicity to Fish. Siedlce: Wydawnictwo A. P. 318 p.
- Johansson-Sjöbeck M.L., Larsson A. 1978. The effect of cadmium on the hematology and on the activity of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in blood and hematopoietic tissues of the flounder, *Pleuronectes flesus* L. // *Environ. Res.* V. 17. № 2. P. 191–204.
- Kakkar P., Jaffery F.N. 2005. Biological markers for metal toxicity. *Environ. Toxicol. Pharm.* V. 19. P. 335–349.
- Kalman J., Riba I., Del Valls Á.T., Blasco J. 2010. Comparative toxicity of cadmium in the commercial fish species *Sparus aurata* and *Solea senegalensis* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 73. P. 306–311.
- Kaoud H.A., Zaki M.M., El-Dahshan A.R., Saeid S., El Zorba H.Y. 2011. Amelioration the Toxic Effects of Cadmium-Exposure in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using *Lemna gibba* L // *Life Sci. J.* V. 8. № 1. P. 185–195.

- Karuppasamy R., Subathra S., Puvaneswari S. 2005. Haematological responses to exposure to sublethal concentration of cadmium in air breathing fish, *Channa punctatus* (Bloch). // J. Environ. Biol. V. 26. P. 123–128.
- Kondrat'eva I.A., Kitashova A.A. 2002. Funkcionirovanie i regulyaciya immunnogo sistema ryb [Function and regulation of fish immune system] // Immunologiya. № 2. S. 97–101. [In Russian]
- Konovalov YU.D. 1993. Svyazyvanie kadmiya i rtuti belkami i nizkomolekulyarnymi tiolovymi soedineniyami ryb [Binding of cadmium and mercury by proteins and low molecular weight thiol compounds of fish] // Gidrob. Zhurn. № 1. S. 42–51. [In Russian]
- Kori-Siakpere O., Ake J.E.G., Avworo U.M. 2006. Sublethal effects of cadmium on some selected haematological parameters of *Heterobranchius bidorsalis* (a hybrid of *Heterobranchius bidorsalis* and *Clarias gariepinus*) // Intern. J. Zool. Res. V. 2. № 1. P. 77–83.
- Krishnani K.K., Azad I.S., Kailasam M., Thirunavukkarasu A.R., Gupta B.P. 2003. Acute toxicity of some heavy metals to *Lates calcarifer* fry with a note on its histopathological manifestations // J. Environ. Sci. Health. V. 38. P. 645–655.
- Kryuchkov V.N., Alinovskaya YU.B. 2000. Obratimost nekotorykh immunologicheskikh pokazatelej karpa posle intoksikatsii kadmiem [The reversibility of some immunological parameters of carp after cadmium intoxication] // Vopr. rybolovstva. T. 1. № 2–3. S. 21–22. [In Russian]
- Kryuchkov V.N., Bojko A.V. 2002. Izuchenie mekhanizma nefrotoksichnosti kadmiya dlya ryb [The study of the of nephrotoxicity mechanism of cadmium for fish] // Sovr. prob. Kaspiya. Tez. dokl. mezhd. konf. Astrahan. S. 152–155. [In Russian]
- Kutyakov V.A., Salmina A.B. 2014. Metallothioneiny kak sensory i regulatory obmena metallov v kletkah [Metallothioneins as a sensors and regulators of metals exchange in the cells] // Byul. sib. med. T. 13. Vyp. 3. S. 91–99. [In Russian]
- Ladhar-Chaabouni R., Machreki-Ajmi M., Hamza-Chaffai A. 2012. Use of metallothioneins as biomarkers for environmental quality assessment in the Gulf of Gabes (Tunisia) // Environ. Monit. Assess. V. 184. P. 2177–2192.
- Lapirova T.B. 2001. Vliyanie subletal'nykh koncentracij rtuti, medi i kadmiya na immunofiziologicheskoe sostoyanie molodi lenskogo osetra [Influence of sublethal salts concentrations of hydrargyrum, coppers and cadmium on some immunophysiological parameters of the sturgeon fingerling (*Acipenser baeri* Brandt)] // Inl. wat. biol. № 3. P. 80–84. [In Russian]
- Lapirova T.B., Mikryakov V.R. 2005. Vliyanie nekotorykh stress-faktorov na funktsional'noe sostoyanie gumoral'nogo zvena nespecificheskogo immuniteta molodi karpa [The effect of some stress factors on the functional state of humoral component of carp fingerlings innate immunity] // Vopr. rybolovstva. T. 6. № 24. S. 771–780. [In Russian]
- Larsson Å., Haux C. 1982. Altered carbohydrate metabolism in fish exposed to sublethal levels of cadmium // J. Environ. Biol. V. 3. P. 71–81.
- Lucas A. 1996. Physical concepts of bioenergetics. In: Bioenergetics of aquatic animals. London: Taylor & Francis. 169 p.
- Maier D., Blaha L., Giesy J.P., Henneberg A., Köhler H.R. 2015. Biological plausibility as a tool to associate analytical data for micropollutants and effect potentials in wastewater, surface water, and sediments with effects in fishes // Water Research. V. 72. P. 127–144.
- Matović V., Buha A., Bulat Z., Dukić-Ćosić D. 2011. Cadmium toxicity revisited: Focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium // Arh. Hig. Rada Toksikol. V. 62. P. 65–76.
- Mazeaud M.M., Mazeaud F. 1981. Adrenergic responses to stress in fish. In: Stress and fish. New York: Academic Press. P. 49–55.
- Mini V.S. 2015. Haematological changes in a freshwater fish, *Anabas testudineus* Bloch, on exposure to heavy metal toxicant cadmium chloride // Asian J. Sci. and Technol. V. 6. № 1. P. 988–992.
- Miroshnichenko Yu.Yu., Yurmazova T.A. 2010. Himicheskie zagryazneniya v biosfere i ih opredelenie: uchebnoe posobie [Chemical pollution in the biosphere and their definition: a tutorial]. Tomsk: Izd. NITPU. 86 s. [In Russian]
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation // Rev. Fish Biol. Fish. V. 9. № 3. P. 211–268.
- Nordberg G.F., Nogawa K., Nordberg M., Friedmann J.M. 2007. Cadmium // Handbook on the Toxicology of Metals. Amsterdam: Elsevier. P. 445–486.
- Norey C.G., Cryer A., Kay J. 1990. Induction of metallothioneins gene expression by cadmium and the retention of the toxic metal in the tissues of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Comp. Biochem. Physiol. V. 97. C. P. 215–220.
- O'Neill J.C. 1981. The humoral immune response of *Salmo trutta* (L.) and *Cyprinus carpio* (L.) exposed heavy metals // J. Fish. Biol. V. 19. № 3. P. 297–306.
- Okada I.A., Sakuma A.M., Maio F.D., Dovidemskas S., Zenebon O. 1997. Evaluation of lead and cadmium in milk due to environmental contamination in Paraíba Valley region of South Eastern Brazil // Revista de Saúde Pública. V. 31. P. 140–143.
- Öner M., Atli G., Canli M. 2008. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures // Environ. Toxicol. Chem. V. 27. № 2. P. 360–366.
- Park H., Ahn I.Y., Choi H.J., Pyo S.H., Lee H.E. 2007. Cloning, expression and characterization of metallothionein from the Antarctic clam *Laternula elliptica* // Prot. Express. Purif. V. 52. P. 82–88.
- Peyghan R., Khadjeh G. H., Enayati A. 2014. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* // Vet. Res. Forum. V. 5. № 3. P. 225–229.

- Pliseckaya E.H.M. 1975. Gormonal'naya regulyaciya uglevodnogo obmena u nizshih pozvonochnyh [Hormonal regulation of carbohydrate metabolism in lower vertebrates]. L.: Nauka. 216 s. [In Russian]
- Pottinger T.G. 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers keepnets // J. Fish Biol. V. 53. P. 728–742.
- Pourang N. 1995. Heavy metal bioaccumulation in different of two fish species with regard to their feeding habits and trophic levels // Environ. Monit. Ass. № 35. P. 207–219.
- Pratap H.B., Bonga W.S.E. 1990. Effects of water-borne cadmium on plasma cortisol and glucose in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus* // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Comp. Pharmac. V. 95. № 2. P. 313–317.
- Pyhteeva E.G. 2010. Metallothionein: biologicheskie funkci 3. Prakticheskoe primeneniye metallothioneina i ego diagnosticheskoe znachenie [Metallothionein: biological functions 3. Practical application of metallothionein and its diagnostic significance] // Akt. prob. transp. med. № 2 (20). S. 58–63. [In Russian]
- Pyhteeva E.G., Potapov E.A., Bol'shoj D.V., Pyhteeva E.D. 2011. *In vitro* modelirovaniye dejstviya kadmiya na ehpiteli-al'nye kletki pri predvaritel'noj indukcii metallothioneina *in vivo* [In vitro modeling of cadmium action on epithelial cells *in vivo* during the preliminary metallothionein induction] // Akt. prob. transp. med. № 2 (24). S. 88–93. [In Russian]
- Rangsayatorn N., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Upatham E.S., Lanza G.R., Singhakaew S. 2004. Ultrastructural changes in various organs of the fish *Puntius gonionotus* fed cadmium-enriched cyanobacteria // Environ. Toxicol. V. 19. № 6. P. 585–593.
- Rani M.J.A., Milton J.M.C., Uthiralingam M., Azhaguraj R. 2011. Quantitative variation of protein in the tissues of a fresh water fish *Clarias batrachus* exposed to mercury and chromium // Int. J. Curr. Res. V. 33. P. 230–236.
- Rani U.A., Ramamurthi R. 1989. Histopathological alteration in the liver of freshwater teleost *Tilapia mossambica* in response to cadmium toxicity // Ecotoxicol. Environ. Saf. V. 17. № 2. P. 216–221.
- Ricard A.C., Daniel C., Anderson P., Hontela A. 1998. Effect of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. // Arch. Environ. Contam. Toxicol. V. 34. P. 377–381.
- Ruparellia S.G., Verma J., Sayed S.R., Rawae U.M. 1990. Effect of cadmium on blood of Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), during prolonged exposure // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. V. 45. № 2. P. 305–312.
- Saenko G.N. 1992. Metally i galogeny v morskikh organizmakh [Metals and halogens in marine organisms]. M.: Nauka. 200 s. [In Russian]
- Salovarova V. P., Pristavka A. A., Berseneva O.A. 2007. Vvedenie v biohimicheskuyu ehkologiyu: ucheb. posobie [Introduction to Biochemical Ecology: a tutorial]. Irkutsk: IrGU. 159 s. [In Russian]
- Sastry K.V., Shukla V. 1994. Acute and chronic toxic effect of cadmium on some haematological, biochemical and enzymological parameters in the freshwater teleost fish *Channa punctatus* // Acta Hydrochim. Hydrobiol. V. 22. P. 171–176.
- Sastry K.V., Subharda K. 1985. In vivo effects on cadmium on some enzyme activities in tissues of the fresh water catfish, *Heteropneustes fossilis* // Environ. Res. V. 36. P. 32–45.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Kumar D. S., Jagadeesan L. 2012a. Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India // Comp. Clin. Pathol. V. 21. P. 1187–1191.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthilkumar D., Khan A.B., Jeevanantham K. 2012b. Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India // Comp. Clin. Pathol. V. 21. P. 275–281.
- Saxena M.P., Gopal K., Jones W., Ray P.K. 1992. Immune responses to *Aeromonas hydrophila* in cat fish (*Heteropneustis fossilis*) exposed to cadmium and hexachlorocyclohexane // Bull. Environ. Contam. And Toxicol. V. 48. № 2. P. 194–201.
- Serpunin G.G. 2010. Gematologicheskie pokazateli adaptacij ryb. [Hematological parameters of fish adaptations] Kaliningrad: FGOU VPO "KGTU". 460 s. [In Russian]
- Sevcikova M., Modra H., Kruzikova K., Zitka O., Hynek D., Adam V., Celechovska O., Kizek R., Svobodova Z. 2013. Effect of Metals on Metallothionein Content in Fish from Skalka and Želivka Reservoirs // Int. J. Electrochem. Sci. V. 8. P. 1650–1663.
- Sevcikova M., Modra H., Slaninova A., Svobodova Z. 2011. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review // Vet. Med. V. 56. № 11. P. 537–546.
- Sfakianakis D.G., Renieri E., Kentouri M., Tsatsakis A.M. 2015. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review // Envir. Res. V. 137. P. 246–255.
- Soengas J.L., Agra-Lago M.J., Carballo B., Andrés M.D., Veira J.A. 1996. Effect of an acute exposure to sublethal concentrations of cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. V. 57. № 4. P. 625–31.
- Swindell W.R. Metallothionein and the biology of aging. 2010. / Ageing Res. Rev. V. 10. P. 132–145.
- Theron A.J., Tintinger G.R., Anderson R. 2012. Harmful Interactions of Non-Essential Heavy Metals with Cells of the Innate Immune System // J. Clin. Toxicol. V. 3. P. 1–10.
- Uribe C., Folch H., Enriquez R., Moran G. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review // Vet. Med. V. 56. № 10. P. 486–503.
- Vasak M., Hasler D.W. 2000. Metallothioneins: new functional and structural insights // Curr. Opin. Chem. Biol. V. 4. № 2. P. 177–183.

- Vergani L., Grattarola M., Borghi C., Dondero F., Viarengo A. 2005. Fish and molluscan metallothioneins // *FEBS Journal*. V. 272. № 23. P. 6014–6023.
- Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri R. 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic mollusks // *Mar. Environ. Res.* V. 44. P. 69–84.
- Vijayram K.P., Geraldine P., Varadarajan T.S., John G., Loganathan P. 1989. Cadmium induced changes in the biochemistry of an air breathing fish *Anabas testudineus* // *J. Ecobiol.* V. 1. P. 245–251.
- Vosyliene M. Z., Jankaite A. 2006. Effect of heavy metal model mixture on rainbow trout biological parameters // *Ekologija*. V. 4. P. 12–17.
- Walker C.J., Gelsleichter J., Adams D.H., Manire C.A. 2014. Evaluation of the use of metallothionein as a biomarker for detecting physiological responses to mercury exposure in the bonethead, *Sphyrnatibur* // *Fish. Physiol. Biochem.* V. 40. № 5. P. 1361–1371.
- Wedemeyer G.A., Barton B.A., McLeay D.J. 1990. Stress and acclimation. In: *Methods for fish biology*. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society. P. 451–489.
- Woo P.T.K., Sin Y.M., Wong M.K. 1993. The effects of short-term cadmium exposure on blue tilapia, *Oreochromis aureus* // *Environ. Biol. Fish.* V. 37. P. 67–74.
- Woodward D.F., Brumbaugh W.G., DeLonay A.J., Smith C. 1994. Effects on rainbow trout of a metals contaminated diet of benthic invertebrates from the Clark Fork river, Montana // *Trans. Amer. Fish. Soc.* № 123. P. 51–62.
- Zabotkina E.A., Lapirova T.B. 2003. Vliyanie tyazhelyh metallov na immunofiziologicheskij status ryb (obzor) [The effect of heavy metals on the immunophysiological status of fish (review)] // *Uspekhi sovr. biol. T.* 123. № 4. S. 411–418. [In Russian]
- Zhiteneva L.D., Makarov E.H.V., Rudnickaya O.A. 2001. Evolyuciya krovi. [Evolution of blood]. Rostov-na-Donu: Delovoj mir. 114 s. [In Russian]

REACTION OF FISH PROTEIN AND CARBOHYDRATE METABOLISM PARAMETERS ON THE CADMIUM IMPACT (REVIEW)

T. B. Lapirova

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: ltb@ibiw.yaroslavl.ru*

The paper provides an analysis of the results of studies on the issue of the effect of cadmium on the main parameters of protein and carbohydrate metabolism of fish. It has been shown that even small doses of toxicant cause noticeable changes of these parameters, but the dynamics and direction of their ambiguous. When using these indicators in monitoring activities and in the evaluation of the state of health of the population must be consider dose and timing of toxicant exposure, as well as the species of fish.

Keywords: fish, cadmium, serum proteins, glucose

УДК 574.64

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСТРАКОД ДЛЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Н. Ю. Степанова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
420008 Казань, Кремлевская, 18, e-mail: nstepanova.kazan96@gmail.com

В статье обсуждаются методы токсикологического исследования донных отложений. Приводится перечень и характеристика наиболее распространенных методик. На примере тестирования донных отложений с помощью остракод *Heterocypris incongruens* обсуждается возможность использования альтернативных методов, реализованных в виде микробиотестов. Приводятся данные сравнения результатов тестирования на остракодах с результатами, полученными в элюатных тестах на водорослях *Chlorella vulgaris*, инфузориях *Paramecium caudatum* и в контактном тесте на *Daphnia magna*. Показано, что тестирование на остракодах демонстрирует сопоставимую чувствительность по сублетальному критерию токсичности.

Ключевые слова: донные отложения, биотестирование, *Heterocypris incongruens*, *Chlorella vulgaris*, *Paramecium caudatum*, *Daphnia magna*.

ОБЗОР МЕТОДОВ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Донные отложения (ДО) представляют собой сложную природную матрицу, в состав которой входят как природные автохтонные, так и привнесенные антропогенно обусловленные соединения, сочетание которых может приводить к усилению или ослаблению их токсического действия. Комплексное воздействие загрязняющих веществ в составе ДО определяется при лабораторном моделировании с использованием тест-объектов (биотестирование) и в контролируемых условиях водного объекта (мезокосмы). Токсикологические методы оценки ДО можно разделить на следующие группы [Разработка системы ... (Razrabotka sistemy ...), 2014]:

- элюатные тесты, в которых исследуется экстракт ДО или поровая вода (вода, тесно связанная с ДО и выделяемая при центрифугировании влажных ДО), т.е. выявляется потенциальное токсическое воздействие на гидробионтов при вторичном загрязнении при выходе поллютантов, преимущественно растворимых, из ДО в воду;

- контактные тесты, в которых процедуру биотестирования проводят в системе вода–донные отложения с использованием донных и придонных гидробионтов, обитающих в грунте и на границе вода–ДО и испытывающих воздействие сорбированных в ДО загрязняющих веществ, в том числе гидрофобных;

- тесты кратковременные (острый опыт), длящиеся, как правило, не более 96 часов, главная цель которых выявить наличие токсич-

ческих соединений острого действия, критерием токсичности в них является смертность или ингибирование деления (одноклеточные водоросли, бактерии, простейшие);

- долговременные тесты, цель которых выявить отложенные эффекты, вызываемые загрязняющими веществами в составе ДО.

Для биотестирования водной вытяжки ДО используют биотесты на дафниях и цериодафниях (приоритетные тест-объекты), водорослях, инфузориях, коловратках [Оценка токсического ... (Ocenka toksicheskogo ...), 2006] и рыбах [Руководство ... (Rukovodstvo ...), 2002]. Контактные тесты рекомендовано проводить с использованием в качестве тест-объектов личинок хирономид видов *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758), *Ch. dorsalis* (Meigen, 1818), *Ch. riparius* (Meigen, 1804), *Ch. semireductus* (Lenz, 1924) в остром (96 ч) и хроническом (до 30 сут) опытах [Временное методическое ..., (Vremennoe metodicheskoe ...), 2002].

В практике токсикологического контроля в Северной Америке используют хронический контактный тест с амфиподами *Hyalella azteca* (Saussure, 1858) [Standard test ..., 1999; Methods for measuring ..., 2000], и бактериальный тест Microtox® [Johnson, Long, 1998]. В токсикологическом мониторинге ДО в Бельгии применяют элюатный кратковременный (острый) тест с использованием Thamnotoxkit F и хронический контактный тест с *Hyalella azteca* [De Deckere et al., 2000, 2011].

Однако в последнее время длительный тест на амфиподах был заменен на микробиотест с остракодами *Heterocypris incongruens*, который, по оценкам специалистов, дает сопоставимые с амфиподами результаты.

В России, несмотря на наличие руководящих документов [Проведение наблюдений (Provedenie nablyudenij...), 2002], отсутствует систематический государственный токсикологический мониторинг ДО. В соответствии с руководящим документом для биотестирования водной вытяжки рекомендуется использовать биотесты на дафниях, цериодафниях, водорослях, инфузориях, коловратках [Оценка токсического загрязнения... (Ocenka toksicheskogo zagryazneniya ...), 2006] и рыбах. Приоритетным при оценке результатов биотестирования водной вытяжки по набору биотестов является биотест на дафниях или цериодафниях. Контактные тесты рекомендовано проводить с использованием в качестве тест-объектов личинок хирономид видов *Chironomus plumosus*, *Ch. dorsalis*, *Ch. riparius*, *Ch. semireductus* в остром (96 ч) и хроническом (до 30 сут) опытах.

Характеристика нормативной базы в области биотестирования ДО в России дается в статье Е.Н. Бакаевой с соавторами [Бакаева и др. (Bakaeva et al.), 2009]. Авторы отмечают, что Минприроды РФ в 2001 г. принят нормативный документ, предназначенный для определения токсичности различных сред методом биотестирования, в том числе и ДО [Руководство по определению... (Rukovodstvo po opredeleniyu ...), 2002]. Однако все включенные в документ методики биотестирования предназначены для оценки токсичности только водных вытяжек донных отложений и включают ограниченное число тест-объектов. Широкий спектр тест-объектов и большой набор методик представлен в утвержденном Минприроды и Минсельхоз России в 2002 г. “Временном методическом руководстве...” [Временное методическое... (Vremennoe metodicheskoe ...), 2002], которое направлено на установление нормативов допустимого содержания химических веществ, в частности нефти, в донных отложениях поверхностных водных объектов. Руководство содержит набор методик по определению максимально допустимых уровней веществ, аккумулярованных донными отложениями, на основе модельных экспериментальных исследований с использованием чувствительных биологических тест-объектов в системе ДО–вода. В список рекомендованных

тест-объектов включены представители основных трофических групп – макрофиты, фито- и зоопланктон, зообентос, бентосоядные рыбы.

Сравнительный анализ методов биотестирования ДО позволил авторам [Бакаева и др. (Bakaeva et al.), 2009] выявить ряд трудностей в разработке методик биотестирования:

- выбор тест-объекта – применяемые биотесты используют не характерные для исследуемого региона живые объекты и нередко экологически неподходящие;
- выбор тест-показателя – показатель должен отражать жизненно важные функции организма, быть легко воспроизводимым, иметь критерий, способствующий получению достоверной информации;
- корректный выбор контроля (контрольной или фоновой пробы) – характеристики контроля должны быть аналогичны опытной пробе по параметрам типа грунта, по его гранулометрическому составу;
- пробоподготовка – отсутствие четких и достаточно аргументированных представлений о процедуре подготовки пробы для биологического анализа без риска изменения исходных токсических свойств, используемое для приготовления водных вытяжек донных отложений соотношение 1:4 не учитывает тип и гранулометрический состав ДО;
- значительная неопределенность в оценке результатов биотестирования ДО связана с анализом общей оценки токсического загрязнения, основанной на результатах использования набора биотестов и состоянии биоты водного объекта.

С некоторыми положениями можно согласиться, а с некоторыми поспорить. Так, выбор эндемичных, характерных для данного региона тест-объектов приведет к неоправданному расширению токсикологических методик, подготовка которых в практике государственного мониторинга требует их стандартизации, для этого требуются большие затраты времени и ресурсов. Кроме того, это приведет к снижению прецизионности метода и невозможности сравнивать результаты с аналогичными, полученными для других регионов, что снизит научную значимость полученных результатов. В отношении выбора критерия токсичности нет никаких сложностей, так как при разработке методики предлагается наиболее стабильно воспроизводимый и чувствительный показатель. Корректный выбор контроля, несомненно, очень важен. В мониторинге ДО часто используют фоновый участок, расположенный

Таблица 1. Токсикологические методики для тестирования донных отложений

Table 1. Toxicological test methods for sediments

Тест-объект Test-object	Вид теста Mode of test	Литературный источник Referenses
Одноклеточные водоросли One-celled alga (<i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Chlorella vulgaris</i>)	Элюатный, острый/хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002); Методика измерения...2014 (Metodika izmerenij ... 2014)]
Высшие водные растения Higher aquatic plants (<i>Elodea canadensis</i> Rich, <i>Vallisneria spiralis</i> Linne, <i>Lemna minor</i> Linne)	Элюатный/контактный, острый/хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002)]
Инфузории Infusoria (<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg)	Элюатный, острый/хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002)]
Коловратки Rrotifers (<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas)	Элюатный, острый /хронический	[Оценка токсического ...2006 (Ocenka toksicheskogo ... 2006)]
Кладоцеры Cladocerans (<i>Daphnia magna</i> Straus, <i>Ceriodaphnia dubia</i> Richard, <i>C. affinis</i> Lilljeborg)	Элюатный/контактный, острый/хронический	[Standard test method ..., 2010]
Остракоды Ostracoda (<i>Heterocypris incongruens</i>)	Контактный, острый/хронический	[Chial., Persoone, 2002; Water quality ..., 2012]
Амфиподы Amphipoda (<i>Hyaella azteca</i> Saussure)	Контактный, хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002); Standard test method... 2010]
Брюхоногие моллюски Gastropods (<i>Limnaea stagnalis</i> Linne, <i>Planorbis</i> <i>sp.</i> Muller, <i>Planorbis planorbis</i> (Lin- naeus, 1758), <i>Physa fontinalis</i> Linne)	Контактный, хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002)]
Хирономиды Chironomids (<i>Chironomus dorsalis</i> Meigen, <i>Ch. thummi</i> Kieffer, <i>Ch. plumosus</i> Linne, <i>Ch. riparius</i> Meigen)	Контактный, хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002); Standard test method... 2010]
Олигохеты Oligochaetes (<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> Claparede, <i>L. udekemianus</i> Claparede)	Контактный, хронический	[Временное методическое ... 2002 (Vremennoe metodicheskoe ... 2002)]

выше зоны загрязнения и характеризующийся не только отсутствием токсического загрязнения, но и большим биологическим разнообразием бентосного сообщества. В токсикологической практике хорошо зарекомендовал себя контроль в виде отмытого песка, который не содержит токсических веществ, переходящих в воду. В этом случае возможен так называемый “стимулирующий эффект”, когда в опыте с илистыми ДО, обогащенными органическими веществами, регистрируются лучшие показатели, чем в контроле. Поступление дополнительного питания в результате развития бактерий и водорослей может маскировать токсическое проявление или приводить к истощению популяционного потенциала по отношению к токсическому фактору. На этот

случай методиками предусмотрено допустимое ограничение стимулирующего эффекта, выше которого он считается токсическим.

Неопределенность в оценке результатов и трудность экстраполяции их на природное сообщество действительно являются недостатками лабораторного моделирования в целом. Для этого используются коэффициенты, позволяющие учесть и синергетический эффект токсикантов в природных пробах, и ограниченность токсикологической информации. Поскольку рутинный анализ, в том числе токсикологический, должен быть экономически эффективен, то сознательно ограничивают исследования необходимым и достаточным набором тест-объектов.

Процедура хранения пробы и ее подго-

товки к анализу является самым сложным моментом. Очень трудно сохранить химический состав нативной пробы после ее отбора, так как при этом меняются условия (окислительно-восстановительный потенциал, кислородный режим, pH), при которых проявляются токсические свойства соединений. В зарубежных и отечественных литературных источниках и нормативных документах [Проведение наблюдений ..., 2002 (Provedenie nablyudenij ..., 2002); Standard test methods ..., 1999; De Deckere et al., 2000; Methods for measuring the toxicity, 2000;] четко прописана процедура отбора, хранения, подготовки пробы для уменьшения потерь токсических веществ на этапе, предшествующем биотестированию.

Как отмечается в ряде работ, для повышения надежности прогноза токсикологических данных предложено использовать метод TRIAD [Баканов и др., 2000 (Bakanov et al., 2000); Михайлова и др., 2000 (Mihajlova et al., 2000); Томилина, 2000 (Tomilina, 2000); Иванова, 2009 (Ivanova, 2009); Chapman, 1986; Stepanova, 2014]. Метод TRIAD включает проведение химического анализа ДО, биоиндикационную оценку состояния бентосного сообщества и тестирование донных осадков. Методы анализа ДО через видовую идентификацию бентосных организмов призваны оценить состояние экосистемы. Для характеристики бентосного сообщества было предложено использовать двух типичных представителей: хироно-

мид и олигохет [Chapman, 1986; Van de Guchte, 1992]. Данный выбор объясняется их широкой распространенностью во всех типах ДО и возможностью устанавливать по плотности биомассы этих таксономических групп градиент загрязненности. Кроме того, выявлена хорошая корреляция между деформациями челюстного аппарата хирономид и степенью загрязненности ДО. Лабораторные исследования включали тестирование ДО на *Daphnia* и личинках *Chironomus* в условиях хронического эксперимента. В пользу выбора тестирования на комбинации двух видов *Chironomus/Daphnia* послужили результаты предварительного исследования, проведенного на 48 образцах ДО различной степени загрязненности с использованием шести тест-объектов: бактерии – *Photobacterium* (Microtox), водоросли – *Chlorella*, ракообразные – *Daphnia*, бентосные организмы – *Chironomus*, рыбы – *Danio*, *Salmo*. Сравнение токсических ответов с использованием всего набора тестов и комбинации *Chironomus/Daphnia* выявило преимущество тестирования с использованием последних [Van de Guchte, 1992].

Для оптимизации проведения токсикологических испытаний ДО с экономической точки зрения, набор методик и тест-объектов должен включать, как минимум, три тест-объекта, представляющие различные таксономические группы и трофические уровни, а также хотя бы один контактный хронический тест (табл. 1).

МИКРОБИОТЕСТЫ КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТРАДИЦИОННЫМ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДАМ

Большим недостатком традиционных токсикологических методов исследования является необходимость в постоянном поддержании лабораторной тест-культуры, что требует специальных условий их содержания и обученного персонала. Это вызывает трудности в тех случаях, когда токсикологическая оценка загрязненных сред не является рутинной процедурой и проводится нерегулярно. По этой причине, начиная с 80-х годов сначала в Монреале (Канада), в Агентстве по охране окружающей среды, затем в университете города Гент (Бельгия) стали развивать методы биотестирования, в основе которых лежит использование биологических культур, готовых к применению, не требующих специальных лабораторных помещений и высококвалифицированного персонала. Наборы, снабженные всем необходимым для проведения анализа

материалом, назвали микробиотестами [Persoone, 1998]. Требования, предъявляемые к токсикологическим методикам, реализованным в виде микробиотестов, следующие:

- объем проб при проведении тестирования не должен превышать 100 мл (небольшой объем пробы значительно уменьшает стоимость процедуры тестирования);
- все необходимое для тестирования (реактивы, посуда, необходимые среды, тест-организмы) должно быть собрано в наборе;
- при тестировании должно использоваться стандартное лабораторное оборудование (пипетки, инкубаторы, колориметры), недопустимо привлечение дорогостоящего лабораторного оборудования.

Область применения микробиотестов достаточно широка, о чем свидетельствуют материалы Международного симпозиума по

использованию микробиотестов, вышедшие отдельным тематическим изданием [New microbiotests ..., 2000]. Микробиотесты, разработанные для тестирования ДО, включают тест на остракодах *Heterocypris incongruens*. Данная методика в настоящее время включена в перечень международных стандартизованных методик ISO [Water quality ... 2012].

Выбор остракод *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) в качестве тест-объекта обусловлен тем, что данный вид является эпи-

бентосным организмом, космополитически распространенным видом [Mezquita et al., 1999; Meisch, 2000; Külköylüoğlu, 2006]

Процедура тестирования занимает 2 дня, необходимых для инициации выхода молодых особей из зимних яиц, и 6 суток инкубации остракод в системе вода-ДО. Необходимое количество пробы составляет 1 г на одну повторность, критерием токсичности является выживаемость тест-объекта и ингибирование роста [Ostracodtoxkit F. Electronic resource].

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИКИ НА ОСТРАКОДАХ *HETEROCYPRIS INCONGRUENS* С ТРАДИЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Авторы методики [Chial, Persoone, 2002] провели сравнение результатов тестирования 26 проб ДО, отобранных в водотоках Фландрии (Бельгия), на остракодах *Heterocypris incongruens* и амфиподах *Hyaella azteca* [Standard test ..., 2010]. Показано, что интенсивность токсического эффекта у тест-организмов колебалась от “почти идентичной” до “существенно отличных”. Авторы отмечают интересную особенность: некоторые ДО были мало токсичными на остракодах, но очень токсичными на амфиподах.

Сравнение чувствительности амфипод *Hyaella azteca*, хирономид *Chironomus riparius* и остракод *Heterocypris incongruens* было проведено на 33 пробах ДО [Chial et al., 2003]. Большинство донных отложений было классифицировано как не токсичные (смертность < 20%) для всех трех тест-объектов. Наиболее высокая чувствительность была выявлена у *H. incongruens*.

Сравнение чувствительности *Hyaella azteca* и *Heterocypris incongruens*, проведенное De Cooman с соавторами [De Cooman et al., 2015], показало, что они имеют одинаковый потенциал для оценки степени опасности ДО.

При оценке токсичности ДО рек на терри-

тории Республики Татарстан были использованы элюатные и контактные тесты, в том числе на остракодах [Stepanova et al., 2016]. Для выявления токсикантов, способных переходить из ДО в воду, авторы проводили тестирование водных вытяжек ДО на планктонных организмах (водоросли *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] 1890 и инфузории *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1838). Для характеристики отложенных эффектов использовали хронические контактные тесты на рачках *Daphnia magna* и *Heterocypris incongruens* (табл. 2).

Наибольшей трудностью при тестировании на организмах, отличающихся малым размером (400–800 мкм), представляется их обнаружение в конце тестирования. Для оценки величины ошибки, связанной с потерями остракод, было проведено тестирование заведомо нетоксичных образцов ДО, которые применяются в качестве контроля и отличаются разным гранулометрическим составом (песок и ил). Результаты, представленные на рис. 1, демонстрируют, что обнаружение остракод не зависит от состава ДО и составляет во всех образцах более 80%, что соответствует требованиям методики.

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ НА ОСТРАКОДАХ И ДАФНИИХ (КОНТАКТНЫЙ ТЕСТ)

При сравнении результатов тестирования ДО рек Республики Татарстан в хронических контактных тестах на остракодах и дафниях (рис. 2–3) можно отметить, что выживаемость последних была несколько ниже (23% токсичных проб) по сравнению с остракодами (11%). Большую чувствительность проявили дафнии. В соответствии с сублетальным критерием – ин-

гибирование репродукции/роста – количество проб, токсичных по данному критерию, для дафний составило 83%, для остракод больше 57%. Более высокая чувствительность дафний по сравнению с остракодами может быть связана со значительно большим сроком контакта тест-организмов с ДО: 28 дней по сравнению с 6-ю днями тестирования на остракодах.

Таблица 2. Условия проведения процедуры тестирования на водорослях (*Chlorella vulgaris*), инфузориях (*Paramecium caudatum*), кладоцерах (*Daphnia magna*) и остракодах (*Heterocypris incongruens*) [Stepanova et al., 2016]

Table 2. The conditions of the testing procedures on algae (*Chlorella vulgaris*), infusorians (*Paramecium caudatum*), cladocerans (*Daphnia magna*) and ostracodaes (*Heterocypris incongruens*) [Stepanova et al., 2016]

Тест-организм Test-object	<i>Chlorella vulgaris</i> (получают из водорослевой культуры в экспоненциальной фазе роста)	<i>Paramecium caudatum</i> (получают из культуры в экспоненциальной фазе роста)	<i>Daphnia magna</i> (особи в возрасте 48 ч)	<i>Heterocypris incongruens</i> (особи в возрасте 52 ч)
Объём пробы Sample volume	50 мл экстракта	0.3 мл экстракта в ячейку микроплашки	10 мл ДО и 40 мл воды (жесткость около 100 мг/л)	1 мл ДО и 4 мл воды (жесткость около 100 мг/л)
Аэрация Aeration	нет	нет	нет	нет
Продолжительность и температура Duration and temperature	72 ч при 23°C	24 ч при 25°C в темноте	28 дней при 20°C	6 дней при 25°C в темноте
Количество организмов в начале тестирования Number of organisms at the start of the test	1·10 ⁴ кл/мл	1	1	10
Освещение Lighting	8000 lux (непрерывное)	Темнота	1000 lux (фотопериод 16:8 свет/темнота)	Темнота
Количество повторностей Number of replications	3	6	10	6
Смена воды Renewal of water	Нет	Нет	3 раза в неделю (понедельник, среда, пятница)	Нет
Кормление Feeding	Нет	Дрожжевой суспензией перед тестированием	Водорослями три раза в неделю	Водорослями в первый день тестирования
Критерии токсичности Endpoints	Размер популяции через 72 ч	Выживаемость, репродукция	Выживаемость, репродукция	Выживаемость, размер
Критерии правильности процедуры тестирования Tests acceptability	Плотность культуры должна увеличиться в контроле минимум в 16 раз, колебания pH ±1.5 единицы через 72 ч	Выживаемость в контроле 80%. Количество клеток должно увеличиться минимум в 2 раза	Выживаемость 80% в контроле, >60 экз молоди на самку в контроле	80% выживаемость, увеличение длины в контроле в 1.5 раза

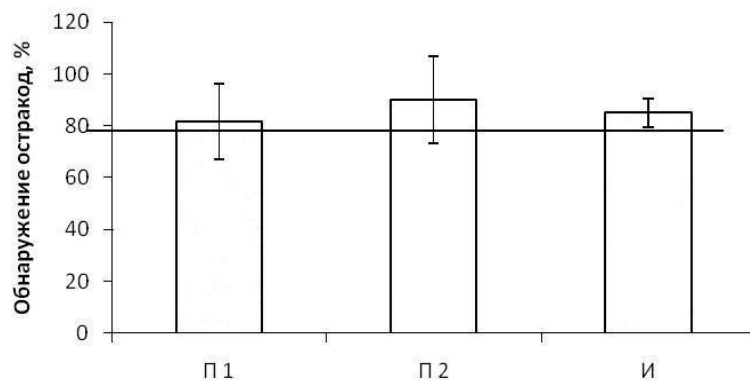


Рис. 1. Обнаружение остракод в конце тестирования на разных по гранулометрическому составу донных отложениях (П 1 – песок из р. Юшут, Республика Марий Эл; П 2 – контроль из набора микробиотеста; И – ил из р. Spring River, штат Миссури, США).

Fig. 1. Detection of ostrakods at the end of testing at different granulometric composition of the sediments (П 1– sand from Yushut River, Republic Mariy El; П 2 – control from a mikrobiotest set; И – sludge from Spring River, Missouri, United States).

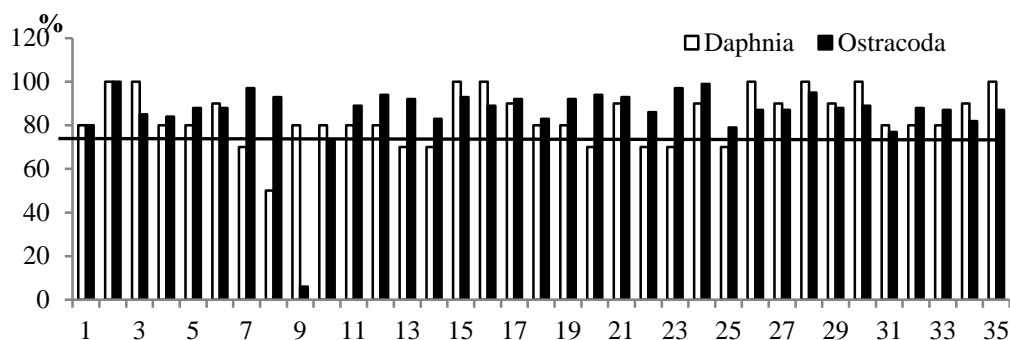


Рис. 2. Сравнение токсичности донных отложений в хроническом контактном тесте на остракодах *Heterocypris incongruens* и дафниях *Daphnia magna* по критерию “выживаемость”.

Figure 2. Comparison of toxicity of sediments in chronic whole-sediment test on ostrakods *Heterocypris incongruens* and daphnids *Daphnia magna* on the “survival” criteria.

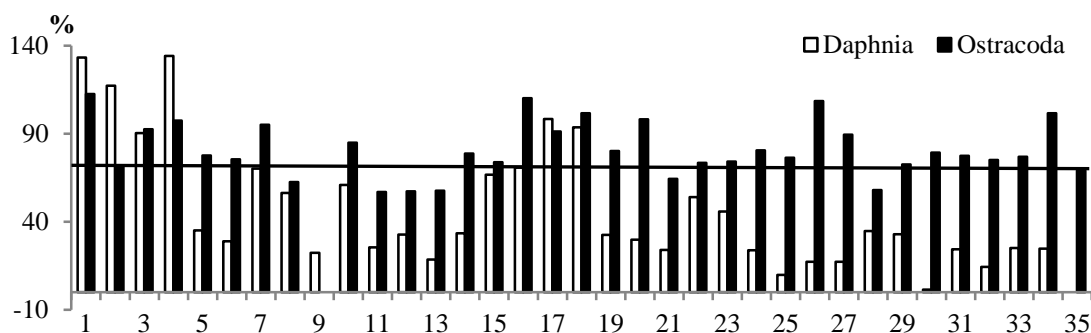


Рис. 3. Сравнение токсичности донных отложений в хроническом контактном тесте на остракодах *Heterocypris incongruens* и дафниях *Daphnia magna* по критерию “ингибирование репродукции / роста”.

Fig. 3. Comparison of toxicity of sediments in chronic whole-sediment test on ostrakods *Heterocypris incongruens* and daphnids *Daphnia magna* on “inhibition of reproduction / growth” criteria.

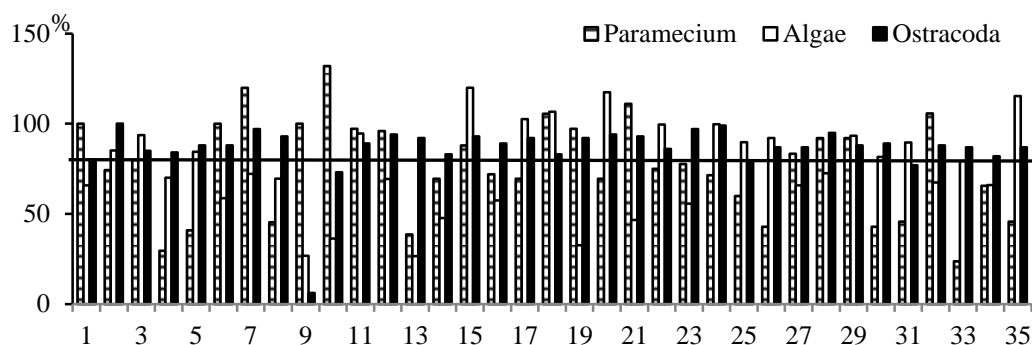


Рис. 4. Сравнение токсичности донных отложений в тесте на остракодах *Heterocypris incongruens*, инфузориях *Paramecium caudatum* и водорослях *Chlorella vulgaris* по критерию “выживаемость / ингибирование роста”.

Fig. 4. Comparison of toxicity of sediments in test on ostrakods *Heterocypris incongruens*, infusoria *Paramecium caudatum* and algae *Chlorella vulgaris* by “survival / growth inhibition” criteria.

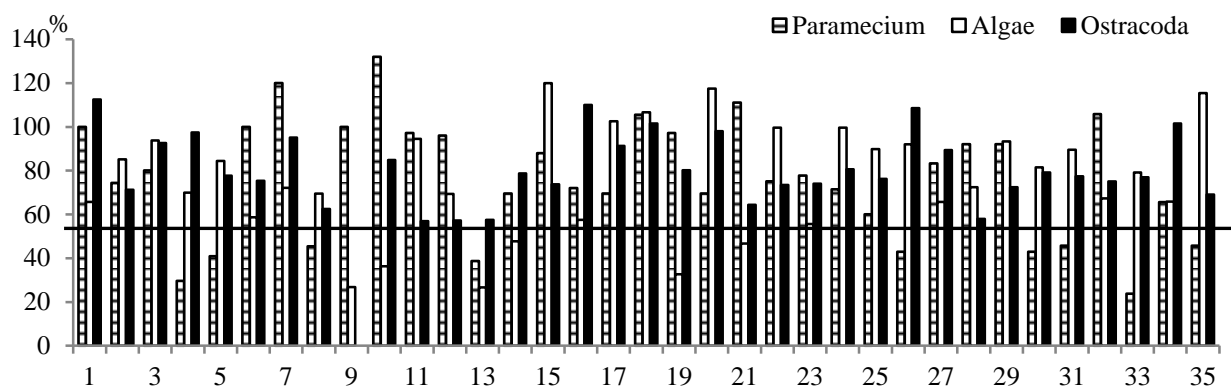


Рис. 5. Сравнение токсичности донных отложений в тесте на остракодах *Heterocypris incongruens*, инфузориях *Paramecium caudatum* и водорослях *Chlorella vulgaris* по критерию “ингибирование роста”.

Fig. 5. Comparison of toxicity of sediments in test on ostrakods *Heterocypris incongruens*, infusorians *Paramecium caudatum* and algae *Chlorella vulgaris* by “inhibition of growth” criteria.

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ НА ОСТРАКОДАХ, ВОДОРΟΣЛЯХ И ИНФУЗОРИЯХ (ЭЛЮАТНЫЙ ТЕСТ)

Одинаковый уровень токсичности (54% проб) продемонстрировали оба элюатных теста (с использованием водорослей *Chlorella vulgaris* и инфузорий *Paramecium caudatum* (рис. 4), что значительно выше токсичности на остракодах по критерию “выживаемость” (11% проб). Несколько более высокий уровень токсичности продемонстрировали остракоды по критерию “ингибирование роста”, что составило 67% проб (рис. 5).

При попытке выявить зависимость между наблюдаемой токсичностью и химическим составом донных отложений было показано отсутствие значимых коэффициентов кор-

реляции по критерию “выживаемость” как для дафний, так и остракод (табл. 3). Показана связь между содержанием металлов (Cu, Ni, Cr, Co, Pb), As, нефтепродуктов и ингибированием репродукции дафний, а также содержанием Co, Pb и ингибированием роста остракод. Показана положительная связь между ростом водорослей и содержанием нефтепродуктов. Стимулирующий эффект малых доз нефтепродуктов для развития водорослей и их роль в биоремедиации отмечается и в литературе [Loya, Rinkevich, 1980; Cao et al., 2013].

Таблица 3. Коэффициенты корреляции между токсичностью и химическим составом донных отложений (выделены значимые величины при $p < 0.05$, критерий Спирмена)

Table 3. The correlation between toxicity and chemical composition of the whole sediments (the significant values at $p < 0.05$ marked out, Spearman test)

Показатель Parameters	Дафнии Daphnids		Остракоды Ostrakods		Инфузории Infusorians	Водоросли Algae
	Выживаемость Survival	Репродукция Reproduction	Выживаемость Survival	Рост Growth		
Cu	0.00	-0.39	0.04	-0.01	-0.09	0.17
Zn	0.09	-0.32	0.01	-0.24	0.02	0.12
Ni	0.11	-0.61	-0.13	-0.15	-0.13	0.05
Cr	0.13	-0.63	-0.04	-0.23	-0.09	0.03
Cd	-0.27	0.07	-0.12	-0.21	0.21	-0.17
Al	0.14	-0.332	0.11	-0.10	-0.09	0.09
Li	0.16	-0.46	0.05	-0.20	0.15	0.03
Hg	0.21	-0.17	-0.16	-0.11	-0.31	0.28
Co	0.03	-0.64	0.01	-0.40	0.12	-0.23
As	-0.13	-0.34	-0.03	-0.22	-0.06	-0.24
Pb	-0.13	-0.48	-0.02	-0.39	-0.03	-0.07
Нефтепродукты Oil products	-0.03	-0.42	0.24	-0.14	0.06	0.34

Таблица 4. Коэффициенты корреляции между токсичностью и химическим составом водного экстракта донных отложений (выделены значимые величины при $p < 0.05$, критерий Спирмена)

Table 4. The correlation between toxicity and chemical composition of the elutriate of sediment (the significant values at $p < 0.05$ marked out, Spearman test)

Показатель Parameters	Дафнии Daphnids		Остракоды Ostrakods		Инфузории Infusorians	Водоросли Algae
	Выживаемость Survival	Репродукция Reproduction	Выживаемость Survival	Рост Growth		
Растворенный кислород Dissolved oxigen	-0.09	0.46	0.27	-0.26	0.17	0.17
Электропроводность Conductivity	-0.19	-0.40	-0.14	-0.28	-0.14	-0.05
pH	0.11	-0.37	-0.18	-0.16	0.07	-0.40
Жесткость Hardness	-0.13	-0.56	0.02	-0.52	-0.25	-0.10
Ионы аммония Ammonium ions	-0.08	-0.45	0.04	-0.54	-0.10	-0.08
Fe	-0.15	0.62	-0.03	0.19	-0.15	0.37
Mn	-0.07	0.63	-0.04	0.14	-0.09	0.29
Al	-0.19	0.45	-0.11	0.05	0.11	-0.17
Cd	-0.06	0.03	0.29	-0.20	0.05	0.07
Cr	0.04	0.06	-0.17	0.003	0.16	-0.10
Cu	-0.12	0.14	0.06	-0.30	-0.11	0.13
Ni	-0.18	-0.39	-0.22	-0.35	0.21	-0.22
Pb	0.43	-0.23	-0.09	0.20	-0.28	0.32
Zn	0.60	-0.15	-0.05	0.21	-0.22	0.11

Показано, что содержание металлов не отражается на показателях токсичности для дафний и остракод, значимые положительные коэффициенты между содержанием Fe, Mn, Al и показателями репродукции дафний косвенно свидетельствуют о сорбции токсичных метал-

лов на гидроксидах Fe, Mn и Al (табл. 4). Только для Ni показана корреляционная связь как для дафний, так и остракод ($r = 0.35-0.39$). Возможной причиной токсичности для дафний и остракод может быть поступление ионов аммония из ДО в воду ($r = 0.45-0.54$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Загрязнение донных отложений является актуальной проблемой, т.к. может представлять угрозу для биоразнообразия и стабильного функционирования водных экосистем [Di Togo et al., 1990; 1991]. Биотестирование донных отложений позволяет получить оперативную информацию о потенциальной угрозе загрязнения для организмов, населяющих водоемы, и определить реальную токсичность присутствующих в пробе химических веществ [Бакаева и др., 2009]. Выбор методики для определения токсичности следует проводить с учетом поставленных задач. При необходимости оценить угрозу вторичного загрязнения воды через выход преимущественно водорастворимых загрязняющих веществ из ДО в воду целесообразно использовать элюатные тесты, а также тесты, выявляющие отложенные хронические эффекты. Для оценки присутствия гидрофобных, персистентных соединений необходимо использовать контактные хронические тесты, выявляющие отложенные

эффекты в виде ингибирования репродукции, роста, массы. Проблему, связанную с длительным временем проведения процедуры тестирования и ее стоимостью, частично решают токсикологические методики, реализованные в виде микробиотестов. Хорошие результаты по чувствительности продемонстрировал метод с использованием остракод *Heterocypris incongruens* в сравнении с другими традиционными методиками, что дает основание для его широкого использования в токсикологическом мониторинге донных отложений.

Следует также иметь в виду, что для получения более надежной информации о степени токсикологической угрозы загрязненных донных отложений необходимо использовать батарею тестов, сочетать элюатные и контактные тесты, острые и хронические с летальными и сублетальными критериями токсичности, что позволит сделать более обоснованную оценку экологического риска.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакаева Е.Н., Никаноров А.М., Игнатова Н.А. Место биотестовых исследований донных отложений в мониторинге водных объектов // Вестник Южного научного центра РАН. 2009. Т. 5. № 2. С. 84–93. http://www.ssc-ras.ru/files/files/84-93_b.pdf.
- Баканов А.И., Гапеева М.В., Томилина И.И. Оценка качества донных отложений водохранилищ Верхней Волги с использованием элементов триадного подхода // Биология внутренних вод. 2000. № 1. С. 102–109.
- Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). М.: РЭФИА. НИА Природа, 2002. 134 с.
- Иванова И.Ю. Экологическая оценка качества донных отложений водотоков и водоемов Оренбургской области. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Оренбург, 2009. 23 с.
- Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. Токсикологические методы контроля. ПНД ФТ 14.1:2.3:4.10-04 16.1:2.3:3.7-04. М.: ФБУ “ФЦАО”, 2014. 38 с.
- Михайлова Л.В., Рыбина Г.Е., Акатьева Т.Г., Кудрявцев А.А. Углеводородная компонента экологического мониторинга г. Нового Уренгоя (триадный подход) // Перспективные информ. технологии и пробл. упр. на пороге нового тысячелетия: Мат. Междунар. экол. симпозиума, Санкт-Петербург, июнь 2000 г. СПб., 2000. С. 630–633.
- Оценка токсического загрязнения природных вод и донных отложений пресноводных экосистем методом биотестирования с использованием коловраток. Р 52.24.662-2004. СПб.: Гидрометеиздат, 2006. 60 с.
- Проведение наблюдений за токсическим загрязнением донных отложений в пресноводных экосистемах на основе биотестирования. Методические указания. РД 52.24.635-2002. СПб.: Гидрометеиздат, 2002. 30 с.
- Разработка системы природоохранного нормирования качества поверхностных вод. Отчет НИР № 32-НИОКР/2-4-2012, проект 12фцп-М2-01, этап 4. НИА “Природные ресурсы”, 2014. 197 с.
- Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М.: РЭФИА. НИА Природа, 2002. 117 с.

- Томилина И.И. Эколого-токсикологическая характеристика донных отложений водоемов Северо-Запада России. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок, 2000. 21 с.
- Chial Z.B., Persoone G. Cyst-based toxicity tests XIV – Application of the ostracod solid-phase microbiotest for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium) // *Environ. Toxicol.* 2002. № 17. Iss. 6. P. 533–537. DOI: 10.1002/tox.10087.
- Chial Z.B., Persoone G., Blaise C. Cyst-based toxicity tests XVI – sensitivity comparison of the solid phase *Heterocypris incongruens* microbiotest with the *Hyalella azteca* and *Chironomus riparius* contact assays on freshwater sediments from Peninsula Harbour (Ontario, Canada) // *Chemosphere*. 2003. № 52. Iss. 1. P. 95–101. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00186-3.
- Cao X., Xiong Yi., Lund J. The effect of micro-algae characteristics on the bioremediation rate of Deepwater Horizon crude oil // *J. Emerging Invest.* June 17. 2013. <http://www.emerginginvestigators.org/wp-content/uploads/2013/06/Cao-2013-Deepwater-Crude-Oil.pdf>.
- Chapman P.M. Sediment quality criteria from the sediment quality TRIAD: An example // *Environ. Toxicol. Chem.* 1986. № 5. P. 957–964.
- De Cooman W. De, Blaise C., Janssen C., Detemmerman L., Elst R., Persoone G. History and sensitivity comparison of two standard whole-sediment toxicity tests with crustaceans: the amphipod *Hyalella azteca* and the ostracod *Heterocypris incongruens* microbiotest // *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* 2015. № 416. p. 15. <http://www.kmae-journal.org/articles/kmae/pdf/2015/01/kmae150025.pdf>.
- De Deckere E., De Cooman W., Florus M., Devroede-Vander Linder M.P. Characterizing the sediments of Flemish Watercourses: a manual produced by TRIAD. Brussel: AMINAL-Department Water, 2000. 110 p.
- De Deckere E., De Cooman W., Leloup V., Meire P., Schmitt C., von der Ohe P.C. Development of sediment quality guidelines for freshwater ecosystems // *J. Soils. Sediments*. 2011. V. 11. Iss. 3. P. 504–517. DOI: 10.1007/s11368-010-0328-x
- Di Toro D.M., Mahony J.H., Hansen D.J., Scott K.J., Hicks M. B., Mayr S.M., Redmond M.S. Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfides // *Environ. Toxicol. Chem.* 1990. V. 9. Iss. 12. P. 1487–1502. DOI: 10.1002/etc.5620091208.
- Di Toro D.M., Zarba C.S., Hansen D.J., Berry W.J., Swartz R.C., Cowan C.E., Pavlou S.P., Allen H.E., Tomas N.A., Paquin P.R. Technical basis for establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning // *Environ. Toxicol. Chem.* 1991. V. 10. Iss. 12. P. 1541–1583. DOI: 10.1002/etc.5620101203
- Johnson B.T., Long E.R. Rapid toxicity assessment of sediments from large estuarine ecosystems: A new tandem in vitro testing approach // *Environ. Toxicol. Chem.* 1998. V. 17. Iss. 6. P. 1099–1106. DOI: 10.1002/etc.5620170616
- Külköylüoğlu O., Yılmaz F. Ecological requirements of Ostracoda (Crustacea) in three types of springs in Turkey // *Limnol.* 2006. V. 36. Iss. 3. P. 172–180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.limno.2006.03.003>.
- Loya Y., Rinkevich B. Effects of oil pollution on coral reef communities // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1980. V. 3. P. 167–180.
- Meisch C. Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe. Heidelberg. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2000. 522 p.
- Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA/600/R-99/064. Duluth (MN), Washington (DC): USEPA, 2000.
- Mezquita F., Griffiths H.I., Sanza S., Soria J.M., Pinon A. Ecology and distribution of ostracods associated with flowing waters in the Eastern Iberian // *J. Crustac. Biol.* 1999. V. 19. № 2. P. 344–354. DOI: 10.2307/1549241
- New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring. NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000. 550 p.
- Ostracodtoxkit F (freshwater sediment contact test). [Electronic resource] / MicroBioTests Inc. Kleimoer 15 9030 Mariakerke (Gent) Belgium. Microsoft Word. Access mode: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Ostracodtoxkit%20F%20SOP%20-%20A5.pdf> / Free. The title from screen. In english. 37 p.
- Persoone G. Development and First Validation of a “Stock-Culture Free” Algal Microbiotest: The Algaltoxkit. Microscale testing in aquatic toxicology. Chapter 20, Boca Raton (FL): CRC Press, 1998. P. 311–320.
- Standard test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. ASTM Standard E1706-05 // *ASTM Annual Book of Standards*. V. 11.06. West Conshohocken (PA), USA. 2010.
- Stepanova N.Yu., Latypova T.R., Novikova L.V. Comparison of toxicity of sediments from rivers with different levels of anthropogenic load (Middle Volga region, Russia) based on elutriate and whole sediment tests // *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2016. V. 158. № 3. P. 416–439.
- Stepanova N.Yu. Ecological risk assessment of the sediments by the triad approach // 14th International Multidisciplinary Scientific GeoConference, SGEM 2014. Albena, Bulgaria. 17–26 June 2014. P. 215–222.
- Van de Guchte C. The sediment quality TRIAD: an integrated approach to assess contaminated sediments. River water quality, ecological assessment and control. Brussels: ECSC–EEC–EAEC, 1992. P. 417–423.
- Water quality – Determination of fresh water sediment toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda). ISO 14371:2012. 16 p. http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=54612.

REFERENCES

- Bakaeva E.N., Nikanorov A.M., Ignatova N.A. 2009. Mesto biotestovykh issledovaniy donnykh otlozheniy v monitoringe vodnykh ob"ektov [The place of biotest researches of bottom sediments in monitoring of waters bodies] // Vestnik Yuzhnogo nauchnogo centra RAN. 2009. V. 5. № 2. P. 84–93. http://www.ssc-ras.ru/files/files/84-93_b.pdf. [In Russian]
- Bakanov A.I., Gapeeva M.V., Tomilina I.I. 2000. Ocenka kachestva donnykh otlozheniy vodohranilishch Verhney Volgi s ispol'zovaniem ehlementov triadnogo podhoda [Assessment of bottom sediments quality in reservoirs of the upper volga on the basis of sediment quality triad] // Biologiya vnutrennih vod. № 1. P. 102–109. [In Russian]
- Chial Z.B., Persoone G. 2002. Cyst-based toxicity tests XIV – Application of the ostracod solid-phase microbiotest for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium) // Environ. Toxicol. № 17. Iss. 6. P. 533–537. DOI: 10.1002/tox.10087.
- Chial Z.B., Persoone G., Blaise C. 2003. Cyst-based toxicity tests XVI – sensitivity comparison of the solid phase *Heterocypris incongruens* microbiotest with the *Hyalella azteca* and *Chironomus riparius* contact assays on freshwater sediments from Peninsula Harbour (Ontario, Canada) // Chemosphere. № 52. Iss. 1. P. 95–101. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00186-3.
- Cao X., Xiong Yi., Lund J. 2013. The effect of micro-algae characteristics on the bioremediation rate of Deepwater Horizon crude oil // J. Emerging Invest. June 17. <http://www.emerginginvestigators.org/wp-content/uploads/2013/06/Cao-2013-Deepwater-Crude-Oil.pdf>.
- Chapman P.M. 1986. Sediment quality criteria from the sediment quality TRIAD: An example // Environ. Toxicol. Chem. № 5. P. 957–964.
- De Cooman W., Blaise C., Janssen C., Detemmerman L., Elst R., Persoone G. 2015. History and sensitivity comparison of two standard whole-sediment toxicity tests with crustaceans: the amphipod *Hyalella azteca* and the ostracod *Heterocypris incongruens* microbiotest // Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst. № 416. p. 15. <http://www.kmae-journal.org/articles/kmae/pdf/2015/01/kmae150025.pdf>.
- De Deckere E., De Cooman W., Leloup V., Meire P., Schmitt C., von der Ohe P.C. 2011. Development of sediment quality guidelines for freshwater ecosystems // J. Soils. Sediments. V. 11. Iss. 3. P. 504–517. DOI: 10.1007/s11368-010-0328-x.
- De Deckere E., De Cooman W., Florus M., Devroede-Vander Linder M.P. 2000. Characterizing the sediments of Flemish Watercourses: a manual produced by TRIAD. Brussel: AMINAL-Department Water. 110 p.
- Di Toro D.M., Mahony J.H., Hansen D.J., Scott K.J., Hicks M.B., Mayr S.M., Redmond M.S. 1990. Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfides // Environ. Toxicol. Chem. V. 9. Iss. 12. P. 1487–1502. DOI: 10.1002/etc.5620091208.
- Di Toro D.M., Zarba C.S., Hansen D.J., Berry W.J., Swartz R.C., Cowan C.E., Pavlou S.P., Allen H.E., Tomas N.A., Paquin P.R. 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning // Environ. Toxicol. Chem. V. 10. Iss. 12. P. 1541–1583. DOI: 10.1002/etc.5620101203.
- Ivanova I.Yu. 2009. Ecologicheskaya ocenka kachestva donnykh otlozheniy vodotokov i vodoemov Orenburgskoy oblasti. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Ecological assessment of sediments of watercourses and water bodies of Orenburg region]. Orenburg, 23s. [In Russian]
- Johnson B.T., Long E.R. 1998. Rapid toxicity assessment of sediments from large estuarine ecosystems: A new tandem in vitro testing approach // Environ. Toxicol. Chem. V. 17. Iss. 6. P. 1099–1106. DOI: 10.1002/etc.5620170616.
- Külköylüoğlu O., Yılmaz F. 2006. Ecological requirements of Ostracoda (Crustacea) in three types of springs in Turkey // Limnol. V. 36. Iss. 3. P. 172–180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.limno.2006.03.003>.
- Loya Y., Rinkevich B. 1980. Effects of oil pollution on coral reef communities. // Mar. Ecol. Prog. Ser. V. 3. P. 167–180.
- Meisch C. 2000. Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe. Heidelberg. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag. 522 p.
- Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA/600/R-99/064. 2000. Duluth (MN), Washington (DC): USEPA.
- Metodika izmereniy opticheskoy plotnosti kul'tury vodorosli *Chlorella vulgaris* Beijer) dlya opredeleniya toxicnosti pit'evykh, presnykh prirodnykh i stochnykh vod, vodnykh vytyazhek iz gruntov, pochv, osadkov stochnykh vod, othodov proizvodstva i potrebleniya. Toxicologicheskie metody kontrolya. PND F T 14.1:2:3:4.10–04 16.1:2.3:3.7–04. 2014. [Method of measuring of optical density of algae culture (*Chlorella vulgaris* Beijer) for determination of toxicity of drinking, fresh water and waste water, water elutriate of sediments, soil, wastes of effluents, wastes of industry and domestic consumption. Toxicological methods of control. PND F T 14.1:2:3:4.10–04 16.1:2.3:3.7–04.] M.: FBU "FCAO", 38 s. [In Russian]
- Mezquita F., Griffiths H.I., Sanza S., Soria J.M., Pinon A. 1999. Ecology and distribution of ostracods associated with flowing waters in the Eastern Iberian // J. Crustac. Biol. V. 19. № 2. P. 344–354. DOI: 10.2307/1549241
- Mihajlova L.V., Rybina G.E., Akat'eva T.G., Kudryavcev A.A. 2000. Uglevodorodnaya komponenta ekologicheskogo monitoringa g. Novogo Urengoya (triadnyy podhod) [Hydrocarbon component in monitoring of Novy Urengoy town (approach of triad)] // Perspektivnye inform. tekhnologii i probl. upr. na poroge novogo tysyacheletiya: Mat. Mezhdunarodn. ecol. simpoziuma, Sankt-Peterburg, June 2000. S.-Pb. P. 630–633. [In Russian]

New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring. 2000. NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 550 p.

Ocenka toksicheskogo zagryazneniya prirodnih vod i donnyh otlozhenij presnovodnyh ehkositsem metodami biotestirovaniya s ispol'zovaniem kolovratok. R 52.24.662-2004. 2006. [Guidance document. Evaluation of the toxic pollution of natural waters and sediments of freshwater ecosystems bioassay methods using rotifers R 52.24.662-2004]. S.-Pb. Gidrometeoizdat, 60 s. [In Russian].

Ostracodtoxkit F (freshwater sediment contact test). [Electronic resource] / MicroBioTests Inc. Kleimoer 15 9030 Mariakerke (Gent) Belgium. Microsoft Word. Access mode: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Ostracodtoxkit%20F%20SOP%20-%20A5.pdf> / Free. The title from screen. In english. 37 p.

Persoone G. 1998. Development and First Validation of a "Stock-Culture Free" Algal Microbiotest: The Algaltoxkit. Microscale testing in aquatic toxicology. Chapter 20. Boca Raton (FL): CRC Press. P. 311–320.

Provedenie nablyudenij za toxicheskim zagryazneniem donnyh otlozhenij v presnovodnyh ekosistemah na osnove biotestirovaniya. Metodicheskie ukazazaniya. RD 52.24.635-2002. 2002. [Carrying out observations of toxic pollution of sediments in fresh-water ecosystems on the base of biotesting. Methodical instructions. RD 52.24.635-2002]. S.-Pb.: Gidrometeoizdat. 30 s. [In Russian]

Razrabotka sistemy prirodoohrannogo normirovaniya kachestva poverhnostnyh vod. 2014. [Development of system of nature protection rationing of surface water quality]. Otchet NIR № 32-NIOKR/2-4-2012, proekt 12fcp-M2-01, etap. 4. MPR RF. NIA "Prirodnye resursy". 197 s. [In Russian]

Rukovodstvo po opredeleniyu metodom biotestirovaniya toksichnosti vod, donnyh otlozhenij, zagryaznyayushchih veshchestv i burovyh rastvorov. 2002. [Guidance of bioassay for toxicity determination of waters, sediments, contaminated substances and drilling mud]. M.: REHFIA. NIA Priroda. 117 s. [In Russian]

Standard test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. ASTM Standard E1706-05. 2010 // ASTM Annual Book of Standards. V. 11.06. West Conshohocken (PA), USA.

Stepanova N.Yu. 2014. Ecological risk assessment of the sediments by the triad approach // 14th International Multidisciplinary Scientific GeoConference, SGEM 2014. Albena, Bulgaria. 17–26 June 2014. P. 215–222.

Stepanova N.Yu., Latypova T.R., Novikova L.V. 2016. Comparison of toxicity of sediments from rivers with different levels of anthropogenic load (Middle Volga region, Russia) based on elutriate and whole sediment tests // Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki. V. 158. № 3. P. 416–439.

Tomilina I.I. 2000. Ehkologo-toksikologicheskaya harakteristika donnyh otlozhenij vodoemov Severo-Zapada Rossii. [Ecological and toxicological features of sediments of water bodies of North-West of Russia]. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Borok, 21 s. [In Russian]

Van de Guchte C. 1992. The sediment quality TRIAD: an integrated approach to assess contaminated sediments. River water quality, ecological assessment and control. Brussels: ECSC–EEC–EAEC. P. 417–423.

Vremennoe metodicheskoe rukovodstvo po normirovaniyu urovnej sodержaniya himicheskikh veshchestv v donnyh otlozheniyah poverhnostnyh vodnyh ob"ektov (na primere nefti). 2002. [Temporary methodological guidance for the valuation of levels of chemicals in sediments of surface water bodies (on example of oil)]. M.: REHFIA. NIA Priroda. 134 p. [In Russian]

Water quality – Determination of fresh water sediment toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda). ISO 14371:2012. 24 p. http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=54612.

APPLICATION OF OSTRACODS IN TOXICITY ASSESSMENT OF SEDIMENTS

N. Y. Stepanova

Kazan federal university

420008 Kazan, Kremlevskaya str., 18, e-mail: nstepanova.kazan96@gmail.com

Methods of sediment bioassay are discussed; list and specific features of widespread methods are given. Possibility of application of alternative methods such as microbiotests are discussed on example of sediment bioassay with ostracod *Heterocypris incongruens*. Comparison of ostracods bioassay with elutriate tests with algae *Chlorella vulgaris*, ciliate *Paramecium caudatum* and whole sediment test with *Daphnia magna* are given. Test with ostracods demonstrates comparable sensitivity based on sublethal criteria of toxicity.

Keywords: sediments, bioassay, *Heterocypris incongruens*, *Chlorella vulgaris*, *Paramecium caudatum*, *Daphnia magna*

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ И МЕТАЛЛОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

И. И. Томилина¹, В. А. Гремячих¹, Л. П. Гребенюк¹, Е. И. Головкина¹, Т. Р. Клевлеева²

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: i_tomilina@mail.ru

²Казанский (Приволжский) Федеральный университет,
420111 г. Казань, Кремлевская, 18

Исследовано действие металлических (золото, серебро) и металлоксидных (цинк, титан) наночастиц на гидробионтов различной систематической принадлежности (ветвистоусых рачков цериодафний, личинок двукрылых насекомых хирономид и икромечущей аквариумной рыбки данио) в условиях хронического эксперимента. Наиболее чувствительный тест-объект – цериодафнии, показатель – плодовитость рачков.

Ключевые слова: наночастицы, металлы, токсичность, гидробионты.

ВВЕДЕНИЕ

Количество промышленно производимых наноматериалов ежегодно увеличивается. К приоритетным наночастицам (НЧ) относятся фуллерены, одно- и многослойные нанотрубки, НЧ серебра, золота, железа, оксида титана, оксида алюминия, оксида церия, диоксида кремния, оксида цинка, дендримеры и наноглины [Об утверждении концепции ..., 2007 (Ob utverzhdenii koncepcii ..., 2007)]. По комплексу физических, химических и биологических свойств НЧ, наноматериалы и технологии их производства кардинально отличаются от веществ в форме макроскопических дисперсий и сплошных фаз [Каркищенко, 2009 (Karkishenko, 2009); Онищенко и др., 2007 (Onishenko et al., 2007)]. К наиболее изученным относятся фуллерены, оксиды цинка и титана. Однако, для абсолютного большинства наноматериалов не известны механизмы их поступления в живой организм, биосовместимости, биотрансформации, транслокации в органах и тканях, элиминации и, что особенно важно, их токсичности [Blaise et al., 2008].

На сегодняшний день крайне сложно определить нормативы использования наноматериалов, а накопленный опыт показывает, что каждое вещество необходимо изучать индиви-

дуально с учетом его размера, формы, структуры поверхности, агрегатного состояния, химического состава, растворимости и целого ряда других факторов. Экоотоксикологические эксперименты проводили лишь с некоторыми типами НЧ на отдельных видах животных (дафнии, рыбы, мыши, крысы) и растений (кукуруза, соя, капуста, морковь) [Krysanov et al., 2010; Моргалев и др., 2010 (Morgalev et al., 2010)]. Поэтому данные по воздействию НЧ на экосистемы и человека ограничены [Проданчук, Балан, 2011 (Prodanchuk, Balan, 2010); Хамидулина, Давыдова, 2011 (Hamidulina, Davydova, 2011)]. Наноматериалы, обладающие иными физико-химическими свойствами и биологическим действием по сравнению с традиционными аналогами, следует отнести к новым видам материалов и продукции, характеристика потенциального риска которых для благополучия экосистем и человека является обязательной.

Цель работы – оценить токсическое и тератогенное действие металлических (Au, Ag) и металлоксидных (ZnO, TiO₂) наночастиц на гидробионтов различной систематической принадлежности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Токсическое и тератогенное действия различных НЧ исследовали на тест-объектах, широко распространенных в экоотоксикологической практике: ветвистоусых рачках цериодафниях (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1862), личинках комара-звонца (*Chironomus riparius* Meigen, 1804) и икромечущей аквариумной рыбки (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822).

В качестве токсикантов использовали

коллоидные растворы серебра и золота, суспензии НЧ диоксида титана в различных кристаллических изоформах (анатаз и рутил) и оксида цинка, полученные методом диспергирования в отстоянной артезианской воде на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т в режиме 0.5 А, 44 кГц непосредственно перед опытом.

Характеристика НЧ и диапазон исследованных концентраций для различных тест-

объектов приведены в табл. 1.

НЧ серебра, золота и оксида цинка исследовали на электронном трансмиссионном микроскопе JEM 1011 с использованием сеточек, покрытых слоем формвара [Tomilina et al., 2011]. Микроструктуру изомеров диоксида титана изучали на растровом электронном микроскопе с термополевой эмиссией Supra 50VP (“Carl Zeiss”, Германия) с использованием детекторов вторичных электронов SE2 и InLense при ускоряющем напряжении от 5 до 20 кэВ [Tomilina et al., 2015].

У цериодафний определяли выживаемость, среднюю продолжительность жизни и индивидуальную плодовитость животных: суммарную плодовитость (общее количество молоди, отрожденное одной самкой в течение всей жизни) и интенсивность размножения рачков (суммарная плодовитость по отношению к продолжительности жизни) [Mount, Norberg, 1984; Tomilina et al., 2011]. Основные регистрируемые показатели влияния НЧ металлов на личинок комара *Chironomus riparius* – смертность животных, изменение линейных размеров после 20-суточной экспозиции, морфологические деформации структур

ротового аппарата [Warwick, 1985; Ingersoll, Nelson, 1990]. Деформации просматривали на цифровом микроскопе KEYENCE VHX-1000, объектив VH-Z250R. У *D. rerio* регистрировали смертность эмбрионов, продолжительность эмбрионального развития, % выклева свободных предличинки, их выживаемость после выклева и отклонения в эмбриональном развитии [Zhu et al., 2008].

Все эксперименты проводили в двух повторностях. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру воды – $24 \pm 2^\circ\text{C}$, pH 7.5–8.0, растворенный кислород – на уровне насыщения. Контрольные группы тест-животных содержали в отстоянной водопроводной воде.

Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости $p = 0.05$ [Sokal, Rohlf, 1995]. Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm \text{SE}$). В таблицах средние значения исследованных показателей приведены с ошибками среднего, на рисунке – с доверительными интервалами.

Таблица 1. Характеристика исследованных наночастиц

Table 1. Characterization of the studied nanoparticles (NPs)

Наночастицы NPs	Форма наночастиц Configuration of NPs	Размеры, нм Size, nm	Диапазон исследованных концентраций, мг/л The range of the investigated concentrations, mg/l
Ag	сферическая, эллипсоидальная или неправильная	5–85	0.005–0.0000002
Au	сферическая	5–6	0.0001–1.0
TiO ₂ (анатаз)	близкая к сферической	25–50	0.02–200
TiO ₂ (рутил)	палочки или стержни	10–350	0.02–400
ZnO	шестиугольная, булавообразная, веретенообразная и цилиндрическая	15–350	0.02–200

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Большая часть НЧ серебра имела сферическую или эллипсоидальную форму, отдельные частицы наиболее крупных размеров – неправильную. Длина или диаметр НЧ варьировали от 4.2 до 103.3 нм (рис. 1а). НЧ золота имели сферическую форму с размером частиц 5–6 нм (рис. 1б). Диоксид титана был представлен кристаллическими модификациями анатаза и рутила. НЧ анатаза образовывали агрегаты размером до 50 нм (рис. 1в). Рутил был представлен наносферами диаметром 150–300 нм, состоящими из стержней, размеры которых варьировали от 20 до 100 нм (рис. 1г).

Форма НЧ ZnO отличалась большим разнообразием: встречались частицы шестиугольной, булавообразной, веретенообразной и цилиндрической формы, длина или диаметр которых варьировали от 15 до 350 нм (рис. 1д, е). Для всех частиц при попадании в водную среду отмечено образование конгломератов с максимальным размером до 350 нм.

В разных сериях опытов средняя продолжительность жизни цериодафний варьировала от 16 до 53 суток, что составляло 57–116% контроля (табл. 2).

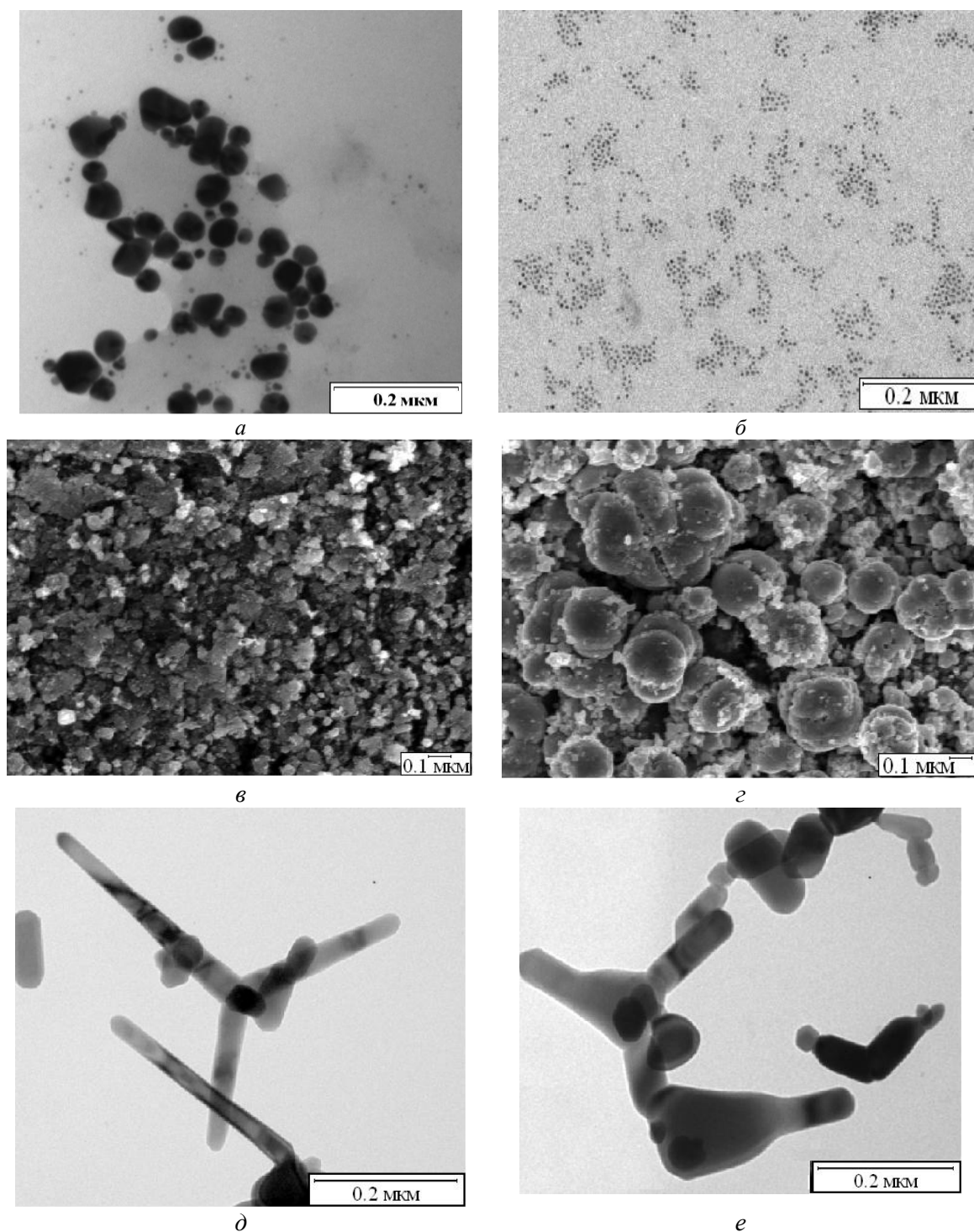


Рис. 1. Наночастицы серебра (а), золота (б), диоксида титана (модификация анатаз (в), рутил (г)), оксида цинка (д–е).

Fig. 1. Nanoparticles silver (a), gold (б), titanium dioxide (anatase modification (в), rutile (г)), zinc oxide (д–е).

Наименьшая продолжительность жизни рачков зарегистрирована при экспонировании в 0.01 мг/л суспензии оксида цинка и 2 мг/л TiO_2 (рутил). Повышенная продолжительность жизни (134% контроля) отмечена в 2×10^{-6} мг/л НЧ серебра. В среднем по выборкам (без учета концентрации веществ) продолжительность жизни при действии изученных частиц была

ниже контрольных значений, для металлооксидных эта разница – статистически достоверна (рис. 2а).

Средняя суммарная плодовитость во всех сериях опытов не достигала контрольных значений, при действии НЧ ZnO в концентрации 0.01 мг/л была самой низкой и составляла 25% от контроля (табл.2).

Таблица 2. Изменение биологических показателей цериодафний при действии наночастиц

Table 2. The changes of the biological parameters of *Ceriodaphnia* under the impact of NPs

Наночастицы NPs	Концентрация, мг/л Concentration, mg/l	Показатели жизнедеятельности рачков, % контроля Life indicators of the crustaceans, % control		
		продолжительность жизни life period	суммарная пло- довитость total fertility	интенсивность размножения intensity of reproduction
Ag	2×10^{-6}	134.4 ± 19.1	61.3 ± 8.7	59.9 ± 4.8
	1×10^{-5}	118.3 ± 12.9	53.9 ± 5.9	56.2 ± 4.4
	5×10^{-5}	73.0 ± 15.9	33.3 ± 7.3	32.0 ± 5.8
Au	0.001	91.6 ± 10.5	55.6 ± 8.4	65.7 ± 12.7
	0.01	116.0 ± 32.9	72.1 ± 6.1	67.9 ± 5.2
	0.1	94.0 ± 9.1	71.3 ± 7.8	84.0 ± 8.9
TiO ₂ (анатаз)	0.002	78.8 ± 6.8	51.1 ± 7.5	60.6 ± 6.5
	0.02	88.5 ± 7.0	80.6 ± 11.1	88.6 ± 12.0
	0.2	71.8 ± 8.5	55.1 ± 7.8	81.7 ± 11.8
TiO ₂ (рутил)	2.0	78.5 ± 7.6	74.8 ± 9.6	90.3 ± 10.6
	0.002	98.2 ± 5.0	99.2 ± 7.2	107.3 ± 9.0
	0.02	86.8 ± 9.3	90.4 ± 11.4	102.3 ± 7.2
ZnO	0.2	71.2 ± 6.6	69.8 ± 8.9	95.1 ± 10.4
	2.0	68.4 ± 6.4	77.6 ± 11.5	97.9 ± 12.3
	0.001	85.4 ± 15.2	76.6 ± 14.0	102.0 ± 17.8
	0.005	82.8 ± 13.9	35.0 ± 7.3	86.5 ± 18.4
	0.01	57.0 ± 10.8	25.5 ± 7.3	151.0 ± 18.8

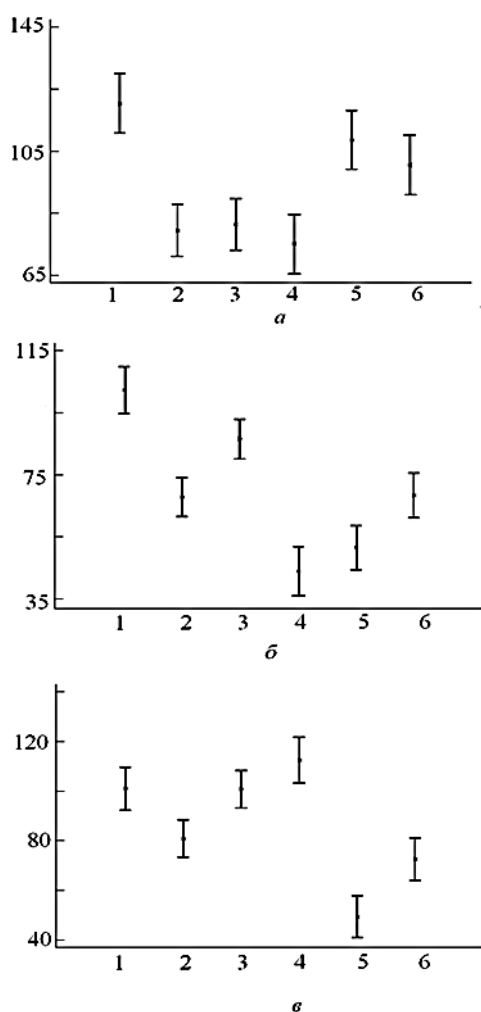


Рис. 2. Влияние сублетальных концентраций наночастиц металлов на среднюю продолжительность жизненного цикла (а), суммарную плодовитость (б) и интенсивность размножения (в) цериодафний.

По оси ординат – % контроля, по оси абсцисс – 1 – контроль, 2 – диоксид титана (анатаз), 3 – диоксид титана (рутил), 4 – оксид цинка, 5 – золото, 6 – серебро.

Fig. 2. The effect of sublethal concentrations of metal NPs on the average duration of the life cycle (a), the total fecundity (б) and intensity of reproduction (в) *Ceriodaphnia affinis*
y-axis – % control, x-axis – 1 – control, 2 – titanium dioxide (anatase), 3 – titanium dioxide (rutile), 4 – zinc oxide, 5 – gold, 6 – silver.

Таблица 3. Морфологические показатели личинок *Chironomus riparius* при действии наночастиц

Table 3. Morphological parameters of larvae of *Chironomus riparius* under the impact of NPs

Наночастицы NPs	Концентрация, мг/л Concentration, mg/l	Доля личинок с морфологическими деформациями, % Share of larvae with morphological de- formations, %	Соотношение деформированных структур ротового аппарата, % Proportion of deformed structures, %			Доля личинок IV возраста, % Share of larvae IV age, %
			ментум, мандибулы mentum, mandibles	комплекс верхней гу- бы complex of the upper labium	антенны antennae	
Ag	0.000002	23.8	38.5	15.4	46.2	23.5
	0.00002	60.0	26.1	21.7	52.2	90.0
	0.00005	50.0	26.3	31.6	42.1	100.0
Au	1.0	18.8	10.7	39.3	50.0	100.0
	10.0	35.9	22.8	27.8	49.4	86.4
	100.0	38.6	34.9	25.8	39.4	58.6
TiO ₂ (анатаз)	0.00002	42.9	8.4	25.3	66.4	47.6
	0.0002	32.1	11.8	26.6	61.6	25.8
	0.002	72.7	5.3	15.8	78.9	27.3
	0.02	46.0	16.7	23.1	60.2	58.7
	0.2	36.3	10.6	17.4	72.1	44.7
	2.0	41.9	15.5	24.8	59.8	26.3
	0.002	40.9	11.6	21.3	67.1	31.6
TiO ₂ (рутил)	0.02	43.3	11.1	13.9	75.0	42.0
	0.2	33.8	13.6	23.2	63.3	20.6
	2.0	35.9	17.4	24.6	58.0	45.9
	0.2	25.6	16.8	23.4	61.5	81.6
ZnO	2.0	20.1	23.5	23.8	52.8	42.6
	10.0	40.6	42.7	15.0	48.1	32.7
	20.0	28.7	19.0	30.4	50.7	40.1
Контроль Control		8.7	12.1	30.1	57.9	70

Данный показатель пропорционален средней продолжительности жизни рачков, за исключением особей, экспонированных в растворах НЧ золота, у которых при сохранении нормальной продолжительности жизни, плодовитость была снижена на 30–50% по сравнению с контролем, вследствие уменьшения количества молоди в помете. Коэффициенты корреляции между средней суммарной плодовитостью и средней продолжительностью жизни составили: в анатазе – 0.62, рутиле – 0.73, цинке – 0.91, серебре – 1.0, золоте – 0.56 при $p = 0.0000$. При экспонировании цериодафний в НЧ оксида цинка (без учета концентраций) зафиксированы самые низкие показатели продолжительности жизни и средней суммарной плодовитости и, соответственно, самые высокие – интенсивности размножения (рис. 2 а-в). Средняя продолжительность жизни (для рутила $r = -0.25$, $p = 0.02$, цинка $r = -0.26$, $p = 0.02$; анатаза $r = -0.40$, $p = 0.0005$) и плодовитость рачков (для цинка $r = -0.61$, $p = 0$; анатаза $r = -0.40$,

$p = 0.005$) за период экспозиции достоверно зависели от концентрации вещества.

Исследованные концентрации всех НЧ не влияли на выживаемость личинок *Chironomus riparius*. Отмечено достоверное уменьшение линейных размеров тела животных для оксида титана (исключение – анатаз в концентрации 0.2 мг/л и рутил – 2 и 0.02 мг/л), оксида цинка во всех концентрациях, НЧ серебра (исключение – 5×10^{-5} мг/л) и золота в концентрации 100 мг/л. Для НЧ серебра отмечено достоверное уменьшение размеров тела личинок в зависимости от концентрации вещества ($r = 0.65$, $p = 0.000$).

Все исследованные НЧ замедляли метаморфоз и вызывали увеличение числа особей с патоморфологическими изменениями структур ротового аппарата (табл. 3). При действии НЧ ZnO и TiO₂ в обеих кристаллических модификациях, за исключением рутила в концентрации 0.02 мг/л, более 50% популяции составляли личинки III возраста (табл. 3).

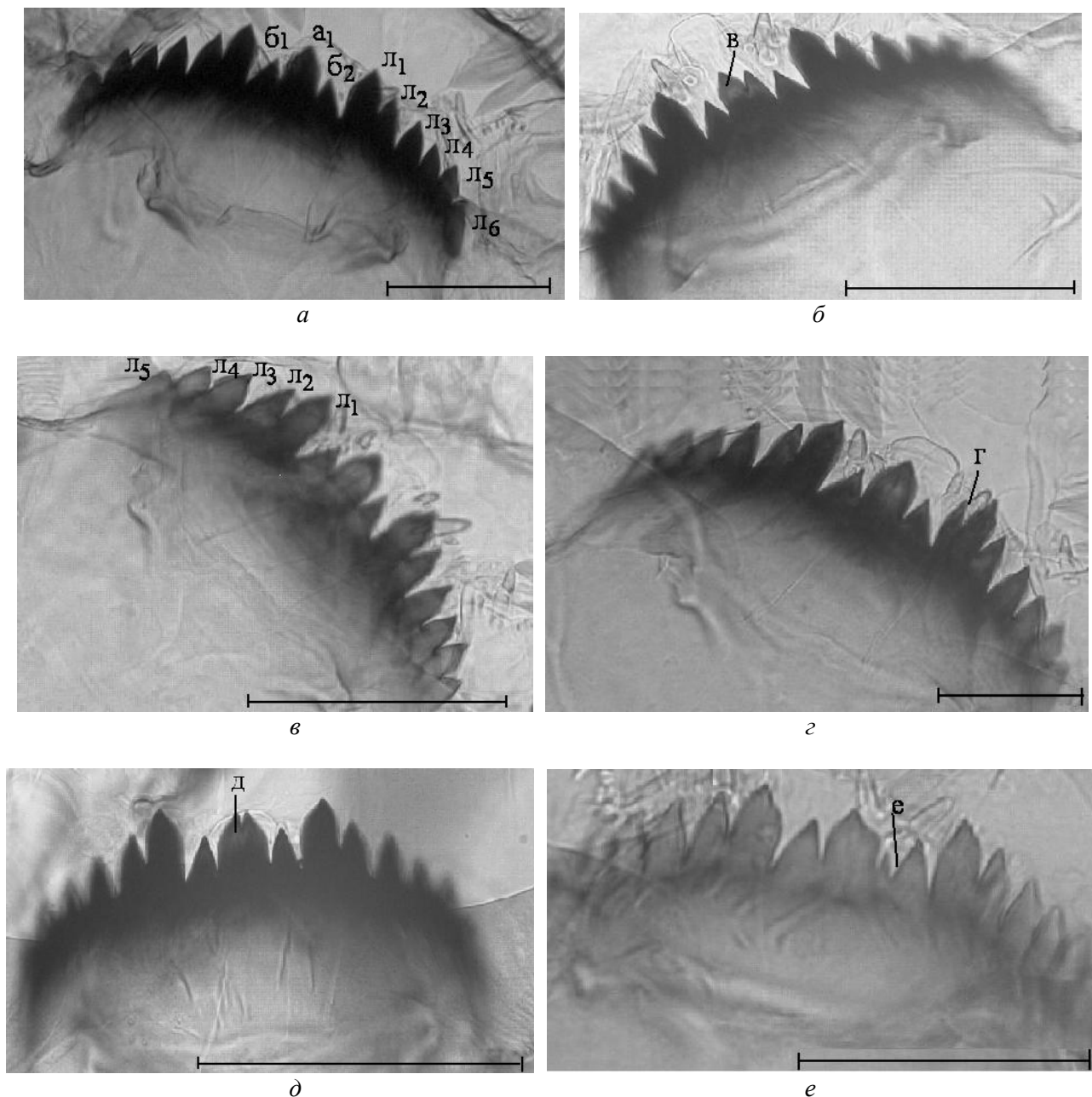


Рис. 3. Ментум личинок *Chironomus riparius*.

a – нормальное строение; *б–е* – деформированные ментумы (*б, в* – оксид цинка, 10 мг/л; *г* – оксид цинка, 2 мг/л; *д* – диоксид титана в модификации рутил, 2 мг/л; *е* – наночастицы золота, 100 мг/л); *а* – срединный трехзубчатый зубец (*а₁* – основной, *б₁, б₂* – добавочные), *л₁– л₆* – латеральные, или боковые зубцы, *в* – двухзубчатый основной зубец, *г* – двухзубчатый первый боковой зубец, *д* – раздвоение основного зубца, *е* – дополнительный зубчик между основным и добавочными зубцами. Размерная линейка здесь и на рис. 4 соответствует 1 мкм.

Fig 3. Mentum of larvae *Chironomus riparius*.

a – normal structure; *b–e* – deformed mentum (*b, в* – zinc oxide, 10 mg/l; *г* – zinc oxide, 2 mg/l; *д* – titanium dioxide in the rutile modification, 2 mg/l; *е* – gold nanoparticles, 100 mg/l); *a* – median tridentate tooth (*a₁* – basic, *б₁, б₂* – additional), *л₁– л₆* – lateral teeth, *в* – double-toothed main tooth, *г* – double-toothed first side of the tooth, *д* – split of the main tooth, *е* – additional denticle between the main and additional teeth. Size range here and in Fig. 4 corresponds to 1 μm.

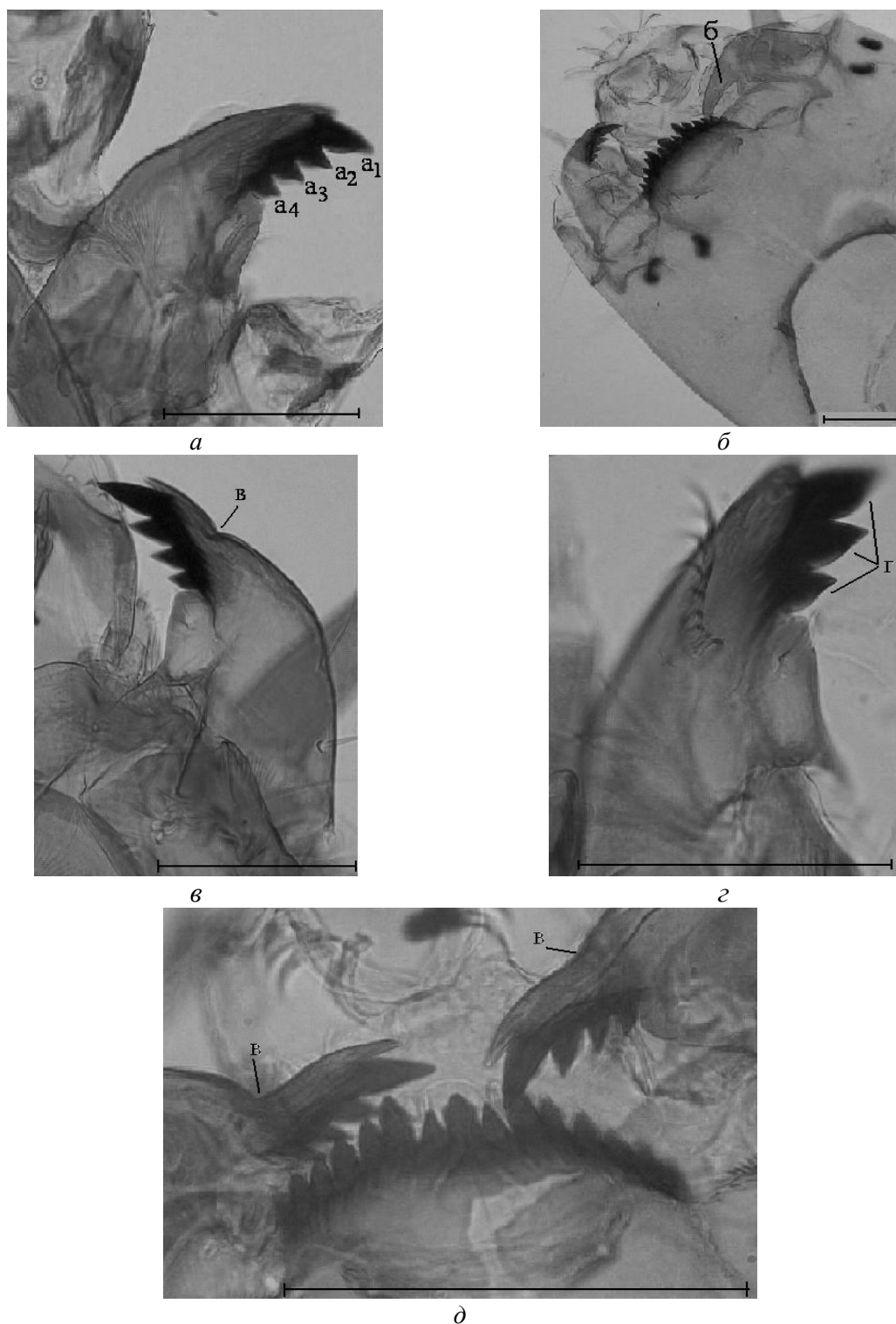


Рис 4. Мандибулы личинок *Chironomus riparius*.

a – нормальное строение; *б–д* – деформированные мандибулы (*б, в* – диоксид титана, рутил, 2 мг/л; *г* – диоксид титана, анатаз, 2 мг/л; *д* – оксид цинка, 20 мг/л); *a₁–a₄* – нижние, или наружные пигментированные зубцы, *б* – полная трансформация мандибулы, *в* – прогиб дорсальной части мандибул, *г* – сокращение числа пигментированных зубцов до 3-х.

Fig. 4. Mandibles of larvae of *Chironomus riparius*.

a – normal structure, *б–д* – deformed mandibles (*б, в* – titanium dioxide, rutile, 2 mg/l; *г* – titanium dioxide, anatase, 2 mg/l; *д* – zinc oxide, 20 mg/l); *a₁–a₄* – lower, or outer pigmented teeth, *б* – a complete transformation of the mandibles, *в* – a deflection of the dorsal part of mandibles, *г* – reducing the number of pigmented teeth to 3.

Таблица 4. Влияние наночастиц на эмбриональное развитие и выклев личинок *Danio rerio*

Table 4. The influence of nanoparticles on embryonic development and hatching of larvae of *Danio rerio*

Наночастицы NPs	Концентрация, мг/л Concentration, mg/l	Показатели, % контроля Parameters, % control	
		продолжительность эм- брионального развития duration of embryonic de- velopment	время выклева 80 % личинок time of hatching
Au	0.1	144.4	111.9
	1.0	100.0	101.8
	10.0	111.0	102.8
	100.0	111.0	103.2
TiO ₂ (анатаз)	20.0	100.0	97.5
	50.0	98.6	138.6
	100.0	98.6	137.4
	200.0	98.6	112.5
TiO ₂ (рутил)	400.0	50.7	90.4
	20.0	100.0	95.7
	50.0	93.9	89.7
	100.0	93.9	91.0
ZnO	200.0	142.9	122.1
	400.0	95.9	94.4
	0.001	150.0	168.1
	0.005	100.0	145.3
	0.01	100.0	155.9
	0.2	100.0	117.0

Доля деформированных личинок возрастала во всех экспериментальных группах животных.

Характер деформаций ротового аппарата зависел от состава экспериментальной среды. Антенны составляли основную часть деформированных структур ротового аппарата личинок хирономид. Деформации ментума, индуцированные воздействием металлических НЧ, были представлены двумя вариантами – срединные, когда аномалии присутствуют в строении срединного зубца (рис. 3б, д, е) и латеральные, затрагивающие только боковые зубцы ментума (рис. 3в). Встречались следующие аномалии в строении срединного зубца: раздвоение основного зубца (рис. 3д), хорошо выраженная двухзубчатая структура зубца (рис. 3б), дополнительный зубчик в трехзубчатом основном зубце (рис. 3е). Отмечены случаи уменьшения числа латеральных зубцов (рис. 3в).

Наиболее часто встречаемая деформация мандибул – прогиб их дорзальной части различной степени тяжести (рис. 4в, д). Выявлены случаи уменьшения числа нижних пигментированных зубцов с сохранением нормальной

формы (рис. 4з). При экспонировании личинок хирономид в суспензии TiO₂ с концентрацией 2 мг/л отмечен редко встречаемый тип деформации: одна мандибула имеет нормальное строение, вторая – полностью депигментирована и трансформирована в уродливое образование, вытянутое в один длинный зубец (рис. 4б).

Деформации в строении структур ротового аппарата личинок хирономид при действии всех частиц имели сходный характер и проявлялись при всех экспозициях. Наибольшим тератогенным действием обладали НЧ серебра и диоксида титана в модификации анатаз. Доля личинок хирономид с патоморфологическими нарушениями без учета концентраций составила: для диоксида титана – 45.3 %, НЧ серебра – 44.6% (контроль – 8.9%).

НЧ металлов оказывали негативное влияние и на рыб *Danio rerio*. В отдельных случаях увеличивалась продолжительность эмбрионального развития, что не всегда было связано с высокими концентрациями вещества (табл. 4).

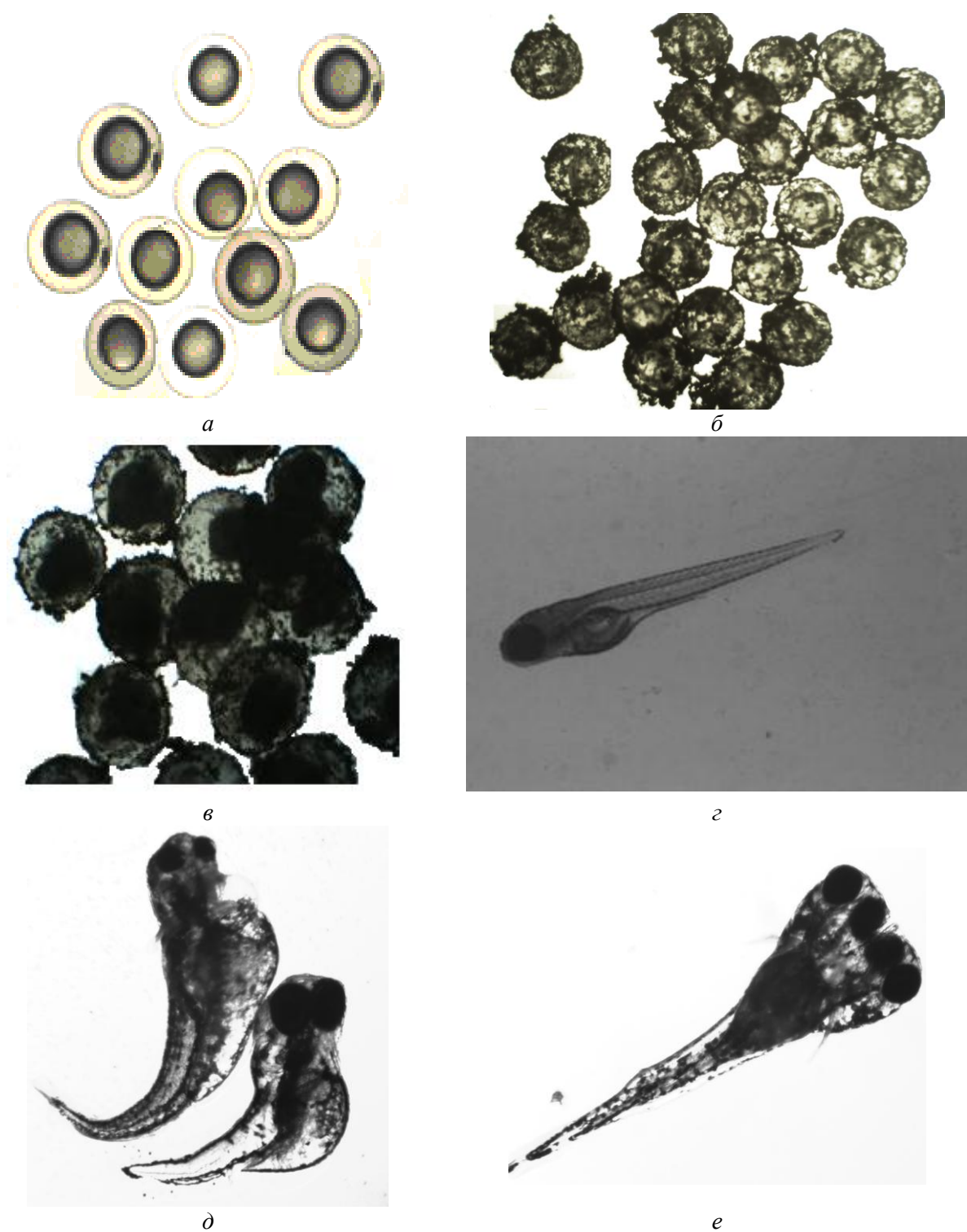


Рис. 5. Икра и предличинки *Danio rerio* при экспозиции в различных наночастицах.

a – икра, контроль, x15; *б* – икра, 50 мг/л анатаз, x15; *в* – оксид цинка 20 мг/л, x20; *г* – личинка, контроль; *д* – деформация позвоночника и желточного мешка, 1 мкг/л НЧ золота, *е* – дицефалия предличинки, 10 мг/л НЧ золота.

Fig. 5. Eggs and larvae *Danio rerio* induced by various nanoparticles.

a – eggs, control, x15; *б* – eggs, 50 mg/l anatase, x15; *в* – zinc oxide 20 mg/l, x20; *г* – larvae, control; *д* – deformation of the spine and yolk-sac, 1 µg/l gold NPs; *е* – dicephaly of larvae, 10 mg/l gold NPs.

Отмечено увеличение периода созревания предличинок на 42–50% по сравнению с контролем при экспонировании в суспензии рутила в концентрации 200 мг/л, ZnO – 0.001, HЧ золота – 0.1. Анатаз в концентрации 400 мг/л сокращал время развития предличинок на 50% по сравнению с контролем.

Время выклева 80% личинок увеличивалось при экспонировании икры во всех концентрациях HЧ оксида цинка на 17–68%. Статистически значимых корреляционных зависимостей проявления биологических эффектов действия наночастиц на эмбриональное развитие рыб от концентрации вещества не зарегистрировано.

При экспонировании икры в различных HЧ происходило их налипание на ее поверхности, степень которого зависела от концентрации и типа вещества (рис. 5б, в). Отмечены отдельные случаи возникновения деформаций, как на стадии эмбрионов, так и на стадии личинок. При действии HЧ золота наблюдали случаи деформации и укорочения позвоночни-

ка одновременно с изменениями желточного мешка (рис. 5з). В концентрации 10 мкг/л родилась жизнеспособная личинка с двумя головами (рис. 5д). В контроле аномалий развития не обнаружено.

Оценивая полученные данные с позиций чувствительности тест-объектов различной систематической принадлежности, можно сказать, что все гидробионты (ветвистоусые ракообразные, личинки насекомых и рыбы) оказались в большей или меньшей степени чувствительными к воздействию металлических и металлооксидных HЧ. Наиболее чувствительным тест-объектом были цериодафнии, т. е. организм-фильтратор, наиболее токсикорезистентным – рыбы *D. rerio*. В большей степени HЧ влияли на воспроизводство водных беспозвоночных, угнетая их плодовитость. Снижение воспроизводства потомства – главная опасность любых токсикантов, в том числе и наночастиц, т.к. это несет угрозу для продуктивности водоема и может сказаться на стабильности и состоянии водных экосистем.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время в мире производится тысячи тонн наноструктурных материалов, при этом наблюдается устойчивая тенденция к росту их производства [Баян и др., 2015 (Bayan et al., 2015)]. Наноматериалы, как правило, легче вступают в химические реакции, чем более крупные частицы того же состава, и поэтому способны образовывать комплексные соединения с ранее неизвестными свойствами. HЧ отличаются от молекул и ионов того же состава не только размерами, но и большей удельной поверхностью, высокой адсорбционной и кумулятивной способностями, увеличенным химическим потенциалом на межфазной границе, в результате чего изменяется растворимость, реакционная и каталитическая способности [Глушкова и др., 2007 (Glushkova et al., 2007)]. HЧ не подвергаются биотрансформации и не выводятся из клетки, что вызывает в клетках стресс и их разрушение [Жолдакова, Синицына, 2007 (Zholdakova, Sinicyna, 2007)]. До недавнего времени большая часть исследований токсичности HЧ и наноматериалов была сосредоточена на опасности их для здоровья человека. Токсикологическая характеристика для подавляющего числа наноматериалов либо отсутствовала, либо была представлена ограниченным числом тестов, методология и результаты которых часто взаимно

несопоставимы [Об утверждении концепции ..., 2007 (Ob utverzhdenii konsepcii ..., 2007)]. Один из первостепенных вопросов, на который необходимо получить ответ, касается биологических эффектов действия HЧ на живые организмы, являющихся представителями различных трофических уровней. После попадания в воду в составе сточных вод или из воздуха HЧ в первую очередь могут поступать в организм гидробионтов – фито-, зоопланктона, донных беспозвоночных и рыб [Гусев и др., 2011 (Gusev et al., 2011)]. Таким образом, представляется оправданным выбор использованных в работе тест-объектов, относящихся к указанным группам.

Первые исследования токсических свойств HЧ были проведены на *Daphnia magna* [Lovern, Klaper, 2006]. Биологические особенности ветвистоусых рачков делают их ценными тест-организмами для растворимых в той или иной степени HЧ, так как существует большая вероятность попадания частиц в водоемы. Известно, что из красок в процессе их эксплуатации 50% HЧ TiO₂ попадает в сточные воды, 25% – в почву и 25% – в воздух, из облицованных покрытий – 90% попадает в сточные воды и 10% – в воздух. Из косметических средств, содержащих HЧ TiO₂, 80% попадают в сточные воды и 20% – в воду водоемов [Faes,

Aerts, 2007]. Таким образом, роль беспозвоночных, может оказаться существенной в перемещении наноматериалов как в пределах водоема, так и выносе их за его пределы [Krysanov et al., 2010].

НЧ диоксида титана в концентрации 100 мг/л не оказывали токсического действия на *D. magna* за 48 час экспозиции. С ростом продолжительности воздействия токсичность НЧ возрастала и летальная концентрация (LC₅₀) за 72 часа составила 2 мг/л. При хроническом воздействии НЧ TiO₂ ингибировали рост и размножение дафний даже в концентрациях 0.5–5 мг/л [Zhu et al., 2010].

Наночастицы TiO₂, Al₂O₃, ZnO были обнаружены в желудочно-кишечном тракте *D. magna* за 48 час экспозиции рачков в суспензиях частиц [Zhu et al., 2009]. При этом происходила быстрая, в течение 12 ч, аккумуляция НЧ диоксида титана, а выведение было медленным, через 72 ч существенное количество НЧ оставалось еще в организме дафний [Zhu et al., 2010].

Экспериментально подтверждено тератогенное воздействие металлических и металлооксидных НЧ на морфологические структуры ротового аппарата личинок хирономид. Один из показателей тератогенного действия – изменение соотношения трех групп деформированных структур ротового аппарата: сильнохитинизированных (ментум, мандибулы), комплекса верхней губы и антенн. В большинстве случаев это соотношение сдвинуто в сторону антенн, так как они быстрее реагируют на неблагоприятные факторы среды [Bhattacharya et al., 2005]. Данных о влиянии различных НЧ на возникновение патоморфологических нарушений структур ротового аппарата личинок хирономид в литературных источниках не найдено. В эксперименте авторов при действии НЧ TiO₂ отмечено значительное увеличение доли деформированных антенн и высокий индекс тяжести антеннальной деформации (ISAD), что характерно также и для ионов тяжёлых металлов [Janssens de Bisthoven et al., 1998, Servia et al., 2006;]. При действии НЧ ZnO значительную часть (20–53%) аномальных ротовых элементов личинок составляли деформированные сильнохитинизированные структуры. Многочисленные деформации жестких ротовых структур личинок зарегистрированы и при действии НЧ золота (табл. 3). Несмотря на химическую инертность, НЧ золота обладают мутагенными и генотоксическими свойствами [Khlebtsov, Dykman, 2011]. Известно, что эффект проникновения НЧ через

гематоэнцефалический барьер зависит от размера, с верхней границей для частиц размером 15–20 нм. Золотые НЧ диаметром менее 10 нм, как в нашем исследовании, могут иметь потенциально более высокую токсичность за счет возможности необратимого связывания с биополимерами клеток [Kunzmann et al., 2011]. Такие физико-химические свойства самих частиц, как высокая проникающая способность, большая площадь удельной поверхности и химическая активность, позволяет им вступать в контакт с различными химическими соединениями. Образованные ими органометаллические комплексы обладают высокой биодоступностью и токсичностью и, вследствие этого, особенно опасны для гидробионтов [Stuijffzand et al., 2000]. Тем более, что органические загрязняющие вещества в большей степени влияют на морфогенез устойчивых сильнохитинизированных структур [Bleeker et al., 1999].

Причины деформаций, возникающих у личинок хирономид при действии неблагоприятных факторов, до конца не выяснены. Предположительно это могут быть мутации, вызванные повреждениями ДНК [Janssens et al., 1998]. Взаимодействие молекул на поверхности НЧ приводит к образованию свободных радикалов, т.е. нестабильных атомов и соединений, действующих как агрессивные окислители, повреждающие структуры организма, прежде всего клеточные мембраны, ДНК [Cui, Mumper, 2002]. Повреждение ДНК – наиболее существенный фактор токсического действия НЧ, так как определяет возможное проявление наноматериалами генотоксических, канцерогенных и мутагенных свойств [Trouiller et al., 2009; Shi et al., 2013]. Многочисленные тератогенные изменения структур ротового аппарата личинок *Ch. riparius* могут иметь ту же природу.

Для оценки токсичности НЧ выбрана аквариумная рыбка *Danio rerio*, которая широко используется для исследования безопасности лекарственных средств. В последние годы эта модель все чаще используется и в токсикологических исследованиях различных НЧ [Fako, Furgeson, 2009; Kovrižnych et al., 2013; Rizzo et al., 2013]. Установлено, что НЧ коллоидного золота с размером от 3 до 100 нм и в концентрации от 0.05 до 50 мг/л не оказывали токсического действия на рыб за время экспозиции 120 ч [Bar-Ilan et al., 2009]. Низкие концентрации НЧ золота (от 0.002 до 0.02 мг/л) размером от 15 до 35 нм, покрытые поливиниловым спиртом, не вызывали в течение 72 часов каких-либо токсических эффектов, включая кар-

диотоксические, а также реакцию на касание [Asharani et al., 2011]. В нашем эксперименте концентрация 100 мг/л с размером НЧ золота 6 нм не влияла на продолжительность эмбрионального развития и процент выклева предличинок (табл. 4), но вызывала случаи деформации позвоночника, желточного мешка и дисцефалии предличинки (рис. 5*d-e*). Известно, что одиночные НЧ золота могут пассивно диффундировать в хорионическое пространство эмбриона *D. rerio*. При этом количество накопленных в эмбрионе НЧ соответствует введенной концентрации. Большая часть эмбрионов *D. rerio* (74% в среднем), инкубированных в НЧ золота с размерами 0.025–1.2 нм в течение 120 часов, развились до нормы, 24% погибли и только у 2% появились деформации [Browning, Huang, 2013]. Этот результат контрастирует с результатами исследования НЧ серебра в концентрации 0.08 нМ, которая на ранних стадиях развития *D. rerio* не оказывала токсического действия на развивающийся эмбрион. При дальнейшем повышении концентрации до 0.19 нМ нормально развивающихся эмбрионов уже не было обнаружено [Lee et al., 2007]. Были выявлены следующие нарушения в развитии рыб: дефект плавников, искривление хвоста, отеки в области сердца, головы и желточного мешка, а также нарушения в развитии глаз [Harper et al., 2015]. Оказалось, что НЧ золота более биологически совместимы с тканями эмбрионов *D. rerio*, чем НЧ серебра [Wehmas et al., 2015].

Несмотря на использование стандартных методов исследования для оценки опасности НЧ, регистрируется различная степень их токсичности. Потенциально на токсичность НЧ могут влиять многие факторы (форма частиц, кристаллическая структура, склонность к агрегации, поверхностная активность, химический состав и растворимость).

Относительный вклад растворенных и взвешенных фракций НЧ в их токсичность существенно зависит от размера самих частиц [Heinlaan et al., 2008], коллоидной стабильности в различных тестовых средах [El Badavi et al., 2010] и состава тестируемой среды [Romer et al., 2011]. Как свидетельствуют результаты токсикологических исследований, легче прогнозировать неблагоприятные эффекты растворимых НЧ, так как они связаны с хорошо изученными компонентами их химического состава и не зависят от исходного размера частиц. Иная ситуация у нерастворимых и малорастворимых НЧ, токсичность которых при

одинаковой массе существенно отличается от действия макрочастиц того же химического состава, что препятствует формальному переносу накопленных данных на оценку действия изучаемых наноматериалов [Ferin et al., 1992]. НЧ могут взаимодействовать с другими веществами, в том числе и с токсикантами, растворенными в воде, и вносить их в организм водных животных. При этом в присутствии НЧ происходит концентрирование токсичных веществ в организме [Sun et al., 2007]. Показано, что НЧ TiO_2 значительно усиливают токсичность других металлов для дафний [Fan, 2010]. При добавлении НЧ TiO_2 в концентрации 2 мг/л LC_{50} меди для дафний снижается в 3 раза вследствие значительного повышения её биоаккумуляции [Fan, 2010]. НЧ диоксида титана блокируют сульфгидрильные группы, вызывая торможение процессов детоксикации с участием системы металлотионеинов, что приводит к преждевременной гибели дафний [Hall et al., 2009]. Кроме того, адсорбция каких-либо органических молекул на поверхности НЧ уменьшает их агрегацию и способствует стабилизации суспензии [Keller et al., 2010]. Это в свою очередь может повышать роль НЧ в переносе экологически опасных веществ и поступлении последних в организм животных.

Физико-химические особенности НЧ, определяющие их отличия от макродисперсий тех же веществ неоднократно рассматривались.

Во-первых, большая кривизна поверхностей и сопряженная топология атомов существенно изменяют растворимость, каталитические свойства и реакционную способность НЧ [Онищенко и др., 2007 (Onishchenko et al., 2007)].

Во-вторых, высокая удельная поверхность усиливает их каталитические и адсорбционные свойства. При уменьшении размера частиц ее удельная поверхность увеличивается. Так как реакционная способность твердых веществ (при прочих равных условиях) пропорциональна площади их поверхности, то это позволяет предположить наличие высокой биологической активности НЧ (в перерасчете на единицу массы) по сравнению с крупными частицами [Wiesner et al., 2006].

В-третьих, в силу небольших размеров НЧ способны проникать в органеллы и взаимодействовать с макромолекулами. Теоретически клетки могут быть проницаемы для НЧ и по чисто механическим причинам. Защитные барьеры клеточных структур и тканей организма не всегда эффективны для наноматериалов. НЧ обладают способностью разрушать

оболочки (мембраны) клеток и проникают за счет этого внутрь. В настоящее время экспериментально определены следующие механизмы попадания НЧ в клетку: 1) механическое разрушение мембраны клетки НЧ и их проникновение внутрь. Например, Ag возбуждает колебания мембран, увеличивая их пористость, проницаемость относительно твердых частиц [Wijnhoven et al., 2009]; 2) фагоцитоз НЧ клетками с последующим экзоцитозом; 3) проникновение НЧ между клетками. Предполагают, что некоторые частицы могут диффундировать между плазматическими мембранами, разделяющими клетки друг от друга [Choi et al., 2010].

В-четвертых, НЧ являются электрически заряженными, что увеличивает их адсорбционные свойства и способность проникать через биобарьеры. Во многом цитотоксические свойства НЧ объясняются их способностью к агрегации внутри клеток. И, в-пятых, высокая способность к аккумуляции. Из-за своего небольшого размера НЧ не распознаются защитными барьерами живого организма, не подчиняются биотрансформации и не выводятся из организма, передаются по пищевой цепи. По результатам исследований Центра биотестирования безопасности нанотехнологий и наноматериалов “Биотест-Нано” национального исследовательского Томского государственного университета в некоторых звеньях пищевой цепи концентрация НЧ за счет биоаккумуляции повышается в 10 000 раз [Моргалев и др., 2010 (Morgalev et al., 2010)].

Токсичность НЧ определяется не только их размером, но и формой. Частицы дендрической и веретенообразной формы обладают более высокой токсичностью нежели частицы сферической формы [Wang et al., 2007]. Вероятно, веретенообразные НЧ имеют большую удельную поверхность (отношение площади поверхности к массе S/m) и кривизну поверх-

ности, которая меняет расположение электронов и создает дипольные моменты, увеличивающие активность НЧ [Крутько и др., 2008 (Krut'ko et al., 2008)].

Токсические эффекты НЧ связывают, в первую очередь, с формированием окислительного стресса и образованием активных радикалов [Pryor, 1986]. Повышенный уровень активных форм кислорода (АФК) в клетке способствует запуску цепных реакций окислительной дегradации биомолекул, в частности, инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) клеточных мембран, что способствует нарушению их структуры и повышению проницаемости [Ercal et al., 2001].

Широкое распространение нанотехнологии с неизбежностью повышает риск воздействия НЧ на организм человека и окружающую среду. При этом НЧ, являющиеся лекарствами или транспортерами лекарств, биологический эффект которых тщательно изучается, составляют лишь очень небольшую часть из всей массы НЧ [Зиганшин, Зиганшина, 2008 (Ziganshin, Ziganshina, 2008)]. Каждый образец НЧ характеризуется уникальной формой, размером, площадью поверхности, наличием внутренних пространств и пор, заряда, растворимостью, способностью к образованию агрегатов и агломератов и другими особенностями. Без детальной характеристики свойств частиц невозможно адекватно объяснить наблюдаемый биологический эффект, что делает принципиально важными как исчерпывающее описание, так и стандартизацию образцов, исследуемых в эксперименте [Sayes, Warheit, 2009]. Биологическая активность основной массы промышленно-производимых наноматериалов и наночастиц остается по большей части мало изученной, и потому последствия их влияния на живые объекты становятся трудно прогнозируемыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все исследованные гидробионты (ветвистоусые ракообразные, личинки насекомых и рыбы) оказались в большей или меньшей степени чувствительными к воздействию металлических и металлооксидных НЧ. Наиболее чувствительным тест-объектом были цериодафнии, т. е. организм-фильтратор, наиболее токсикорезистентным – рыбы *D. rerio*.

НЧ снижали среднюю продолжительность жизни, суммарную плодовитость и интенсивность размножения цериодафний; влия-

ли на линейные размеры личинок хирономид, вызывали многочисленные деформации структур ротового аппарата; увеличивали продолжительность эмбрионального развития рыб. В большей степени НЧ влияли на воспроизводство водных беспозвоночных, угнетая их плодовитость.

При действии в равных концентрациях диоксид титана в модификации анатаз оказывал на гидробионтов различной систематической принадлежности более выраженное ток-

сическое действие, чем рутит, что свидетельствует в пользу существующих представлений о более высокой токсичности для гидробионтов частиц меньшего размера.

Угнетение процессов воспроизводства (цериодафии, данио), а также морфологические деформации (хирономиды, данио), выявленные в эксперименте, влияют на конкурентоспособность животных за пищевой ресурс и делают их доступной жертвой для хищников. Вследствие этого становится возможным нарушение трофических цепей и уменьшение

продуктивности водоемов, что в свою очередь не может не сказаться на стабильности и состоянии водных экосистем.

Актуальными остаются дальнейшие исследования негативных эффектов действия НЧ на гидробионтов и обоснование безопасных уровней частиц в объектах окружающей среды. Результаты работы могут быть использованы для разработки комплексных методик определения токсичности металлических и металлооксидных наночастиц.

Авторы выражают благодарность А.П. Мыльникову (ИБВВ РАН) и Е.А. Смирнову (Федеральная политехническая школа Лозанны) за предоставленные фотографии наночастиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баян Е.М., Лупейко Т.Г., Домницкий Н.К. Производство наноматериалов: потенциальные риски и пути их снижения // Технологии гражданской безопасности. 2015. Т. 12. № 2 (44). С. 75–78.
- Глушкова А.В., Радилов А.С., Рембовский В.Р. Нанотехнологии и нанотоксикология — взгляд на проблему // Токсикологический вестник. 2007. № 6. С. 4–8.
- Гусев А.А., Емельянов А.В., Шутова С.В. Ткачев, А. Г., Годымчук, А.Ю. Экоотоксикологическое исследование углеродного наноструктурного материала // Научные ведомости. Сер. Естественные науки. 2011. № 15 (110). Вып. 16. С. 80–87.
- Жолдакова З.И., Синицына О.О. Некоторые сходства и различия в токсических свойствах наночастиц и других химических веществ // Методологические проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды. Матер. пленума Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравсоцразвития Российской Федерации. М., 2007. С. 52–57.
- Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е. Наночастицы: фармакологические надежды и токсикологические проблемы // Казанский медицинский журнал. 2008. Т. 89. № 1. С. 1–7.
- Каркищенко Н.Н. Нанобезопасность: новые подходы к оценке рисков и токсичности наноматериалов // Биомедицина. 2009. № 1. С. 5–27.
- Крутько В.Н., Пуцилло Е.В., Чижов А.Я. Проблема оценки рисков нанотехнологий: методологические аспекты // Вестник РУДН. Сер. Экология и безопасность жизнедеятельности. 2008. № 4. С. 55–61.
- Моргалёв Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалёва Т.Г., Гулик Е.С., Борило Г.А., Булатова У.А., Моргалёв С.Ю., Понявина Е.В. Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети // Российские нанотехнологии. 2010. Т. 5. № 11–12. С. 131–135.
- Об утверждении концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов. Пост. гл. гос. сан. врача РФ № 79 от 31 октября 2007 г. // Российская газета. Федеральный выпуск № 4533
- Онищенко Г.Г. Регламентированный наномир // Нанотехнологии. Экология. Производство. 2010. № 5. С. 60–65.
- Онищенко Г.Г., Арчаков А.И., Бессонов В.В., Бокитко Б.Г., Гинцбург А.Л., Гмошинский И.В., Григорьев А.И., Измеров Н.Ф., Кирпичников М.П., Народицкий Б.С., Покровский В.И., Потапов А.И., Рахманин Ю.А., Тутьельян В.А., Хотимченко С.А., Шайтан К.В., Шевелева С.А. Методические подходы к оценке безопасности наноматериалов // Гигиена и санитария. 2007. № 6. С. 3–10.
- Проданчук М.Г., Балан Г.М. Наночастицы диоксида титана и их потенциальный риск для здоровья и окружающей среды // Совр. пробл. токсикологии. 2011. № 4. С. 11–27.
- Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О. Международные подходы к оценке токсичности и опасности наночастиц и наноматериалов // Токсикол. вестник. 2011. № 6. С. 53–57.
- Asharani P.V., Lianwu Y., Gong Z., Valiyaveetil S. Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos // Nanotoxicology. 2011. V. 5. № 1. P. 43–54.
- Bar-Ilan O.R., Albrecht M., Fako V.E., Furgeson D.Y. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos // Small. 2009. V. 5. № 16. P. 1897–1910. DOI: 10.1002/smll.200801716.
- Blaise C., Gagne F., Ferard J.F., Fullaffroy P. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms // Environ. Toxicol. 2008. V. 23 (5). P. 591–598.

- Bleeker E.A.J., Leslie H.A., Groenendijk D., Plans M., Admiraal W. Effects of exposure to azaarenes on emergence and mouthpart development in the midge *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) // Environm. Toxicol. and Chem. 1999. V. 18. P. 1829–1834.
- Bhattacharyay G., Sadhu A.K., Mazumdar A., Chaudhuri P.K. Antennal deformities of chironomid larvae and their use in biomonitoring of heavy metal pollutants in the river Damodar of West Bengal, India // Environm. Monitoring and Assessment. 2005. V. 108. P. 67–84.
- Choi J.Y., Lee S.H., Na H.B. *In vitro* cytotoxicity screening of water dispersible metal oxide nanoparticle in human cell lines // Bioprocess and Biosystems Engineering. 2000. V. 33. P. 21–30.
- Cui Z., Mumper R.J. Plasmid DNA-entrapped nano-particles engineered from microemulsion precursors: *in vitro* and *in vivo* evaluation // Bioconjug. Chem. 2002. V. 13. P. 1319–1327.
- El Badawy A.M., Luxton T.P., Silva R.G., Scheckel K.G., Suidan M.T., Tolaymat T.M. Impact of environmental conditions (pH, ionic strength, and electrolyte type) on the surface charge and aggregation of silver nanoparticles suspensions // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. P. 1260–1266.
- Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress. Part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // Curr. Top Med. Chem. 2001. V. 1. № 6. P. 529–539.
- Faes C., Aerts M. Model averaging using fractional polynomials to estimate a safe level of exposure // Risk. Anal. 2007. V. 27. № 1. P. 111–123.
- Fako V.E., Furgeson D.Y. Zebrafish as a correlative and predictive model for assessing biomaterial nanotoxicity // Advanced Drug Delivery Reviews. 2009. V. 61. № 6. P. 478–486.
- Fan W. Nano-TiO₂ enhances the toxicity of cooper in natural water to *Daphnia magna* // Environmental Pollution. 2010. № 3. P. 729–734.
- Ferin J., Oberdorster G., Penney D.P. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1992. V. 6(5). P. 535–42.
- Flora S.J., Mittal M., Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress: its possible reversal by chelation therapy // Indian. J. Med. Res. 2008. V. 128. № 4. P. 501–523.
- Griffitt R.J., Luo J., Gao J., Bonzongo J.C., Barber D.S. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms // Env. Toxicol. Chem. 2008. V. 27. № 9. P. 1972–1978.
- Janssens de Bisthoven L., Vermeulen A., Ollevier F. Experimental induction of morphological deformities in *Chironomus riparius* larvae by chronic exposure to copper and lead // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1998. V. 35. P. 249–256.
- Hall S., Bradley T., Moore J. Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity // Nanotoxicology. 2009. V. 3. № 2. P. 91–97.
- Harper B., Thomas D., Chikkagoudar S., Nathan B., Tang K., Heredia-Langner A., Lins R., Harper S. Comparative hazard analysis and toxicological modeling of diverse nanomaterials using the embryonic zebrafish (EZ) metric of toxicity // J. Nanopart. Res. 2015. V. 17. P. 250–262. DOI 10.1007/s11051-015-3051-0.
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* // Chemosphere. 2008. V. 7. P. 1308–1316.
- Ingersoll C.G., Nelson M.K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera) // Aquat. Toxicol. and Risk Assessment. Philadelphia: Amer. Soc. Test. and Mater. 1990. V. 13. P. 93–109.
- Keller A.A., Wang H., Zhou D., Lenihan H.S., Cherr G., Cardinale B.J., Miller R., Ji Z. Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. P. 1962–1967.
- Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies. 2011. Chem. Soc. Rev. V. 40. P. 1647–1671.
- Kim K.T., Zaikova T., Hutchison J.E., Tanguay R.L. Gold nanoparticles disrupt zebrafish eye development and pigmentation // Toxicological Sciences. 2013. V. 133. № 2. P. 275–288. DOI: 10.1093/toxsci/kft081
- Kovřížnych A., Sotnikova R., Zeljenkova D., Rollerova E., Szabova E., Wimmerova S. Acute toxicity of 31 different nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) tested in adulthood and in early life stages – comparative study // Interdisciplinary Toxicology. 2013. V. 6. № 2. P. 67–73.
- Kreyling W.G., Semmler M., Erbe F., Mayer P., Takenaka S., Schulz H., Oberdörster G., Ziesenis A. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low // J. Toxicol. Environ. Health A. 2002. V. 65(20). P. 1513–1530.
- Krysanov E.Y., Pavlov D.S., Demidova T.B., Dgebyadze Y.Y. Effect of nanoparticles on aquatic organisms // Biology Bulletin. 2010. Vol. 37. № 4. P. 406–412. DOI: 10.1134/S1062359010040114
- Kunzmann A., Andersson B., Thurnherr T., Krug H., Scheynius A., Fadeel B. Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation // Biochimica et biophysica acta (BBA) / General subjects. 2011. V. 1810. № 3. P. 361–373.
- Lee K.J., Nallathamby P.D., Browning L.M., Osgood C.J., Xu X. *In vivo* imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos // ACS Nano. 2007. V. 1, № 2. P. 133–144. DOI: 10.1021/nn700048y

- Lovern S.B., Klaper R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles // *Env. Toxicol. Chem.* 2006. V. 25. № 4. P. 1132–1137.
- MacDonald E.E., Taylor B.R. Incidence of mentum deformities in midge larvae (Diptera: Chironomidae) from Northern Nova Scotia, Canada // *Hydrobiologia*. 2006. V. 563. P. 277–287.
- Mount D.I., Norberg T.J. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test // *Environ. Toxicol. Chem.* 1984. V. 3. P. 425–434.
- Pryor W.A. Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes and Reactions. // *Ann. Rev. of Phys.* 1986. V. 48. P. 657–667.
- Romer I., White T.A., Baalousha M., Chipman K., Viant M.R., Lead J.R. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests // *J. Chromatogr.* 2011. V. 1218. P. 4226–4233.
- Rizzo L.Y., Golombek S.K., Mertens M.E., Pan Y., Laaf D. In vivo nanotoxicity testing using the zebrafish embryo assay // *Journal of Materials Chemistry*. 2013. V. 1. № 32. P. 3918
- Sayes C.M., Warheit D.B. Characterization of nanomaterials for toxicity assessment // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2009. V. 1(6). P. 660–70. DOI: org/10.1002/wnan.58
- Servia M. J., Ry A., Heydorff M., Garric J., Lagadici L. Effects of copper on energy metabolism and larval development in the midge *Chironomus riparius* // *Ecotoxicology*. 2006. V. 15. P. 229–240.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. *Biometry. The principals and practice of statistics in biological research*. N.Y.: W.H. Freeman and Co, 1995. 887 p.
- Shi H., Magaye R., Castoranova V., Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data // *Part. Fibre Toxicol.* 2013. № 10. P. 15–48.
- Stuijzand S.C., Helms M., Kraak M.H.S., Admiraal W. Interacting effects of toxicants and organic matter on the midge *Chironomus riparius* in polluted river water // *Ecotox. Environ. Safe.* 2000. V. 46. P. 351–356.
- Sun H., Zhang X., Niu Q., Chen Y., Crittenden J.C. Enhanced accumulation of arsenate in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles // *Water Air Soil Pollut.* 2007. V. 178. P. 245–254.
- Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Grebenyuk L.P., Golovkina E.I., Smirnov E.A. Changes in biological parameters of freshwater animals under the impact of various crystal modifications of titanium dioxide nanoparticles // *Inland Water Biology*. 2015. V. 8. № 3. P. 309–318.
- Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Myl'nikov A.P., Komov V.T. Changes in biological characteristics of freshwater heterotrophic flagellates and cladocerans under the effect of metal oxide nano- and microparticles // *Inland Water Biology*. 2011. V. 4. № 4. P. 475–483.
- Trouiller B., Reliene R., Westbrook A. Solaimani P., Schiestl R.H. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice // *Cancer Res.* 2009. V. 69. P. 8784–8789.
- Wang J.X., Zhou G.Q., Chen C.Y., Yu H.W., Wang T.C., Ma Y.M. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration // *The journal of physical chemistry. Toxicology letters*. 2007. V. 168. P. 176–185.
- Warwick W.F. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus Meigen* // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1985. V. 42. № 12. P. 1881–1914.
- Wehmas L.C., Anders C., Chess J., Alex Punnoose A., Pereira C.B., Greenwood J.A., Tanguay R.L. Comparative metal oxide nanoparticle toxicity using embryonic zebrafish // *Toxicology Reports*. 2015. Vol. 2. P. 702–715. DOI: 10.1016.toxrep.2015.03.015
- Wiesner M.R., Lowry G.V., Alvarez P., Dionysiou D., Biswas P. Assessing the risks of manufactured nanomaterials // *Environ. Sci. Technol.* 2006. V. 40. P. 4336–4345.
- Wijnhoven S., Peijnenburg W., Herberts C.A., Hagens W., Oomen A.G., Heugens E., Roszek B., Bisschops J., Gosens I., Van de Meent D., Dekkers S., de Jong W.H., van Zijverden M., Sips A., Geertsma R. Nano-silver: a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment // *Nanotoxicol.* 2009. V. 3. P. 109–138.
- Zhu X., Chang Y., Chen Y. Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna* // *Chemosphere*. 2010. V. 78. № 3. P. 209–215.
- Zhu X., Zhu L., Chen Y., Tian S. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna* // *J. Nanopart. Res.* 2009. V. 11. P. 67–75.
- Zhu X., Zhu L., Duan Z., Qi R., Li Y., Lang Y. Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage // *J. Environ. Sci. and Health*. 2008. V. 43. № 3. P. 278–284.

REFERENCES

- Asharani P.V., Lianwu Y., Gong Z., Valiyaveetil S. 2011. Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos // *Nanotoxicology*. V. 5. № 1. P. 43–54.
- Bar-Ilan O.R., Albrecht M., Fako V.E., Furgeson D.Y. 2009. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos // *Small*. V. 5. № 16. P. 1897–1910. DOI: 10.1002/sml.200801716.
- Bayan E.M., Lupejko T.G., Domnickij N.K. 2015. Proizvodstvo nanomaterialov: potencial'nye riski i puti ih snizheniya [The Production of Nanomaterials: Potential Risks and the Way of Risk Decrease] // *Tekhnologii grazhdanskoj bezopasnosti*. V. 12. № 2 (44). S. 75–78. [In Russian]

- Blaise C., Gagne F., Ferard J.F., Fullaffroy P. 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms // *Environ. Toxicol.* V. 23 (5). P. 591–598.
- Bleeker E.A.J., Leslie H.A., Groenendijk D., Plans M., Admiraal W. 1999. Effects of exposure to azaarenes on emergence and mouthpart development in the midge *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) // *Environm. Toxicol. and Chem.* V. 18. P. 1829–1834.
- Bhattacharyay G., Sadhu A.K., Mazumdar A., Chaudhuri P.K. 2005. Antennal deformities of chironomid larvae and their use in biomonitoring of heavy metal pollutants in the river Damodar of West Bengal, India // *Environm. Monitoring and Assessment*. V. 108. P. 67–84.
- Choi J.Y., Lee S.H., Na H.B. 2000. *In vitro* cytotoxicity screening of water dispersible metal oxide nanoparticle in human cell lines // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. V. 33. P. 21–30.
- Cui Z., Mumper R.J. 2002. Plasmid DNA-entrapped nano-particles engineered from microemulsion precursors: *in vitro* and *in vivo* evaluation // *Bioconjug. Chem.* V. 13. P. 1319–1327.
- El Badawy A.M., Luxton T.P., Silva R.G., Scheckel K.G., Suidan M.T., Tolaymat T.M. 2010. Impact of environmental conditions (pH, ionic strength, and electrolyte type) on the surface charge and aggregation of silver nanoparticles suspensions // *Environ. Sci. Technol.* V. 44. P. 1260–1266.
- Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. 2001. Toxic metals and oxidative stress. Part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // *Curr. Top Med. Chem.* V. 1. № 6. P. 529–539.
- Faes C., Aerts M. 2007. Model averaging using fractional polynomials to estimate a safe level of exposure // *Risk. Anal.* V. 27. № 1. P. 111–123.
- Fako V.E., Furgeson D.Y. 2009. Zebrafish as a correlative and predictive model for assessing biomaterial nanotoxicity // *Advanced Drug Delivery Reviews*. V. 61. № 6. P. 478–486.
- Fan W. 2010. Nano-TiO₂ enhances the toxicity of copper in natural water to *Daphnia magna* // *Environmental Pollution*. № 3. P. 729–734.
- Ferin J., Oberdorster G., Penney D.P. 1992. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* V. 6(5). P. 535–42.
- Flora S.J., Mittal M., Mehta A. 2008. Heavy metal induced oxidative stress: its possible reversal by chelation therapy // *Indian. J. Med. Res.* V. 128. № 4. P. 501–523.
- Glushkova A.V., Radilov A.S., Rembovskiy V.R. 2007. Nanotekhnologii i nanotoksikologiya — vzglyad na problemu [Nanotechnological and nanotoxicity — view of the problem] // *Toksikologicheskij vestnik*. №6. P. 4–8. [In Russian]
- Griffitt R.J., Luo J., Gao J., Bonzongo J.C., Barber D.S. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms // *Env. Toxicol. Chem.* 2008. V. 27. № 9. P. 1972–1978.
- Gusev A.A., Emel'yanov A.V., Shutova S.V., Tkachev A. G., Godymchuk, A. Yu. 2011. Ekhkotoksikologicheskoe issledovanie uglerodnogo nanostrukturnogo materiala [Ecotoxicological study of carbon nanostructured material // *Nauchnye vedomosti. Seriya Estestvennye nauki*. № 15 (110). Vyp. 16. S. 80–87. [In Russian]
- Janssens de Bisthoven L., Vermeulen A., Ollevier F. 1998. Experimental induction of morphological deformities in *Chironomus riparius* larvae by chronic exposure to copper and lead // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* V. 35. P 249–256.
- Hall S., Bradley T., Moore J. 2009. Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity // *Nanotoxicology*. V. 3. № 2. P. 91–97.
- Hamidulina H.H., Davydova Yu.O. 2011. Mezhdunarodnye podhody k ocenke toksichnosti i opasnosti nanochastic i nanomaterialov [International approaches to evaluating the toxicity and hazards of nanoparticles and nanomaterials] // *Toksikol. vestnik*. № 6. S. 53–57. [In Russian]
- Harper B., Thomas D., Chikkagoudar S., Nathan B., Tang K., Heredia-Langner A., Lins R., Harper S. 2015. Comparative hazard analysis and toxicological modeling of diverse nanomaterials using the embryonic zebrafish (EZ) metric of toxicity // *J. Nanopart. Res.* V. 17. P. 250–262. DOI 10.1007/s11051-015-3051-0.
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.C., Kahru A. 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* // *Chemosphere*. V. 7. P. 1308–1316.
- Ingersoll C.G., Nelson M.K. 1990. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera) // *Aquat. Toxicol. and Risk Assessment*. Philadelphia: Amer. Soc. Test. and Mater. V. 13. P. 93–109.
- Karkishchenko N.N. Nanobezopasnost': novye podhody k ocenke riskov i toksichnosti nanomaterialov [Nanosafety: new approaches to the assessment of risks and toxicity of nanomaterials] // *Biomedicina*. 2009. № 1. S. 5–27. [In Russian]
- Keller A.A., Wang H., Zhou D., Lenihan H.S., Cherr G., Cardinale B.J., Miller R., Ji Z. 2010. Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices // *Environ. Sci. Technol.* V. 44. P. 1962–1967.
- Khlebtsov N., Dykman L. 2011. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies // *Chem. Soc. Rev.* V. 40. P. 1647–1671.
- Kim K. T., Zaikova T., Hutchison J. E., Tanguay R. L. 2013. Gold nanoparticles disrupt zebrafish eye development and pigmentation // *Toxicological Sciences*. V. 133. № 2. P. 275–288. DOI: 10.1093/toxsci/kft081

- Kovriznykh A., Sotnikova R., Zeljenkova D., Rollerova E., Szabova E., Wimmerova S. 2013. Acute toxicity of 31 different nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) tested in adulthood and in early life stages – comparative study // *Interdisciplinary Toxicology*. V. 6. № 2. P. 67–73.
- Krysanov E.Y., Pavlov D.S., Demidova T.B., Dgebyadze Y.Y. 2010. Effect of nanoparticles on aquatic organisms // *Biology Bulletin*. V. 37. № 4. P. 406–412. DOI: 10.1134/S1062359010040114
- Kreyling W.G., Semmler M., Erbe F., Mayer P., Takenaka S., Schulz H., Oberdörster G., Ziesenis A. 2002. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low // *J. Toxicol. Environ. Health A*. V. 65(20). P. 1513–1530.
- Krut'ko V.N., Pucillo E.V., Chizhov A.Ya. 2008. Problema ocenki riskov nanotekhnologij: Metodologicheskie aspekty [The problem of risk assessment of nanotechnologies: Methodological aspects] // *Vestnik RUDN. Ser. Ekhologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti*. № 4. S. 55–61. [In Russian]
- Kunzmann A., Andersson B., Thurnherr T., Krug H., Scheynius A., Fadeel B. 2011. Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation // *Biochimica et biophysica acta (BBA). General subjects*. V. 1810. № 3. P. 361–373.
- Lee K.J., Nallathamby P.D., Browning L.M., Osgood C.J., Xu X.N. 2007. *In vivo* imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos // *ACS Nano*. V. 1. № 2. P. 133–144. DOI: 10.1021/nn700048y
- Lovern S.B., Klaper R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles // *Env. Toxicol. Chem*. 2006. V. 25. № 4. P. 1132–1137.
- MacDonald E.E., Taylor B.R. 2006. Incidence of mentum deformities in midge larvae (Diptera: Chironomidae) from Northern Nova Scotia, Canada // *Hydrobiologia*. V. 563. P. 277–287.
- Morgalyov Yu.N., Morgalyova T.G., Gulik E.S., Borilo G.A., Bulatova U.A., Morgalev S.Y., Ponyavina E.V., Khoch N.S. 2010. Biotestirovanie nanomaterialov: o vozmozhnosti translokacii nanochastic v pishchevye seti [Biotesting nanomaterials: transmissibility of nanoparticles into a food chain] // *Ros. nanotekhnologii*. 2010. T. 5. № 11–12. S. 98–102. [In Russian]
- Mount D.I., Norberg T.J. 1984. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test // *Environ. Toxicol. Chem*. V. 3. P. 425–434.
- Morgalyov Yu.N., Morgalyova T.G., Gulik E.S., Borilo G.A., Bulatova U.A., Morgalev S.Y., Ponyavina E.V., Khoch N.S. 2010. Biotestirovanie nanomaterialov: o vozmozhnosti translokacii nanochastic v pishchevye seti // *Ros. nanotekhnologii*. T. 5. № 11–12. S. 98–102. [In Russian]
- Ob utverzhdenii koncepcii toksikologicheskikh issledovanij, metodologii ocenki riska, metodov identifikacii i kolichestvennogo opredeleniya nanomaterialov. 2007 [About approval of the Concept of toxicological studies, risk assessment methodology, methods of identification and quantification of nanomaterials] // *Rossijskaya gazeta. Federalnyj vypusk* № 4533 [In Russian]
- Onishchenko G.G. 2010. Reglamentirovannyj nanomir [Regulated nanoworld] // *Nanotekhnologii. Ekhologiya. Proizvodstvo*. № 5. S. 60–65. [In Russian]
- Onishchenko G.G., Archakov A.I., Bessonov V.V., Bokit'ko B.G., Gincburg A.L., Gmoshinskij I.V., Grigor'ev A.I., Izmerov N.F., Kirpichnikov M.P., Narodickij B.S., Pokrovskij V.I., Potapov A.I., Rahmanin Yu.A., Tutel'yan V.A., Hotimchenko S.A., Shajtan K. V., Sheveleva S.A.. Metodicheskie podhody k ocenke bezopasnosti nanomaterialov [Methodological approaches to assessing the safety of nanomaterials] // *Gigiena i sanitariya*. 2007. № 6. S. 3–10. [In Russian]
- Prodanchuk M.G., Balan G.M. 2011. Nanochasticy dioksida titana i ih potencial'nyj risk dlya zdorov'ya i okruzhayushchej sredy [The titanium dioxide nanoparticles and their potential risk to human health and the environment] // *Sovr. probl. toksikologii*. № 4. S. 11–27. [In Russian]
- Pryor W.A. 1986. Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes and Reactions. // *Ann. Rev. of Phys.* V. 48. P. 657–667.
- Romer I., White T.A., Baalousha M., Chipman K., Viant M.R., Lead J.R. 2011. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests // *J. Chromatogr.* V. 1218. P. 4226–4233.
- Rizzo L.Y., Golombek S.K., Mertens M.E., Pan Y., Laaf D. 2013. *In vivo* nanotoxicity testing using the zebrafish embryo assay // *Journal of Materials Chemistry*. V. 1. № 32. P. 3918–3929. DOI: 10.1039/c3tb20528b.
- Sayes C.M., Warheit D.B. 2009. Characterization of nanomaterials for toxicity assessment // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* V. 1(6). P. 660–70. DOI: org/10.1002/wnan.58.
- Servia M. J., Ry A., Heydorff M., Garric J., Lagadici L. 2006. Effects of copper on energy metabolism and larval development in the midge *Chironomus riparius* // *Ecotoxicology*. V. 15. P. 229–240.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. 1995. *Biometry. The principals and practice of statistics in biological research*. N.Y.: W.H. Freeman and Co. 887 p.
- Shi H., Magaye R., Castoranova V., Zhao J. 2013. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data // *Part. Fibre Toxicol.* № 10. P. 15–48.
- Stuijzand S.C., Helms M., Kraak M.H.S., Admiraal W. 2000. Interacting effects of toxicants and organic matter on the midge *Chironomus riparius* in polluted river water // *Ecotox. Environ. Safe*. V. 46. P. 351–356.
- Sun H., Zhang X., Niu Q., Chen Y., Crittenden J.C. 2007. Enhanced accumulation of arsenate in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles // *Water Air Soil Pollut.* V. 178. P. 245–254.

- Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Grebenyuk L.P., Golovkina E.I., Smirnov E.A. Changes in biological parameters of freshwater animals under the impact of various crystal modifications of titanium dioxide nanoparticles // *Inland Water Biology*. 2015. V. 8. № 3. P. 309–318.
- Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Myl'nikov A.P., Komov V.T. Changes in biological characteristics of freshwater heterotrophic flagellates and cladocerans under the effect of metal oxide nano- and microparticles // *Inland Water Biology*. 2011. № 4. P. 475–483.
- Trouiller B., Reliene R., Westbrook A., Solaimani P., Schiestl R.H. 2009. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice // *Cancer Res*. V. 69. P. 8784–8789.
- Wang J.X., Zhou G.Q., Chen C.Y., Yu H.W., Wang T.C., Ma Y.M. 2007. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration // *The journal of physical chemistry. Toxicology letters*. V. 168. P. 176–185.
- Warwick W.F. 1985. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus Meigen* // *Can. J. Fish. Aquat. Sci*. V. 42. № 12. P. 1881–1914.
- Wehmas L.C., Anders C., Chess J., Alex Punnoose A., Pereira C.B., Greenwood J.A., Tanguay R.L. 2015. Comparative metal oxide nanoparticle toxicity using embryonic zebrafish // *Toxicology Reports*. V. 2. P. 702–715. DOI: 10.1016.toxrep.2015.03.015.
- Wiesner M.R., Lowry G.V., Alvarez P., Dionysiou D., Biswas P. Assessing the risks of manufactured nanomaterials // *Environ. Sci. Technol*. 2006. V. 40. P. 4336–4345.
- Wijnhoven S., Peijnenburg W., Herberts C.A., Hagens W., Oomen A.G., Heugens E., Roszek B., Bisschops J., Gosens I., Van de Meent D., Dekkers S., de Jong W.H., van Zijverden M., Sips A., Geertsma R. 2009. Nano-silver: a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment // *Nanotoxicol*. V. 3. P. 109–138.
- Zholdakova Z.I., Sinicya O.O. 2007. Nekotorye skhodstva i razlichiya v toksicheskikh svoystvakh nanochastich i drugih himicheskikh veshchestv [Some of the similarities and differences in the toxic properties of nanoparticles and other chemicals] // *Metodologicheskie problemy izucheniya i ocenki bio- i nanotekhnologij (nanovolny, chasticy, struktury, processy, bioob"ekty) v ehkologii cheloveka i gigiene okruzhayushchej sredy. Materialy plenuma Nauchnogo soveta po ehkologii cheloveka i gigiene okruzhayushchej sredy RAMN i Minzdravsocrazvitiya Rossijskoj Federacii*. M., S. 52–57. [In Russian]
- Ziganshin A.U., Ziganshina L.E. 2008. Nanochasticy: farmakologicheskie nadezhdy i toksikologicheskie problemy [Nanoparticles: pharmacological expectancies and toxicological problems] // *Kazanskij medicinskij zhurnal*. T. 89. № 1. C. 1–7. [In Russian]
- Zhu X., Zhu L., Duan Z., Qi R., Li Y., Lang Y. 2008. Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage // *J. Environ. Sci. and Health*. V. 43. № 3. P. 278–284.

TOXICOLOGICAL STUDY OF METAL AND METAL OXIDE NANOPARTICLES

I. I. Tomilina¹, V. A. Gremyachikh¹, L. P. Grebenyuk¹, E. I. Golovkina¹, T. R. Klevleva²

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences*

152742 Borok, Russia, e-mail: i_tomilina@mail.ru

²*Kazan Federal University, 420111 Kazan, Kremlevskaya str., 18*

The effects of metal (gold, silver) and metal oxide nanoparticles (zinc, titanium) on freshwater hydrobionts of various systematic affiliation (crustaceans of *Ceriodaphnia affinis*, larvae of diptera *Chironomus riparius* and aquarium fish *Danio rerio*) in conditions of chronic experiment were investigated. The most sensitive test-object was *Ceriodaphnia affinis*, the indicator – reproduction of crustaceans.

Keywords: nanoparticles, metals, toxicity, aquatic organisms

УДК 574.64; 574.632; 574.636

ВОДНАЯ ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ В РОССИИ: ОТ ПРОШЛОГО К НАСТОЯЩЕМУ**О. Ф. Филенко¹, Г. М. Чуйко^{2,3}**¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
119991 Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, e-mail: ofilenko@mail.ru²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: gchuiiko@mail.ru³Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,
150003 Ярославль, ул. Советская, 14

Приведены сведения по истории становления, начиная с конца XIX в. и развития в нашей стране водной экотоксикологии – актуального научно-прикладного направления, связанного с изучением влияния антропогенных факторов на качество водной среды. Рассмотрены основные события, послужившие причиной обострения внимания к проблеме загрязнения окружающей среды, в частности, активизация хозяйственной деятельности. Проанализированы работы исследователей, внесших основной вклад в формирование этого направления науки. Обсуждается взаимосвязь водной токсикологии с экотоксикологией и санитарной гидробиологией. Отмечена роль биотестирования, как основного метода в токсикологическом контроле и установлении критериев качества водной среды. Помимо природоохранной задачи упомянуты и другие направления прикладной деятельности водной токсикологии, решаемые на основе её разработок (борьба с биоповреждениями и переносчиками заболеваний).

Ключевые слова: водная токсикология, загрязнение окружающей среды, биотестирование, критерии качества водной среды.

“Нефтепромышленники, не желая тратить миллионы на обустройство новым нефтяным флотом, всеми силами стараются доказать безвредность нефти. В виду столкновения разнообразных и крупных интересов, совершенно естественно то небеспристрастное отношение к этому вопросу, какое наблюдается и в жизни, и в литературе. Недостаточность научно-установленных фактов давала полную возможность трактовать вопрос согласно желанию и интересам каждого” [Купцис, 1901 (Kupcis, 1901)]. Эти слова были написаны на грани девятнадцатого и двадцатого веков, но расстановка интересов очень сходна с современной. Все последующие годы были посвящены поиску равновесия между необходимым и возможным во взаимоотношении человека с окружающей средой и установлению свидетельств вероятного неблагоприятного воздействия на экосферу.

На ранних этапах истории человечества его влияние на природу носило локальный, ограниченный характер и изменения в окружающей среде развивались достаточно медленно, в течение жизни нескольких поколений, и поэтому были менее очевидны. В последнее столетие это влияние все больше и больше приобретает глобальные черты, и заметные изменения происходят уже за период жизни одного-двух поколений.

В последние десятилетия регулярно появ-

ляются сообщения, имеющие отношение к разным аспектам загрязнения водной среды, претендующие на новизну. Однако, к сожалению, все реже цитируются первопроходцы в этой области, которыми были сформулированы основные идеи и намечены пути решения проблем взаимодействия человека в его хозяйственной деятельности с окружающей средой. И следует признать, что на сегодняшний день остается широкий круг нерешенных проблем, вызывающих дискуссии, начатые еще в конце девятнадцатого века.

Изначально проблема влияния потенциально вредоносных веществ на водные организмы зародилась и развивалась под давлением усиливающегося загрязнения поверхностных вод, как результата роста населения и развития хозяйственной деятельности. Не удивительно, что периодическое обострение общественного и научного интереса к проблеме было приурочено к активизации той или иной формы антропогенной деятельности. Очередная проблема загрязнения водной среды, приведшая к широким дискуссиям и первым экспериментальным оценкам токсичности загрязнения, стала предметом общественного внимания в конце 19 – начале 20-го столетия, как следствие промышленного бума в некоторых районах России.

Одним из первых в России предположение о возможном негативном влиянии про-

мышленных сточных вод на водные объекты и биоту, в частности рыб, высказал академик К.М. Бэр по результатам изучения причин снижения рыбных запасов, в первую очередь стерляди на Верхней Волге [Бэр, 1860 (Baer, 1860)]. В своем отчете о волжской экспедиции 1853 г. он писал, что “усиливающаяся в некоторых местах Окской системы фабричная промышленность могла иметь вредное влияние на размножение рыбы посредством стока в реки минеральных веществ”.

Еще одним аспектом, привлекавшим внимание к природоохранной проблематике, была перевозка нефти и нефтепродуктов из Каспийского моря в центральные районы России по Волге в наливных баржах, на которых, по разным причинам, происходили интенсивные утечки и загрязнения рыбных и пойменных угодий. Уже в то время возникала конфронтация между промышленниками и рыбопромысловиками и защитниками живой природы вообще. Тогда же складывались школы, проявлялись правдоискатели и конформисты [Широкова, 2001 (Shirokova, 2001); Давыдов, 2006 (Davidov, 2006)].

В результате нефтяного загрязнения в последнее десятилетие 19 в. заметно снизилась рыбопродуктивность волжской экосистемы. С исследованиями последствий загрязнения в то время связаны имена О.А. Гримма [Гримм, 1891, 1904 (Grimm, 1891, 1904)], И.Н. Арнольда [Арнольд, 1897, 1900 (Arnold, 1897, 1900)], Н.А. Чермака [Чермак, 1896 (Tschermak, 1896)], Г.В. Хлопина [Хлопин, 1900; Хлопин, Никитин, 1898 (Hlorin, 1900; Hlorin, Nikitin, 1900)] и др., зачастую известные нам по повторным ссылкам. Большая часть дискуссии разворачивалась не только напрямую вокруг вопроса о рыбопродукции, но и других проблем экологии (уменьшение численности “мошек”, загрязнение пойменных угодий). Помимо прямого действия на рыб обсуждался вопрос о влиянии нефти и ее продуктов на кормовую базу промысловых объектов. При этом реакция насекомых оказалась более ранним показателем экологического неблагополучия, чем рыбный промысел. Так, О.А. Гримм полагал, что только нефтяная пленка уничтожает в Волге ежегодно “118 млн. пудов мошек” [Гримм, 1891 (Grimm, 1891)]. И.Н. Арнольд в качестве наиболее чувствительного объекта выделял дафний [Арнольд, 1900 (Arnold, 1900)]. Следует отметить, что не все биологи соглашались с оценкой нефтяного загрязнения, как угрозы для рыбного промысла [Ни-

кольский, 1893а–в (Nikolsky, 1893а–с)].

Уже в то время исследователи пытались разобраться в механизме действия нефти на рыб, выявить ее наиболее токсичные компоненты. Примером существовавших подходов и скрупулезности проведения исследований может служить брошюра, изданная в 1901 г в Санкт-Петербурге, с названием “Дальнейшие исследования относительно вредных свойств нефти и ее продуктов для рыб и животных” [Купцис, 1901 (Kupcis, 1901)]. Брошюра представляет собой диссертацию И.Д. Купциса “на степень магистра фармации”, выполнявшуюся в университете г. Юрьев в лаборатории профессора Г.В. Хлопина. Подзаголовок работы звучит так: “Материалы по вопросу о необходимости ограждения Волги и других русских рек от загрязнения нефтяными продуктами с санитарной точки зрения”.

Введение начинается со следующей фразы: “Загрязнение рек вообще, и особенно – Волги, нефтью один из важных вопросов настоящего момента”. Заявлено более ста лет назад, а полностью перекликается с современными обоснованиями исследований по загрязнению окружающей среды. Это иллюстрирует актуальность проблемы уже в девятнадцатом веке.

Обращает на себя внимание тщательность проведения работы. Автор подробно описывает состав апшеронской нефти, свойства ее различных фракций, технологию их выделения. В связи с этим задачами работы И.Д. Купциса служило следующее:

“1. Экспериментальным путем доказать присутствие или отсутствие ядовитых для рыб веществ в нефти различного происхождения и в некоторых нефтяных продуктах.

2. Изучить влияние различных солей на растворимость нефти в воде.

3. Изолировать нефтяной яд и определить его химическую натуру”.

В работе он пишет: “Исследователи, отрицающие всякое вредное действие нефти на рыбу, высказали сомнение относительно лабораторных опытов, как не соответствующих естественным условиям, и указывали на то, что рыба может умереть при постановке таких опытов без всякой нефти и вообще без всякого яда”.

Однако автор доказывает, что если в сосудах обеспечивался достаточный уровень кислорода, то и плотва, и укляя, и лещ, и ерш, и голец, и окунь могут жить в аквариуме практически любой естественный срок. Очевидно, в пору становления экспериментальной ихтиологической техники даже такая возможность

нуждалась в подтверждении. Автор тщательно исследовал зависимость состояния рыб разных видов от концентрации в воде кислорода и углекислоты. После этого автор изучал водные вытяжки из нефти, нефтепродуктов и отдельных фракций – всего 16 субстанций: петролейный эфир, бензин, лигроин, тяжелый бензин, керосин, солярка, пиронафт, веретенное, цилиндровое и машинное масло, мазут.

При строгом контроле температуры, уровня кислорода и перманганатной окисляемости наблюдали действие вытяжек в 3-х разведениях на несколько видов рыб в сроки до недели. В результате выявили пороговые уровни загрязнения, способные вызывать видимый эффект на рыб.

Затем последовало “получение из нефти ядовитых веществ в чистом виде”. Для этого автор собственноручно проводил фракционирование нефти с применением щелочей и кислот, выделяя “низкокипящие” и “высококипящие” фракции. Затем каждый из продуктов выдерживал до 14 суток под влиянием комплекса экологических факторов.

В результате автор делает вывод о том, что ядовитая фракция нефти включает нафтенновые кислоты с примесью летучих компонентов и фенолов. Нефть и ее продукты становятся токсичными только после окисления в естественных условиях, но предельные углеводороды при этом не изменяются. Важную роль в растворении нефти играет присутствие солей в воде, поэтому ее растворимость существенно различается в дистиллированной, водопроводной и морской воде. Причем, вслед за этим, изменяется и токсичность нефти. Автор показал, что большинство солей растворимость снижает, а углекислые соли кальция и магния – увеличивают. В связи с этим добавление к вытяжкам из нефтепродуктов хлорида натрия и сульфата магния снижало их токсичность, а карбонатов кальция и магния – повышало. Даже в наше время исследователи не всегда принимают во внимание эти закономерности, а иногда – и просто не знают о них.

В последующем автор провел исследование действия наиболее токсичной фракции нефтепродуктов в разных разведениях почти на 30 видах рыб. Более чувствительны, чем взрослые рыбы, оказались икра и мальки сига и форели.

Опыты с вытяжками из мазута и токсичной фракции продолжались в течение двух с половиной месяцев на 5 видах рыб. Исследования на рыбах дополнялись экспериментами с

раками, лягушками, кошками и собаками. И в завершение этого цикла автор провел испытание ядовитой фракции на себе. Симптоматику отравления, которое, к счастью, завершилось восстановлением, автор прилежно описывает.

И заключительный этап, который назвали бы внедрением в практику, – это изучение дезинфицирующих свойств фракции нафтеновых кислот для некоторых видов патогенных микроорганизмов, включающих штамм холерного вибриона, возбудителей сибирской язвы и тифа. Сформулированные по результатам исследований 20 выводов могут служить и в наши дни примером четкости изложения, оставаясь выводами, а не тезисами по работе. Некоторые из них и сейчас – открытие для специалистов, исследующих биологические эффекты нефтепродуктов. Таким образом, результаты исследований, проведенных в конце 19 – начале 20 в., актуальны и в период современного нефтяного бума в нашей стране.

Приблизительно в этот же период стали обостряться проблемы загрязнения водных объектов в связи с развитием промышленности в центральных районах России, транспортом и переработкой древесины [Давыдов, 2006 (Davydov, 2006)]. Так, предприятия переработки древесины и производства бумаги послужили важным источником как эвтрофирующего, так и токсичного загрязнения. Исследованиям биологического действия и экологических последствий такого рода загрязнений в первой половине XX века и последующие годы были посвящены работы Я.Я. Никитинского и В.И. Долгова [Никитинский, Долгов, 1913 (Nikitinsky, Dolgov, 1913); Долгов, Никитинский, 1927 (Dolgov, Nikitinsky, 1927)], А.Г. Гусева [Гусев, 1950, 1961, 1967 (Gusev, 1950, 1961, 1967)].

Формы и источники загрязнения водной среды неоднократно рассматривались и систематизировались в работах Е.А. Веселова (Веселов, 1948, 1953, 1971, 1978 (Veselov, 1948, 1953, 1971, 1978)).

Выдающийся вклад в развитие проблемы исследования последствий загрязнения водной среды в нашей стране внес Николай Сергеевич Строганов – основоположник и создатель нового направления в гидробиологии – водной токсикологии. Им сформулированы задачи этой новой науки, введен сам термин “водная токсикология” [Строганов, 1968a,б; 1970 (Stroganov, 1968a,b; 1970)]. Исследования в этом направлении под влиянием идей профессора С.Н. Скадовского в области физико-химической биологии были начаты Н.С. Стро-

гановым ещё в 1932 году, т.е. задолго до того, как стал очевидным глобальный масштаб вреда, наносимого окружающей среде антропогенным загрязнением. Обобщающая работа “Токсикология водных животных в связи с действием промышленных сточных вод на водоем” была опубликована им в “Зоологическом журнале” в 1940 г. [Строганов, 1940 (Stroganov, 1940)]. В 1941 г. Н.С.Строганов совместно с А.Т. Пожитковым подготовил первую в СССР монографию, где были обоснованы принципиально новые пути дальнейших исследований в этой области [Строганов, Пожитков, 1941 (Stroganov, Pozhitkov, 1941)].

Уже в 1941 г. Николай Сергеевич впервые ввел в токсикологические исследования представление о биологической норме, критерием которой может служить сохранение вида, т.е. уже в то время он закладывал экологический подход в оценках антропогенного влияния на окружающую среду. На этой основе было сформулировано понятие “биологического критерия токсичности” [Строганов, 1968a (Stroganov, 1968a)], обсуждалось представление о “норме и патологии” [Строганов, 1983 (Stroganov, 1983); Камшилов, 1983 (Kamshilov, 1983)] на всех уровнях биологической организации живого (“от суборганизменного до экосистемного”). Все эти вопросы выходят за рамки проблемы только водной токсикологии и имеют общебиологическое значение.

Конкретно и с учетом перспективы задачи и проблемы водной токсикологии были сформулированы им в программном докладе “Загрязнение вод и задачи водной токсикологии” на 1-й Всесоюзной конференции по водной токсикологии в 1968 г. [Строганов, 1968a (Stroganov, 1968a)]. С биологической точки зрения Н.С. Строганов чистой считал ту воду, “в которой могут нормально существовать полезные для человека биоценозы и которая не приносит вреда человеку ни прямо, ни косвенно”. В этой формуле вода и населяющие ее биоценозы однозначно связаны с нуждами человечества.

Среди первоочередных стратегических задач этого направления исследований Николай Сергеевич выделял такие основополагающие с точки зрения общей биологии вопросы, как мишени воздействия чужеродных веществ, функционирование систем регуляции организма в условиях интоксикации, связь между химической природой вещества и его биологическим действием, между уровнем организации гидробионтов и их отношением к воздействию токсикантов, критерии нормы и патологии

организма, соотношение материальной и функциональной кумуляции при токсическом действии, привыкание и адаптация к ядам, отдаленные последствия хронического действия загрязнения на водные экосистемы. Все эти вопросы остаются актуальными и в настоящее время.

Экологический подход всегда проходил красной нитью через представления Николая Сергеевича, в том числе и о задачах водной токсикологии. В частности, он считал необходимой оценку эффектов воздействия токсического фактора на все основные звенья экосистемы, сохранение биологической нормы помимо хозяйственной, учет влияния сопутствующих факторов среды в условиях интоксикации, необходимость установления чувствительности организма в онтогенезе. Н.С. Строганов ввел представление о деградации водных экосистем в условиях загрязнения. Наряду с “нормой организма” он ставил вопрос об “экологической норме” и пределах допустимых изменений в экосистеме в условиях загрязнения.

Формулируя понятие биологического критерия токсичности, принципы построения главной методики в водной токсикологии основное внимание он уделял оценке жизнеспособности (выживаемость, размножение, плодовитость и качество потомства) полезных для человека гидробионтов [Строганов, 1941 (Stroganov, 1941)]. При этом ценность организмов определялась их ролью в трансформации вещества и энергии в водных экосистемах, обеспечении человека чистой водой и промышленной продукцией. Этот принцип в наше время стал основополагающим в оценках экологического эффекта факторов окружающей среды, является очевидным и кажется естественным. То, что даже администраторам и руководителям производств сейчас кажется очевидным, Николаю Сергеевичу приходилось доказывать некоторым специалистам-экологам.

В итоге из эпизодических исследований и несистематизированных представлений было сформировано актуальное научное направление, имеющее определенный предмет, цели, задачи, методы исследования.

В дальнейшем им были разграничены понятия биологической и хозяйственной нормы, путаница в которых долгое время приводила к острым дискуссиям о разграничении компетенции водной токсикологии и санитарной гидробиологии [Винберг, 1972 (Vinberg, 1972); Семерной, 2002 (Semernoi, 2002)], ихтиотоксикологии [Лукьяненко, 1967, 1983 (Lukyanenko, 1967, 1983)], альготоксикологии

[Брагинский, 1975 (Braginsky, 1975)] и пр. Представления о компетенции каждой из дисциплин со временем корректировались, акценты смещались. Так, если первоначально санитарной гидробиологии отводили проблематику химического загрязнения вод [Жадин, 1967 (Zhadin, 1967)], то со временем оказалось, что помимо химического загрязнения, на качество воды могут влиять такие факторы, как тепловое загрязнение, мелиоративные и строительные работы, последствия действия которых также должны находиться в поле зрения этой дисциплины и которые могут быть выделены в более конкретные направления ее интересов [Винберг, 1972 (Vinberg, 1972)]:

1. Изучение биологического самоочищения вод, его количественная оценка с попытками моделирования и управления.

2. Биологическая индикация качества вод с математической интерпретацией результатов анализа.

3. Определение закономерностей органолептических качеств воды.

4. Усовершенствование, интенсификация и поиск рентабельных методов искусственной биологической очистки сточных вод.

5. Разработка новых эффективных приемов и методов для санитарно-гидробиологических исследований.

Помимо химического загрязнения, на качество воды могут влиять тепловое загрязнение, мелиоративные и строительные работы, последствия действия которых также должны находиться в поле зрения этой дисциплины.

Таким образом, санитарная гидробиология – это часть общей санитарии, сугубо медицинской дисциплины, занимающейся изучением и разработкой теоретически обоснованных требований общественной гигиены и практическим проведением санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий. В связи с этим, санитарная гидробиология представляет собой вспомогательную дисциплину практической направленности, призванную решать частные проблемы, связанные с неблагоприятными для человека (но не водной биоты) последствиями антропогенной деятельности. Задачей санитарной гидробиологии является обеспечение условий сохранения качества водной среды и продукции с позиций хозяйственной нормы независимо от фактора, способного их нарушить. Особое внимание уделяется роли водных организмов в формировании качества водной среды.

Наряду с фундаментальными задачами в

области водной токсикологии Н.С. Строгановым были обозначены и первоочередные ее прикладные задачи, которые и в настоящее время служат основой системы эколого – рыбохозяйственного нормирования, токсикометрического биотестирования, борьбы с вредными организмами.

Различные аспекты проблемы влияния загрязнения на качество воды, как среды обитания, состояние населения вод и водные сообщества находили отражение в трудах видных советских и российских исследователей: А.Г. Гусева [Гусев, 1950, 1961, 1967, 1970 (Gusev, 1950, 1961, 1967, 1970)], Л.П. Брагинского [Брагинский, 1968, 1970, 1972, 1975 (Braginsky, 1968, 1970, 1972, 1975)], Л.А. Лесникова [Лесников, 1968, 1974, 1977] (Lesnikov, 1968, 1974, 1977)], Б.А. Флерова [Флеров, 1974, 1977, 1989 (Flerov, 1974, 1977, 1989)], О.Г. Миронова [Миронов, 1967, 1968, 1969, 1973 (Mironov, 1967, 1968, 1969, 1973)], С.А. Патина [Патин, 1979, 1997 (Patin, 1979, 1997)]; Л.В. Михайловой [Михайлова, 1991, Михайлова, Исаченко-Боме, 2012 (Mikhailova, 1991, Mikhailova, Isachenko-Bome, 2012)].

Изучение молекулярных, биохимических, физиологических механизмов, выявление биомаркеров токсического действия проводилось и проводится в ряде организаций, сформировавших авторитетные школы [Флеров, 1989 (Flerov, 1989); Сидоров и др., 2002, 2003 (Sidorov et al., 2002, 2003); Немова и др., 2002 (Nemova et al., 2002); Руднева, Жерко, 2000 (Rudneva, Zherko, 2000); Руднева, 2016 (Rudneva, 2016), Лукьянова, 2001, 2014 (Lukianova, 2001, 2014); Лапирова, 2014 (Lapirova, 2014); Козловская и др., 1983 (Kozlovskaya et al., 1983); Козловская, Чуйко, 1985 (Kozlovskaya, Chuiko, 1985); Kozlovskaya, Mayer, 1984; Чуйко, 2014, 2017 (Chuyko, 2014, 2017), Chuiko, 2000; Chuyko, 1987].

Все прошедшие годы предпринимались шаги по сближению лабораторных и натурных исследований. Практиковались исследования на модельных экосистемах, микрокосмах, мезокосмах [Щербань, 1969 (Scherban, 1969); Биологические процессы, 1984 (Biologicheskie protsessy, 1984); Брагинский, 1986 (Braginsky, 1986); Михайлова, Исаченко-Боме, 2012 (Mikhailova, Isachenko-Bome, 2012)].

Приоритетным результатом прикладных разработок водной токсикологии служит установление биологически обоснованных лимитов загрязнения водной среды – предельно-допустимых концентраций (ПДК) загрязняю-

щих веществ. Эти лимиты были предназначены для охраны всего населения вод и, в отличие от “гигиенических” нормативов [Предельно-допустимые концентрации..., 1998 (Predelno-dopustimyye kontsentratsii... 1998)], называются “рыбохозяйственными”. Нормирование загрязнения водной среды долгое время остается объектом разнонаправленной критики. С одной стороны, его обвиняли в ужесточении требований к хозяйственной деятельности [Максименко и др., 2015 (Maksimenko et al., 2015)], а с другой стороны – практику нормирования упрекали в недостаточной экологичности и фактической легализации загрязнения [Левич и др., 2011 (Levich et al., 2011)].

В основу действующей методической схемы установления лимитов были положены следующие принципы [Методические указания..., 1998 (Metodicheskie ukazaniia..., 1998), Филенко, 2008 (Filenko, 2008); Филенко, Медянкина, 2011 (Filenko, Mediankina, 2011)]:

1. Защите подлежит многокомпонентная в экологическом отношении система, где основные элементы должны быть защищены постоянно.

2. Водная экосистема при загрязнении теряет стабильность в результате последовательного выпадения самых чувствительных звеньев. Поэтому при определении допустимых уровней для каждого компонента и системы в целом необходимо ориентироваться в эксперименте на самое чувствительное звено в ассортименте контролируемых показателей эффекта.

3. В процессе экспериментальных оценок токсичности испытания должны быть в обязательном порядке проведены хотя бы на одном представителе каждой из основных экологических групп водного сообщества.

4. Получаемые в процессе токсикометрических исследований результаты должны быть воспроизводимы. В связи с чем при установлении лимитов качества водной среды должны быть использованы тест-объекты из контролируемых культур.

5. Показатели эффекта вещества разграничиваются на основные (или интегральные) и вспомогательные (или частные).

6. Действующими считаются концентрации, вызывающие как токсический, так и эвтрофирующий эффект.

7. Нормативы в качественном и количественном отношении должны обеспечиваться химико-аналитической базой в настоящий момент или в ближайшей перспективе.

8. Для каждого из химических соединений может быть установлена только одна ве-

личина эколого-рыбохозяйственного норматива (за исключением случаев, предусмотренных условиями регионального нормирования).

9. Уровень токсикорезистентности культур и выборки тест-объектов, используемых при установлении лимитов, может со временем меняться в связи с изменением внешних условий и внутренних свойств организмов. Поэтому он периодически должен контролироваться по действию на них токсиканта сравнения, для чего определяется ЭК₅₀ для этого токсиканта за 48 ч. В качестве токсиканта сравнения рекомендован бихромат калия.

Экспериментальные исследования по разработке ПДК могут быть дополнены натурными исследованиями при появлении сведений, подтверждающих такую необходимость.

С учетом этих требований методическая схема предусматривает проведение хронических испытаний действия обследуемого вещества на основные трофические и систематические группы гидробионтов “от бактерий до рыб”. Таким образом, обеспечивается, насколько возможно, экологическая надежность устанавливаемых критериев и предполагается возможность воспроизводимости результатов. На сегодняшний день определены рыбохозяйственные ПДК более чем для тысячи веществ.

В качестве альтернативы экспериментальному установлению ПДК рассматривается возможность нормирования на основе наблюдений *in situ* на загрязняемых водоемах [Константинов, 1986 (Konstantinov, 1986); Булгаков и др., 1997 (Bulgakov et al, 1997); Левич, Терехин, 1997 (Levich, Tereochin, 1997); Левич и др., 2010 (Levich et al., 2010)]. С учетом многообразия условий природной среды для каждого загрязняющего вещества предполагается установление множества нормативов для различных водных объектов (и их частей), стоков разного состава и климатических условий. Однако на основе этой концепции до сегодняшнего дня не предложено обоснованного норматива ни для одного из загрязняющих веществ.

Вместе с тем, проблема необходимости регионального нормирования становится все более актуальной, и хотя в существующих методических рекомендациях прописана техника установления региональных ПДК [Методические указания по разработке нормативов качества воды..., 2011 (Metodicheskiye ukazaniya..., 2011)], на сегодняшний день остаются такие организационные проблемы, как необходимость создания множества местных экспери-

ментальных лабораторий и определение границ регионов, для которых такие ПДК устанавливаются.

С самого начала своего становления как научного направления водная токсикология ставила своей основной задачей изучение влияния загрязняющих веществ на водные организмы. Практически одновременно с этим формировалось понимание того, что ответные реакции биологических систем на загрязнение на разных уровнях биологической организации могут быть использованы как эффективный инструмент для оценки степени негативного воздействия загрязнения и на водные экосистемы, а также для нормирования содержания загрязняющих веществ в водной среде, осуществления экологического мониторинга и прогнозирования экологических рисков и т.д. К настоящему времени сложилось понимание принципов построения системы комплексной оценки экологического состояния водных объектов. Такая система должна включать анализ абиотических факторов и эффектов их действия на биоту.

Для качественной и количественной оценки действия абиотических факторов окружающей среды используются аналитические физико-химические методы, а для оценки интенсивности их воздействия на биоту по её реакциям на разных уровнях биологической организации – методы биодиагностики [Чуйко, 2017 (Chuiiko, 2017)].

Экологическая биодиагностика использует методы биотестирования и биоиндикации по видовым и индивидуальным характеристикам водного населения, в частности – по биомаркерам. Главное преимущество биодиагностики перед физико-химическими методами анализа – способность выявить биологические последствия действия отдельно взятого стресс-фактора или их совокупности.

Биотестирование позволяет оценить токсичность воды и донных отложений по общим биологическим реакциям организма (выживаемость, размножение, рост, двигательная активность и т.п.) с использованием лабораторных культур тест-организмов разных экологических уровней (микроорганизмы, простейшие, одноклеточные водоросли, беспозвоночные, икра, мальки и взрослые рыбы). Разработка и развитие методов биотестирования проводился большим коллективом отечественных водных токсикологов при решающем участии Н.С. Строганова [Критерий токсичности..., 1971 (Kriterii toksichnosti, 1971)]. Тест-

объекты, как для нормирования, так и для токсикологического контроля среды, выбирались на основе комиссионных испытаний и то, что было предложено в то время, остается на вооружении и служит основой развития идеи и на сегодняшний день [Методическое руководство ..., 1991 (Metodicheskoe rukovodstvo ..., 1991)]. За последующие годы было предложено множество методических подходов и тест-объектов. Некоторые из них используются для решения практических задач. Но, по-прежнему, их относительная чувствительность и информативность соотносятся с показаниями методов, для разработки которых решающее значение имеют принципы, предложенные Н.С. Строгановым [Методы биотестирования вод, 1988 (Metody biotestirovaniya vod, 1988); Методы биотестирования качества водной среды, 1989 (Metody biotestirovaniya kachestva vodnoi sredy, 1989); Руководство по определению ..., 2002 (Rukovodstvo po opredeleniyu ..., 2002)]. Великолепным примером комплексного применения биотестирования для контроля качества сточных вод в производственных условиях могут служить разработки А.Л. Бурковского [Бурковский, 1971, 1975 (Burkovsky 1971, 1975)]. В связи с возможностью особо опасных залповых выбросов особую актуальность приобретает остаются проблема контроля токсичности «в протоке» [Холодкевич, 2006 (Kholodkevich, 2006); Кузнецова и др., 2014 (Kuznetsova et al., 2014); Петросян и др. 2015 (Petrosian et al., 2015)].

Все больше внимания в последнее время уделяется и оценке последствий загрязнения донных осадков, как важнейшему звену в распределении и трансформации загрязняющих веществ в водных экосистемах [Михайлова, Исаченко-Боме, 2014 (Mikhailova, Isachenko-Bome, 2014); Степанова, 2014 (Stepanova, 2014) и др.].

Биоиндикация – обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик различных биоценозов гидробионтов [Никаноров, Иваник, 2014 (Nikanorov, Ivannik, 2014)]. Наряду с системами сапробности предпринимались попытки развития оценок качества вод по показателям токсичности [Брагинский, 1985 (Braginsky, 1985)].

Биоиндикация характеризуется достаточно большим временем запаздывания ответных реакций надорганизменных биосистем (попу-

ляция, сообщество, экосистема) на действие стресс-фактора от нескольких недель до нескольких лет. В то же время она даёт возможность более адекватно и надёжно оценить изменения в экосистемах, произошедших за длительный промежуток времени действия негативного фактора, спрогнозировать варианты дальнейшего развития экосистем, т.е. биоиндикация имеет высокую экологическую значимость. Новым инструментом биоиндикации в последние годы становится биомаркирование.

Биомаркирование служит для оценки интенсивности воздействия этих факторов на состояние здоровья гидробионтов с использованием биомаркеров – морфофункциональных показателей, регистрируемых на суборганизменном и организменном уровнях биологической организации, таких как молекулярно-генетический, биохимический, физиологический и гистологический [Лукьянова, 2001 (Lukyanova, 2001); Немова, Высоцкая, 2004 (Nemova, Vysotskaya, 2004); Чуйко, 2014 (Chuiiko, 2014), Adams, 2002].

Биомаркирование, в идеале, должно обеспечивать оперативность ответа – от нескольких минут до нескольких дней, высокую чувствительность и достаточную специфичность, т.е. возможность зарегистрировать происходящие в биологической системе изменения на ранних этапах действия факторов при их низкой интенсивности и при этом идентифицировать природу стресс-фактора. В отношении ксенобиотиков (соединений, имеющих чужеродное для организма происхождение) – это выявление их действия на организм при хронических экспозициях в сублетальных дозах, когда другими методами зарегистрировать его не представляется возможным, и установление природы действующего вещества (тяжелые металлы, фосфорорганические пестициды, хлорорганические соединения, полициклические ароматические углеводороды и т.д.). Однако экологическая значимость ответа биомаркеров не столь очевидна [Чуйко, 2014, 2017 (Chuiiko, 2014, 2017); Triebkorn, 2003].

В основе системы комплексной оценки экологического состояния водных объектов лежит концепция связи дозы (концентрации) воздействующего фактора со степенью выраженности ответной биологической реакции биоты и причинно-следственных связей биологических ответов на разных уровнях биологической организации. При этом данные методы оценки не конкурируют, а взаимно дополняют друг друга. Каждый из них имеет свои

преимущества, и только их использование в комплексе может дать полную картину экотоксикологического состояния водного объекта.

Особенно наглядно недопонимание необходимости такой комплексности проявляется при дискуссиях о приоритетах нормирования, биотестирования или биоиндикации, хотя очевидно, что каждое из этих направлений занимает свое место в системе ограничения загрязнения. Нормирование выполняет профилактическую функцию, упреждая экологически опасное загрязнение. ПДК вещества должна быть установлена до начала его поступления в окружающую среду. Биотестирование выполняет функцию тактического контроля происходящего загрязнения, нацеленного на получение быстрого сигнала о токсичности и необходимой степени разбавления конкретных стоков. На водном объекте оно может быть эффективным с момента начала загрязнения до его завершения. Биоиндикация выявляет результат произошедшего вредоносного воздействия на окружающую среду. Может применяться на экологическом объекте постоянно, но эффективность его станет очевидной только при начале неблагоприятных экологических изменений. Эти три элемента общей природоохранной стратегии дополняют, но не способны заменить друг друга [Филенко, 2007а–б; (Filenko, 2007a–b)].

Помимо природоохранной проблематики водная токсикология служит научной основой для разработки биоцидов, предназначенных для подавления развития в водной среде вредоносной или сорной флоры и фауны. Так, известны исследования по разработке альгицидов и сляймицидов, применяемых при водоподготовке [Брагинский, 1972 (Braginsky, 1972); Гусева, 1952 (Guseva, 1952)], ларвицидов, используемых для борьбы с кровососами и переносчиками заболеваний [Химические методы..., 2000 (Chemical methods..., 2000)], ихтиоцидов для удаления сорных видов рыб [Перевозников М.А. 1985 (Perevoznikov 1985)], средств борьбы с биологическими обрастаниями и повреждениями материалов в водной среде [Лебедева, 1987 (Lebedeva 1987); Лебедева и др., 1971 (Lebedeva et al. 1971); Раилкин и др., 1990 (Railkin et al. 1990); Горбенко др., 1991 (Gorbenko et al. 1991)].

Общественно-политические и экономические события последних десятилетий привели к резкому сокращению числа организаций и специалистов, проводящих исследования в области биологических и экологических послед-

ствий загрязнения на окружающую среду. В текущий момент происходит реконструкция этого направления под давлением требований практики и обостряющейся экологической ситуации в нашей стране. В новой системе представлений все чаще встает проблема единого экологического нормирования, в котором именно процессам в водной среде отводится определяющая роль.

Опыт прошедших в последние годы тематических форумов свидетельствует, что актуальность проблематики водной токсикологии не снижается. Так, в последнее десятилетие проведены всероссийские конференции по водной экотоксикологии, посвященные памяти Б.А. Флерова, “Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы” (ИБВВ РАН, 2002, 2005, 2008, 2011, 2014 гг.), международная конференция “Биодиагностика–13” и симпозиум “Биодиагностика–16”, (МГУ, 2013, 2016 гг.). В ходе обсуждений на симпозиумах и конференциях было уделено внимание методологии экологической оценки последствий загрязнения и концепции экологического нормирования, характеристике источников воздействий, подлежащих контролю, их влиянию на экологическое качество почв, водной и воздушной сред, результатам зоо-, фито- и микробиотической, а также молекулярно-генетической индикации природных сред в естественных, агро- и урбоэкосистемах. Были подняты вопросы информативности и воспроизводимости результатов биотестирования в разных областях применения, подходов к интеграции данных химических, токсикологических и экологических исследований для построения системы экологического нормирования [Григорьев и др., 2014 (Grigorev, 2014)]

Расширяется круг потенциальных загрязнителей водной среды, подлежащих токсикологическим исследованиям, в том числе наноматериалов [Кукла и др., 2014 (Kukla et al., 2014); Томилина и др., 2014 (Tomilina et al., 2014); Ипатова и др., 2016 (Ipatova et al., 2016)], лекарственных средств [Баренбойм, Чиганова, 2014 (Barenboim, Chiganova, 2014)].

В связи с тем, что биотестирование стало

универсальным инструментом оценки качества среды, более конкретными становятся вопросы принципов отбора и применения биологических и экологических систем в нормировании качества среды, в токсикологическом контроле и биоиндикации, стандартизации методов и измерений. Особое внимание уделено проблемам создания единой базы стандартизованных тест-культур, необходимых для практического контроля токсичности объектов окружающей среды.

Представленная в этой статье ретроспектива призвана показать, как из энтузиазма первых исследователей – поборников защиты водной среды от загрязнения сформировалось актуальное многоплановое научно - прикладное направление – «водная токсикология», послужившее, в свою очередь, основой для возникновения и развития «водной экотоксикологии».

Водная токсикология иногда отождествляется с экотоксикологией. Впервые, экотоксикология, как исследовательское направление, была выделена Р. Трюо [Truhaut, 1975]. Применительно к водной среде рассматривается водная экотоксикология [Моисеенко, 2009 (Moiseenko, 2009)]. Однако, кратко сферу компетенции водной экотоксикологии можно определить следующим образом. Водная экотоксикология – та часть экологии, которая исследует вопросы, связанные с появлением в экосистемах потенциально токсичных веществ, та часть общей токсикологии, которая исследует взаимовлияния водных организмов и сообществ с потенциально токсичными веществами, и, наконец, та часть водной токсикологии, которая посвящена природоохранным аспектам загрязнения водной среды токсичными веществами.

Естественно, что ограниченный объем этой статьи не дает возможности более подробно остановиться на последовательных этапах развития проблематики, имеющей отношение к загрязнению водной среды, и отметить всех исследователей, внесших вклад в формирование современного образа российской водной экотоксикологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арнольд И.Н.. О влиянии нефти на рыб // Вестн. рыбопром. 1897. № 4. С. 167–196.
Арнольд И.Н. Новые исследования над влиянием нефти на животный организм // Вестн. рыбопром. 1900. № 1. С.15–27.
Баренбойм Г.М., Чиганова М.А. Загрязнение водных объектов Подмоскovie лекарствами, их метаболитами, другими ксенобиотиками с фармакологической активностью: проблемы и пути решения // Вестник Российской академии естественных наук. 2014. № 2. С. 97–103.

- Биологические обрастания в системе питьевого и технического водоснабжения и методы борьбы с ними. М.: Наука, 1969. 110 с.
- Биологические процессы в загрязненных модельных водоемах. М: Изд-во МГУ, 1984. 193 с.
- Брагинский Л.П. Пестициды новый токсический фактор водной среды // Гидробиол. журн. 1968. Т. 4. № 1. С. 85–93.
- Брагинский Л.П. Проблема пестицидов в водной токсикологии // Вопросы водной токсикологии. М.: Наука, 1970. С.81–88.
- Брагинский Л.П. Пестициды и жизнь водоемов. Киев: Наукова думка, 1972. 201 с.
- Брагинский Л.П. Экологические подходы к исследованию механизмов действия токсикантов в водной среде // Формирование и контроль качества поверхностных вод. Киев: Наукова думка, 1975. Вып. 1. С. 5–15.
- Брагинский Л.П. Некоторые закономерности и механизмы реагирования пресноводной экосистемы на воздействие пестицидов и поверхностно-активных веществ // Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне, 1986. Вып. 11. С. 7–22.
- Булгаков Н.Г., Левич А.П., Максимов В. Прогноз состояния экосистем и нормирование факторов среды в водных объектах Нижнего Дона // Известия РАН. Сер. биол. 1997. № 3. С. 374–379.
- Бурковский А.Л. Биологический контроль сточных вод на промышленном предприятии // Критерий токсичности и принципы методик по водной токсикологии. М.: Изд. МГУ, 1971. С.256–259.
- Бурковский А.Л. Разработка метода эффективного биоконтроля сточных вод промышленного предприятия // Проблемы водной токсикологии. Тез. докл. III Всесоюз. научн. конф. по водной токсикологии. Петрозаводск: Изд. УОП КФ АН СССР, 1975. Ч. 2. С. 246–249.
- Бэр К.М. Исследования о состоянии рыболовства в России. Т. 2. С.-Пб.: Министерство государственных имуществ, 1860.
- Веселов Е.А. Влияние на рыб загрязнения воды нефтью // Рыбн. хоз-во СССР. 1948. № 12. С.21–23.
- Веселов Е.А. Опыт классификации промышленных сточных вод по их действию на ихтиофауну, в связи с основными задачами рыбохозяйственной токсикологии // Учен. зап. КФГУ. 1953. Т.5. Вып. 3. С.130–170.
- Веселов Е.А. Классификация сточных вод и их компонентов по их действию на водоемы и водные организмы // Изв. ГосНИОРХ. 1971. Т.78. С. 43–77.
- Веселов Е.А. Обзор методов водной токсикологии // Проблемы водн. токсикологии. Петрозаводск: ПГУ, 1978. С.5–31.
- Винберг Г.Г. Значение гидробиологии в решении водохозяйственных проблем // Теория и практика биологического самоочищения загрязненных водоемов. М.: Наука, 1972. С. 7–12.
- Горбенко Ю.А., Ковальчук Ю.Л., Крышев И. . Действие противообрастаемых красок на морских объектах. Киев: Наукова думка, 1991. 100 с.
- Григорьев Ю.С., Шашкова Т.Л., Стравинскене Е.С. Биотестирование в системе экологического мониторинга качества вод: решаемые задачи и условия, обеспечивающие получение воспроизводимых результатов // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября –1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 130–132
- Гримм О.А. О губительном влиянии нефти на рыб и мерах противодействия этому // Вестн. рыбопром. 1891. Т.6. Вып.12. С. 379–382.
- Гримм О.А. Опасность заражения Волги нефтью // Вестн. рыбопром. 1904. № 1. С.82.
- Гусев А.Г. Загрязнение рыбопромысловых водоемов лесосплавом // Вестн. ЛГУ. 1950. № 8. С.216–221.
- Гусев. А.Г. Влияние промышленных вод на рыбное хозяйство водохранилищ // Изв. ГосНИОРХ. 1961. Т.50. С.411–428.
- Гусев. А.Г. Влияние сточных вод и лесосплава на рыбохозяйственные водоемы и ущерб, наносимый загрязнением рыбной промышленности СССР// Изв. ГосНИОРХ. 1967. Т. 66. С. 4–51.
- Гусев. А.Г. Состояние и перспективы научно-исследовательских работ по проблеме охраны рыбохозяйственных водоемов от загрязнения // Вопросы водной токсикологии. М.: Наука, 1970. С.24–32.
- Гусева К.А. Цветение воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ним // Труды Всес. Гидробиол. о-ва. 1952. Т. 4. С. 3–92.
- Давыдов А.Н. Борьба вокруг экологических последствий предпринимательской деятельности в московском промышленном районе в начале XX в. // Вестник РУДН. Серия: История России. 2006. №1 (5). С. 116–124.
- Долгов Г.И., Никитинский Я.Я. Гидробиологические методы исследования // Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод. М.: Мосполиграф, 1927. С. 1–76.
- Жадин В.И. Проблемы санитарной гидробиологии внутренних водоемов // Санитарная и техническая гидробиология. Материалы I съезда Всесоюз. гидробиол. об-ва. М.: Наука, 1967. С. 5–18.
- Ипатова В.И., Дмитриева А.Г., Дрозденко Т.В. Сравнительная токсичность солей и наночастиц серебра для микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* // Токсикологический вестник. 2016. № 2. С. 45–52.
- Камшилов М.М. Норма и патология в функционировании водных экосистем // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. М.: Наука, 1983. С.22–25.

- Козловская В.И., Степанова В.М., Чуйко Г.М. Обратимость интоксикации карпа карбофосом // Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983. С.191–198.
- Козловская В.И., Чуйко Г.М. Изменения активности ацетилхолинэстеразы мозга окуня (*Perca fluviatilis* L) под воздействием хлорофоса // Гидроб. журн. 1985. Т. 21. №5. С.49–53.
- Константинов А. С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа, 1986. 472 с.
- Критерий токсичности и принципы методик по водной токсикологии. М: Изд-во МГУ, 1971. 308 с.
- Кузнецова Т.В., Холодкевич С.В., Куракин А.С. In situ измерения кардиоактивности местных видов макробентосных беспозвоночных в оценке биологических эффектов загрязняющих веществ на гидробионтов // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября –1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 58–61.
- Кукла С.П., Слободскова В.В., Журавель Е.В., Челомин В.П. Оценка генотоксичности наночастиц на морских гидробионтов с помощью метода ДНК-комет // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 65–69
- Купцис И. Д. Дальнейшие исследования относительно вредных свойств нефти и ее продуктов для рыб и животных. Материалы по вопросу о необходимости ограждения Волги и других русских рек от загрязнения нефтяными продуктами с санитарной точки зрения. Дисс. на степень магистра фармации. С.-Пб.: Тип. В. Демакова, 1901. 125 с.
- Лапирова Т.Б. Динамика физиолого-биохимических показателей перловицы обыкновенной в условиях кадмиевой интоксикации // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 69–72.
- Лебедева Г.Д. Биологическое повреждение материалов и водная токсикология // Изучение процессов морского биообращения и разработка методов борьбы с ним. Л.: АН СССР, 1987. С.12–17.
- Лебедева Г.Д., Дзюбан Н.А., Зевина Г.Б., Кирпиченко М.Я., Кудинова-Пастернак Р.К., Лебедев Е.М. Биоповреждения материалов и изделий в пресных и морских водах (справочник) // М: Изд-во МГУ, 1971. 260 с.
- Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н. Рисник Д.В. In situ-технология установления локальных экологических норм // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. М: Товарищество научных изданий КМК, 2011. С. 30–55.
- Левич А.П., Булгаков Н.Г., Рисник Д.В., Милько Е.С. Экологический контроль окружающей среды по данным биологического и физико-химического мониторинга природных объектов // Компьютерные исследования и моделирование. 2010 Т. 2. № 2. С. 199–207.
- Левич А.П., Терехин А.Т. Метод расчета экологически допустимых уровней воздействия на экосистемы (метод ЭДУ) // Водные ресурсы. 1997. №3. С.328–335.
- Лесников Л.А. Особенности рыбохозяйственной оценки влияния загрязнений на водоемы по гидробиологическим данным // Материалы XIV конф. по изучению внутренних водоемов Прибалтики. Рига: Зинатне, 1968. Т. 2. С. 87–91
- Лесников Л.А. Охрана водоемов от загрязнения с позиций рыбного хозяйства // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т. 98. С. 3–7.
- Лесников Л.А. Пестициды и оценка их влияния на рыбохозяйственные водоемы // Изв. ГосНИОРХ. 1977. Т. 121. С. 3–7.
- Лесников Л.А., Врочинский К.К. Классификация пестицидов с рыбохозяйственных позиций // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т. 98. С. 9–13.
- Лукьяненко В.И. Токсикология рыб. М.: Пищевая промышленность, 1967. 216с.
- Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 320 с.
- Лукьянова О.Н. Молекулярные биомаркеры. Владивосток: изд-во ДВГАЭУ, 2001. 196 с.
- Лукьянова О.Н. Интегральный биохимический индекс состояния морских организмов в условиях загрязнения // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: материалы V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 75–78.
- Максименко Ю.Л., Кучкаров З.А., Горкина И.Д. Научные проблемы нормирования состава сточных вод. 2015, <http://oaji.net/articles/2016/245-1466682638.pdf>
- Махнев П.П., Бекренев А.В., Бакланов В.С., Холодкевич С.В., Иванов А.В., Донченко В.К., Куракин А.С., Корниенко Е.А., Федотов В.П. Система обеспечения безопасности водоснабжения на водопроводных станциях Санкт-Петербурга // Водоснабжение и санитарная техника. 2006. № 9. Ч. 1. С. 6–15.
- Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. 145 с.
- Методическое руководство по биотестированию воды РД 118-02-90. М.: Госкомприрода СССР. 1991. 48 с.
- Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. 128 с.
- Методы биотестирования качества водной среды. М.: МГУ, 1989. 124 с.

- Миронов О.Г. Действие малых концентраций нефти и нефтепродуктов на развивающуюся икру черноморской камбалы калкана // Вопросы ихтиологии. 1967. №7. Вып. 3 (44). С. 577–581.
- Миронов О.Г. Нефтяная угроза морской фауне // Природа. 1968. № 2. С.80–84.
- Миронов О.Г. Развитие некоторых черноморских рыб в морской воде, загрязненной нефтепродуктами // Вопросы ихтиологии. 1969. Т.9. Вып.6 (59). С.1136–1139.
- Миронов О. Г. Нефтяное загрязнение и жизнь моря. Киев: Наукова думка, 1973. 85 с.
- Михайлова Л.В. Современный гидрохимический режим и влияние загрязнений на водную экосистему и рыбное хозяйство Обского бассейна (обзор) // Гидробиол. журн., 1991. Т. 27. № 5. С.80–90.
- Михайлова Л.В., Исаченко-Боме Е. . Разработка и апробация норматива содержания нефти в донных отложениях поверхностных водных объектов // Водные ресурсы. 2012. Т. 39. № 5. С.530–542.
- Михайлова Л.В., Исаченко-Боме Е.А. Натурное моделирование нефтяного загрязнения донных отложений (ДО) с целью апробации установленного норматива // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы. Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С.152–156.
- Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 316 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. Эколого-биохимическое тестирование водоемов по состоянию рыб// Научные аспекты экологических проблем России. М.: Наука, 2002. Т. 1. С. 215–220.
- Никаноров А.М., Иваник В.М. Словарь-справочник по гидрохимии и качеству вод суши. Ростов-на-Дону: ООО “Центр Печатных Технологий АртАртель”, 2014. 548 с.
- Никитинский Я.Я., Долгов В.И. Отчет микробиологической лаборатории. Отчет временного комитета по изысканию мер к охране водоемов Московского промышленного района от загрязнения сточными водами и отбросами фабрик и заводов за 1912 год. М.,1913.
- Никольский А.М. К вопросу о влиянии нефтяных остатков на размножение рыбы // Рыбное дело. 1893а. № 3. С. 31–33.
- Никольский А.М. О значении нефти в жизни рыб р.Волги // Рыбное дело. 1893б. № 15. С. 16–17.
- Никольский А.М. Результаты опытов влияния нефти на рыб // Рыбное дело. 1893в. № 16. С. 330.
- Патин С. А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность мирового океана. М.: Пищевая промышленность, 1979. 304с.
- Патин С. А. Экологические проблемы освоения нефтегазовых ресурсов морского шельфа. М.: ВНИРО, 1997. 350 с.
- Перевозников М.А. Теоретические аспекты скрининга, классификации и рыбохозяйственной оценки ихтиоцидов // Сб. научн. трудов ГосНИОРХ. 1985. Вып. № 234. С. 3–12.
- Петросян В.С., Шувалова Е.А., Филенко О.Ф. Выявление пороговых значений концентраций экотоксикантов при мониторинге качества вод методом оптической кардиографии пресноводных моллюсков // Экология и промышленность России. М: Калвис, 2015. Т. 19. № 6. С. 11–16.
- Предельно-допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Гигиенические нормативы. ГН 2.1.5.689-98. Москва. Минздрав России. 1998. 74 с.
- Раилкин А. И., Миничев Ю.С., Серавин Л.Н. Хемобиологическая защита от морского обрастания // Защита судов и технических средств от обрастания. Матер. Всесоюзной научно-технической конференции. Л.: Изд-во “Судостроение”, 1990. С. 66–75.
- Руднева И.И. Экотоксикологические исследования прибрежной черноморской ихтиофауны в районе Севастополя. М: ГЕОС, 2016. 354 с.
- Руднева И.И., Жерко Н.В. Действие полихлорированных бифенилов на антиоксидантную систему и перекисное окисление липидов в гонадах черноморской скорпены *Scorpaena porcus* // Экология. 2000. №1. С. 70–73.
- Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. 118 с.
- Семерной В.П. Санитарная гидробиология. Ярославль: Ремдер, 2002. 147 с.
- Сидоров В.С., Немова Н.Н., Высоцкая Р.У., Феклова Ю.А. Использование биохимических методов при определении ПДК промышленных токсикантов// Прикладная биохимия и микробиология. 2002. Т. 38. №3. С. 345–350.
- Сидоров В.С., Немова Н.Н., Высоцкая Р.У., Такшеев С.А. Вариабельность интегрального биохимического индекса у рыб под влиянием техногенных вод горно-обогатительного комбината // Экология. 2003. Т. 4. С. 280–285.
- Степанова Н.Ю. Нормирование содержания тяжелых металлов в донных отложениях // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы, Матер. V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014 Т. 2. С. 170–172.
- Строганов Н.С. Токсикология водных животных в связи с действием сточных промышленных вод на водоем // Зоол. журн. 1940. Т. 19. № 4. С. 556–579.
- Строганов Н.С. Новые пути решения проблемы действия сточных промышленных вод на водные организмы. М.: МГУ, 1941. 77 с.
- Строганов Н. С. Современные проблемы водной токсикологии // Вестн. МГУ. Сер. Биол. 1960. № 2. С. 3–17.

- Строганов Н. С. Развитие водной токсикологии в СССР // Научн. докл. высш. школы. Биолог. науки. 1967. № 12. С. 7–21.
- Строганов Н.С. Загрязнение вод и задачи водной токсикологии. Тез. докл. на Всесоюз. науч. конф. по вопросам водной токсикологии. МГУ. 30 января – 2 февраля 1968 г. М.: Наука, 1968а. С.7–9.
- Строганов Н.С. О термине “водная токсикология”. Тез. докл. на Всесоюз. науч. конф. по вопросам водной токсикологии. МГУ. 30 января – 2 февраля 1968 г. М.: Наука, 1968б. С.35–37.
- Строганов Н. С. Загрязнение вод и задачи водной токсикологии // Вопросы водной токсикологии. М.: Наука, 1970. С.11–24.
- Строганов Н.С. Методика определения токсичности водной среды // Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971. С.14–59.
- Строганов Н.С. Биологический аспект нормы и патологии в водной токсикологии // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. М.: Наука, 1983. С.5–21.
- Строганов Н.С., Пожитков А.Т. Действие сточных промышленных вод на водные организмы (Новые пути решения проблемы). М: Изд-во МГУ, 1941. 88 с.
- Томилина И.И., Гремячих В.А., Гребенюк Л.П., Головкина Е.И. Токсическое и тератогенное действие металлических наночастиц на гидробионтов различной систематической принадлежности // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: материалы V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). Ярославль: Филигрань, 2014. Т. 2. С. 151–155.
- Филенко О. Ф. Место биологических методов в контроле качества окружающей среды при загрязнении // Биомониторинг в мониторинге пресноводных экосистем. СПб.: ЛЕМА, 2007а. С. 8–12.
- Филенко О. Ф. Биологические методы в контроле качества окружающей среды // Экологические системы и приборы. 2007б. № 6. С. 18–20.
- Филенко О.Ф. Нормирование загрязнения и биотестирования вод: что дальше? // Материалы III Всероссийской конференции “Антропогенное влияние на водные организмы и сообщества”, Борок, 2008, часть 1. С. 148–156.
- Филенко О.Ф., Медянкина М.В. Перспективы эколого-рыбохозяйственного нормирования в России // Матер. IV Всеросс. конф. по водной экотоксикологии “Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы” Борок. 2011 С. 24–29.
- Флеров Б.А. Об использовании в водной токсикологии исследований поведения животных // Гидробиол. журн. 1974. Т. 10. № 5. С.114–120.
- Флеров Б.А. Физиологические механизмы действия токсических веществ и приспособления к ним водных животных // Гидробиол. журн. 1977. Т. 13. № 4. С. 80–85.
- Флеров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных // Л: Наука, 1989. 138 с.
- Хлопин Г.В. Азотистые основания бакинской нефти, её химический состав и физиологические свойства // Вестн. обществ. гигиены, судеб. и практич. медицины. 1900. Июль. С. 1006–1023.
- Хлопин Г.В., Никитин А.Ф. Влияние нефтяных производных на рыбное население рек и на качество их воды // Врач. 1898. № 51. С.1497.
- Холодkevич С.В., Шаров А.Н., Кузнецова Т.В. Перспективы и проблемы использования биоэлектронных систем в мониторинге состояния экологической безопасности акваторий Финского залива // Региональная экология, 2015. № 2 (37). С.16–26.
- Химические методы борьбы с переносчиками и паразитами, имеющими значение для здравоохранения. EUR/01/5015707. WHO. 2000. 140 с.
- Чермак Н.О. О влиянии нефти на рыб // Вестн. рыбопром. 1896. № 1. С. 1–30.
- Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкологической токсикологии: принципы, методы и методология, практика использования // Экологический мониторинг. Часть VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: Учебное пособие. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского госуниверситета, 2014. С. 310–326.
- Чуйко Г.М. Современные подходы использования методов биодиагностики при экотоксикологической оценке водных экосистем // Современные проблемы водохранилищ и их водосборов. Труды VI Междунар. научно-практической конф. (29 мая – 1 июля 2017 г., Пермь). Пермь: Пермский гос. нац. исслед. ун-т, 2017. Т.3. С. 90–94.
- Широкова В.А. Источники по изучению химического состава поверхностных вод бассейна реки Волги (вторая половина XVIII - середина XX в.) // Источники по истории изучения природных ресурсов бассейна реки Волги. Матер. научной конференции. М.: ИИЕТ, 2001. С. 48–81.
- Щербань Э.П. Применение садковой методики при изучении влияния пестицидов на продуктивность планктонных животных // Симпозиум по водной токсикологии. Л: 1969. С. 118–119.
- Adams S.M. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Bethesda, Maryland: Am. Fish. Soc. 2002. 644 p.
- Chuiko G.M. Comparative study of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: specific activities and in vitro inhibition by DDVP, an organophosphorus pesticide // Comp. Biochem. Physiol. 2000. V.127C. № 3. P. 233–242.
- Chuyko G.M. Mechanisms of various resistance of carp (*Cyprinus carpio* L.) and perch (*Perca fluviatilis* L.) to DDVP, an organophosphorus compound // Fate and Effects of Pollutants in Aquatic Organisms and Ecosystems: Proceedings of USA-USSR Symposium. Athens, Georgia. October 19-21, 1987. Athens: EPA, 1988. P. 78–89.

- Kozlovskaya V.I., Mayer F.L. Brain acetylcholinesterase and backbone collagen in fish intoxicated with organophosphate pesticides // J. Great Lakes Res. Internat. Assoc. Great Lakes Res. 1984. V.10 (3). P. 261–266.
- Newman M.C. Fundamentals of ecotoxicology. Boca Roton, London, New York: CRC Press Taylor&Francis Group, 2010. 541 p.
- Triebkorn R., Adam S., Behrens A., Beier S., Böhmer J., Braunbeck T., Casper H., Dietze U., Gernhöfer M., Honnen W., Köhler H.-R., Körner W., Konradt J., Lehmann R., Luckenbach T., Oberemm A., Schwaiger J., Segner H., Strmac M., Schüürmann G., Siligato S., Traunspurger W. Establishing Causality between Pollution and Effects at Different Levels of Biological Organization: The VALIMAR Project // Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. 2003. V. 9. Issue 1. P. 171–194.
- Truhaut R. Eco-Toxicology – Objectives, Principles and Perspectives // Ecotox. Environ. Safety. 1977. V. 1. № 2. P. 151–173.

REFERENCES

- Adams S.M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Bethesda, Maryland: Am. Fish. Soc. 644 p. [In Russian]
- Arnol'd I.N. 1897. O vlijanii nefti na ryb [About the impact of oil on fish] // Vestn. ryboprom. № 4. S. 167–196. [In Russian]
- Arnol'd I.N. 1900. Novye issledovaniya nad vlijaniem nefti na zhivotnyj organism [New research on the impact of oil in the animal's organism] // Vestn. ryboprom. № 1. S.15–27. [In Russian]
- Baer K.M. 1860. Issledovaniya o sostoyanii rybolovstva v Rossii [Studies on the state of fisheries in Russia]. T. 2. S.-Pb.: Ministerstvo gosudarstvennyh imushchestv. [In Russian]
- Barenbojm G.M., Chiganova M.A. 2014. Zagriznenie vodnyh ob'ektov Podmoskov'ja lekarstvami, ih metabolitami i drugimi ksenobiotikami s farmakologicheskoy aktivnost'ju: problemy i puti resheniya [Pollution of water objects of Moscow region drugs, their metabolites and other xenobiotics with pharmacological activity: problems and solutions] // Vestnik Rossijskoj akademii estestvennyh nauk. № 2. S. 97–103. [In Russian]
- Biologicheskie obrastaniya v sisteme pit'evogo i tehničeskogo vodosnabzheniya i metody bor'by s nimi. 1969. [Biofouling in drinking and technical water supply and methods of dealing with them]. M.: Nauka. 110 s. [In Russian]
- Biologicheskie protsessy v zagriznennyh model'nyh vodoemah. 1984. [Biological processes in contaminated model water bodies]. M.: Izd-vo MGU. 193 s. [In Russian]
- Braginskij L.P. 1968. Pestitsidy novyj toksicheskij faktor vodnoj sredy [Pesticides new toxic factor in the aquatic environment] // Gidrobiol. zhurn. T. 4. № 1. S. 85–93. [In Russian]
- Braginskij L.P. 1970. Problema pestitsidov v vodnoj toksikologii [The problem of pesticides in aquatic toxicology] // Voprosy vodnoj toksikologii. M.: Nauka. S. 81–88. [In Russian]
- Braginskij L.P. 1972. Pestitsidy i zhizn' vodoemov [Pesticides and life of reservoirs]. Kiev: Naukova dumka. 201 s. [In Russian]
- Braginskij L.P. 1975. Ekologicheskie podhody k issledovaniju mehanizmov dejstviya toksikantov v vodnoj srede [Ecological approaches to the study of the mechanisms of action of toxicants in the aquatic environment] // Formirovanie i kontrol' kachestva poverhnostnyh vod. Kiev: Naukova dumka. Vyp. 1. S. 5–15. [In Russian]
- Braginskij L.P. 1986. Nekotorye zakonovernosti i mehanizmy reagirovaniya presnovodnoj `ekosistemy na vozdejstvie pestitsidov i poverhnostno-aktivnyh veschestv [Some regularities and mechanisms of the response of freshwater ecosystems to the effects of pesticides and surfactants] // `Eksperimental'naja vodnaja toksikologija. Riga: Zinatne. Vyp. 11. S. 7–22. [In Russian]
- Bulgakov N.G., Levich A.P., Maksimov V.H. 1997. Prognoz sostojaniya `ekosistem i normirovanie faktorov sredy v vodnyh ob'ektah Hizhnego Dona [Forecast of the state of ecosystems and standardization of environmental factors in water bodies of the lower Don] // Izvestiya RAH. Ser. biol. № 3. S. 374–379. [In Russian]
- Burkovskij A.L. 1971. Biologicheskij kontrol' stochnykh vod na promyshlennom predpriyatii [Biological control of wastewater at an industrial enterprise] // Kriterij toksichnosti i printsipy metodik po vodnoj toksikologii. M.: Izd. MGU. S. 256–259. [In Russian]
- Burkovskij A.L. 1975. Razrabotka metoda `effektivnogo biokontrolja stochnykh vod promyshlennogo predpriyatija [Development of a method for effective biocontrol of sewage of industrial enterprises] // Problemy vodnoj toksikologii: sb. tez. dokl. Sh Vsesojuzn. nauchn. konf. po vodnoj toksikologii. Petrozavodsk: Izd. UOP KF AN SSSR. Ch. 2. S. 246–249. [In Russian]
- Chermak N.O. 1896. O vlijanii nefti na ryb [About the impact of oil on fish] // Vestn. ryboprom. № 1. S. 1–30. [In Russian]
- Chuiko G.M. 2000. Comparative study of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: specific activities and in vitro inhibition by DDVP, an organophosphorus pesticide // Comp. Biochem. Physiol. V.127C. № 3. P. 233–242.
- Chuyko G.M. 1988. Mechanisms of various resistance of carp (*Cyprinus carpio* L.) and perch (*Perca fluviatilis* L.) to DDVP, an organophosphorus compound // Fate and Effects of Pollutants in Aquatic Organisms and Ecosystems: Proceedings of USA-USSR Symposium. Athens, Georgia. October 19-21, 1987. Athens: EPA. P. 78–89.
- Chuyko G.M. 2014. Biomarkery v gidro`ekotoksikologii: printsipy, metody i metodologija, praktika ispol'zovaniya [The biomarkers in hydroecotoxicology: principles, methods and methodology, the practice of using] // `Ekologicheskij monitoring. Sovremennye problemy monitoringa presnovodnykh `ekosistem (uchebnoe posobie). Nizhnij Novgorod:

- Izd-vo Nizhegorodskogo gosuniversiteta. S. 310–326. [In Russian]
- Chuyko G.M. 2017. Sovremennyye podhody ispol'zovaniya metodov biodiagnostiki pri ehkotoxikologicheskoy ocenke vodnykh ehkossistem [Modern approaches to the use of bioiodiagnostics in the ecotoxicological assessment of aquatic ecosystems] // *Sovremennyye problemy vodohranilishch i ih vodosborov. Trudy VI Mezhd. nauchno-prakticheskoy konferencii* (29 maya – 1 iyulya 2017 g., Perm'). Perm': Permskiy gos. nac. issled. un-t, T.2. S. 90–94. [In Russian]
- Davydov A.N. 2006. Bor'ba vokrug `ekologicheskikh posledstviy predprinimatel'skoj dejatel'nosti v moskovskom promyshlennom rajone v nachale XX v. [The struggle over the environmental impact of business activities in the Moscow industrial area in the beginning of XX century] // *Vestnik RUDN. Seriya: Istorija Rossii*. №1 (5). S. 116–124. [In Russian]
- Dolgov G.I., Nikitinskij Ja.Ja. 1927. Gidrobiologicheskie metody issledovaniya [Hydrobiological methods of research] // *Standartnyye metody issledovaniya pit'evykh i stochnykh vod*. M.: Mospoligraf. S. 1–76. [In Russian]
- Filenko O. F. 2007a. Mesto biologicheskikh metodov v kontrole kachestva okruzhayushey sredy pri zagryaznenii // *Bioindikatsiya v monitoringe presnovodnykh ekosistem*, SPb. LEMA., S. 8 – 12 [In Russian]
- Filenko O. F. 2007b. Biologicheskie metody v kontrole kachestva okruzhayushey sredy // *Ekologicheskie sistemy i pribory*. № 6. S. 18–20. [In Russian]
- Filenko O.F. 2008. Normirovanie zagryazneniya i biotestirovaniya vod: chto dal'she? [Regulation of pollution and biotesting waters: what's next?] // *Antropogennoe vliyanie na vodnye organizmy i soobshchestva: sb. tez dokl. III Vseross. konf. Borok. Ch. 1*. S. 148–156. [In Russian]
- Filenko O.F., Medjankina M.V. 2011. Perspektivy ekologo-rybohozhajstvennogo normirovaniya v Rossii [The prospects of environmental and fishery regulation in Russia] // *Anthropogenic impact on aquatic organisms and ecosystems // Antropogennoe vliyanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. IV Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii*. Borok. S. 24–29. [In Russian]
- Flerov B.A. 1974. Ob ispol'zovanii v vodnoj toksikologii issledovaniy povedeniya zhivotnykh [About the use in aquatic toxicology studies of animal behavior] // *Gidrobiol. zhurn*. T. 10. № 5. S.114–120. [In Russian]
- Flerov B.A. 1977. Fiziologicheskie mehanizmy dejstviya toksicheskikh veschestv i prispособleniya k nim vodnykh zhivotnykh [Physiological mechanisms of effects of toxic substances and adaptation of aquatic animals] // *Gidrobiol. zhurn*. T. 13. № 4. S. 80–85. [In Russian]
- Flerov B.A. 1989. Ekologo-fiziologicheskie aspekty toksikologii presnovodnykh zhivotnykh [Ecological and physiological aspects of toxicology of freshwater animals]. L.: Nauka. 138 s. [In Russian]
- Gorbenko Ju.A., Koval'chuk Ju.L., Kryshev I.I. 1991. Dejstvie protivooobrashtayemykh krasok na morskikh ob'ektakh [The effects of protivooobrashtayemykh paint on marine object]. Kiev: Naukova dumka. 100 s. [In Russian]
- Grigor'ev Ju.S., Shashkova T.L., Stravinskene E.S. 2014. Biotestirovanie v sisteme `ekologicheskogo monitoringa kachestva vod: reshaemye zadachi i usloviya, obespechivayushchie poluchenie vosproizvodimyykh rezul'tatov [Biotesting in the system of ecological monitoring of water quality: the tasks and the conditions for obtaining reproducible results] // *Antropogennoe vliyanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvyaschennoj pamjati B.A. Flerova*. Jaroslavl': Filigran'. T. 2. C. 130–132. [In Russian]
- Grimm O.A. 1891. O gibel'nom vliyanii nefi na ryb i merah protivodeystviya `etomu [About the disastrous impact of oil on fish, and measures to counter this] // *Vestn. ryboprom*. T.6. Vyp.12. S. 379–387. [In Russian]
- Grimm O.A. 1904. Opasnost' zarazheniya Volgi nefi'yu [The danger by oil pollution of the Volga] // *Vestn. ryboprom*. № 1. S. 82. [In Russian]
- Gusev A.G. 1950. Zagryaznenie rybopromyslovykh vodoemov lesosplavom [Pollution of fishery water body rafting] // *Vestn. LGU*. № 8. S. 216–221. [In Russian]
- Gusev A.G. 1961. Vliyanie promyshlennykh vod na rybnoe hozhajstvo vodohranilishch [The impact of industrial water in fishery reservoirs] // *Izv. GosNIORH*. T. 50. S. 411–428. [In Russian]
- Gusev A.G. 1967. Vliyanie stochnykh vod i lesosplava na rybohozhajstvennyye vodoemy i uscherb, nanosimyj zagryazneniem rybnoj promyshlennosti SSSR [The effects of wastewater and rafting on the fishery ponds and the pollution damage to the fishing industry, USSR] // *Izv. GosNIORH*. T. 66. S. 4–51. [In Russian]
- Gusev A.G. 1970. Sostojanie i perspektivy nauchno-issledovatel'skikh rabot po probleme ohrany rybohozhajstvennykh vodoemov ot zagryazneniya [Status and prospects of scientific research on the protection of fishery water bodies from pollution] // *Voprosy vodnoj toksikologii*. M.: Nauka, S.24–32. [In Russian]
- Guseva K.A. 1952. Tsvetenie vody, ego prichiny, prognoz i mery bor'by s nim [Water bloom, its causes, prognosis and control measures against them] // *Trudy Vses. Gidrobiol. o-va*. T. 4. S. 3–92. [In Russian]
- Himicheskie metody bor'by s perenoschikami i parazitami, imeyushchimi znachenie dlya zdoravoohraneniya [Chemical methods of controlling vectors and vermin of significance to public health]. EUR/01/5015707. WHO. 2000. 140 s.
- Hlopin G.V. 1900. Azotistye osnovaniya bakinskoy nefi, ejo himicheskij sostav i fiziologicheskie svoystva [Nitrogenous bases Baku oil, its chemical composition and physiological properties] // *Vestn. obschestv. gigeny, sudeb. i praktich. meditsiny*. Ijul'. S. 1006–1023. [In Russian]
- Hlopin G.V., Nikitin A.F. 1898. Vliyanie neftjanykh proizvodnykh na rybnoe naselenie rek i na kachestvo ih vody [Influence of oil derivatives on the fish population of rivers and their water quality] // *Vrach*. № 51. S.1497. [In Russian]
- Holodkevich S.V., Sharov A.N., Kuznecova T.V. 2015. Perspektivy i problemy ispol'zovaniya bioelektronnykh sistem v monitoringe sostoyaniya ehkologicheskoy bezopasnosti akvatorij Finskogo zaliva [Prospects and problems of us-

- ing bioelectronic systems in monitoring the state of environmental safety in the Finland Gulf] // Regional'naya ehkologiya. № 2 (37). S.16–26. [In Russian]
- Ipatova V.I., Dmitrieva A.G., Drozdenko T.V. 2016. Sravnitel'naja toksichnost' solej i nanochastits serebra dlja mikrovodorosli *Scenedesmus quadricauda* [Comparative toxicity of silver salts and silver nanoparticles to microalga *Scenedesmus quadricauda*] // Toksikologicheskij vestnik. № 2. S. 45–52. [In Russian]
- Kozlovskaja V.I., Stepanova V.M., Chujko G.M. 1983. Obratimost' intoksikatsii karpa karbofosom [The reversibility of intoxication carp karbofos] // Reaktsija gidrobiontov na zagriznenie. M.: Nauka, S. 191–198. [In Russian]
- Kozlovskaja V.I., Chujko G.M. 1985. Izmenenija aktivnosti atsetilholin`esterazy mozga okunja (*Perca fluviatilis* L) pod vozdejstviem hlorofosa [Changes in the activity of acetylcholinesterase of the brain of perch (*Perca fluviatilis* L) under the influence of trichlorfon] // Gidrobiol. zhurn. T. 21. №5. S. 49–53. [In Russian]
- Kozlovskaya V.I., Mayer F.L. Brain acetylcholinesterase and backbone collagen in fish intoxicated with organophosphate pesticides // J. Great Lakes Res. Internat. Assoc. Great Lakes Res. 1984. V. 10 (3). P. 261–266.
- Konstantinov A.S. 1986. Obschaja gidrobiologija [General Hydrobiology]. M.: Vysshaja shkola. 472 s. [In Russian]
- Kriterij toksichnosti i printsipy metodik po vodnoj toksikologii [The criterion of toxicity and the principles of techniques for aquatic toxicology]. 1971. M.: Izd-vo MGU. 308 s. [In Russian]
- Kukla S.P., Slobodskova V.V., Zhuravel' E.V., Chelomin V.P. 2014. Otsenka genotoksichnosti nanochastits na morskikh gidrobiontov s pomosh'ju metoda DNK-komet [Evaluation of the genotoxicity of nanoparticles on the marine hydrobionts using the method of DNA-comets] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran', T. 2. S. 65–69. [In Russian]
- Kuptsis I.D. 1901. Dal'nejshie issledovaniya otnositel'no vrednykh svojstv nefti i ee produktov dlja ryb i zhivotnykh [Further research on the harmful properties of petroleum and its products for fish and animals] // Materialy po voprosu o neobhodimosti ograzhdenija Volgi i drugih russkikh rek ot zagriznenija neftjanyimi produktami s sanitarnoj tochki zrenija. Diss. na stepen' magistra farmatsii. S.-Peterburg: Tip. V. Demakova. 122 s. [In Russian]
- Kuznetsova T.V., Holodkevich S.V., Kurakin A.S. 2014. *In situ* izmerenija kardioaktivnosti mestnykh vidov makrobentosnykh bespozvonochnykh v otsenke biologicheskikh `effektov zagriznjajuschih veschestv na gidrobiontov [*In situ* measurements of cardioactivity of local species of macrobenthos invertebrates in the assessment of the biological effects of pollutants on aquatic organisms] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran'. T. 2. S. 58–61. [In Russian]
- Lapirova T.B. 2014. Dinamika fiziologo-biohimicheskikh pokazatelej perlovitsy obyknovЕННОj v uslovijah kadmievoj intoksikatsii [Dynamics of physiological and biochemical parameters perlovitsy common in conditions of cadmium intoxication] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran'. T. 2. S. 69–72. [In Russian]
- Lebedeva G.D. 1987. Biologicheskoe povrezhdenie materialov i vodnaja toksikologija [Biological damage of materials and water toxicology] // Izuchenie protsessov morskogo bioobrastanija i razrabotka metodov bor'by s nim. L.: AN SSSR. S. 12–17. [In Russian]
- Lebedeva G.D., Dzjuban N.A., Zevina G.B., Kirpichenko M.Ja., Kudinova-Pasternak R.K., Lebedev E.M. 1971. Biopovrezhdenija materialov i izdelij v presnykh i morskikh vodah (spravochnik) [Biodeterioration of materials and products in fresh and marine waters (Handbook)] // M.: Izd-vo MGU. 260 s. [In Russian]
- Lesnikov L.A. 1974. Ohrana vodoemov ot zagriznenija s pozitsij rybnogo hozjajstva [Protection of water bodies from pollution from the standpoint of fisheries] // Izv. GosNIORH. T. 98. S. 3–7. [In Russian]
- Lesnikov L.A. 1977. Pestitsidy i otsenka ih vlijanija na rybohozjajstvennye vodoemy [Pesticides and assessment of their impact on fishery ponds] // Izv. GosNIORH. T. 121. S. 3–7. [In Russian]
- Lesnikov L.A. 1968. Osobennosti rybohozjajstvennoj otsenki vlijanija zagriznenij na vodoemy po gidrobiologicheskim dannym [Features of the fisheries impact assessment of pollution on water bodies by hydrobiological data] // Mater. XIV konf. po izucheniju vnutrennih vodoemov Pribaltiki. Riga: Zinatne. T. 2. S. 87–91. [In Russian]
- Lesnikov L.A., Vrochinskij K.K. 1974. Klassifikatsija pestitsidov s rybohozjajstvennykh pozitsij [Classification of pesticides with fisheries management positions] // Izv. GosNIORH. T. 98. S. 9–13. [In Russian]
- Levich A.P., Bulgakov N.G., Maksimov V.N., Risnik D.V. 2011. *In situ*–tehnologija ustanovlenija lokal'nykh `ekologicheskikh norm [*In situ* technology to establish local environmental standards] // Voprosy `ekologicheskogo normirovanija i razrabotka sistemy otsenki sostojanija vodoemov. M.: Tovarishestvo nauchnykh izdanij KMK. S. 30–55. [In Russian]
- Levich A.P., Bulgakov N.G., Risnik D.V., Mil'ko. E.S. 2010. `Ekologicheskij kontrol' okruzhajuschej sredy po dannym biologicheskogo i fiziko-himicheskogo monitoringa prirodnykh ob`ektov [Environmental control the environment according to biological and physico-chemical monitoring of natural objects] // Komp'juternye issledovaniya i modelirowanie. T. 2. № 2. S. 199–207. [In Russian]
- Levich A.P., Terehin A.T. 1997. Metod rascheta `ekologicheskikh dopustimyh urovnej vozdejstvija na `ekosistemy (metod `EDU) [The method of calculation of ecologically allowable levels of impact on ecosystems (ED method)] // Vodnye resursy. T. 24. № 3. S. 328–335. [In Russian]
- Luk'janenko V.I. 1967. Toksikologija ryb [Toxicology of fishes]. M.: Pischevaja promyshlennost'. 216s. [In Russian]
- Luk'janenko V.I. Obschaja ihtiotoksikologija [The general ichthyotoxicology]. M.: Legkaja i pischevaja promyshlennost'. 1983. 320 s. [In Russian]

- Luk'janova O.N. 2014. Integral'nyj biohimicheskij indeks sostojanija morskikh organizmov v uslovijah zagriznenija [The integral biochemical index of marine organisms in contaminated water bodies] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran. T. 2. S. 75–78. [In Russian]
- Luk'janova O.N. 2001. Molekuljarnye biomarkery [Molecular biomarkers]. Vladivostok: izd-vo DVGAEU. 196 s. [In Russian]
- Maksimenko Ju.L., Kuchkarov Z.A., Gorkina I.D. 2015. Nauchnye problemy normirovanija sostava stochnyh vod [The scientific problems of regulation of wastewater]. <http://oaji.net/articles/2016/245-1466682638.pdf>
- Metodicheskiye ukazaniya po ustanovleniyu ekologo-rybokhozyaystvennykh normativov (PDK i OBUV) zagryaznyayushchikh veshchestv dlya vody vodnykh ob'ektov, imeyushchikh rybokhozyaystvennoye znachenie. 1998. [Guidelines for the determination of ecological-fish standards (MPC and ASLI) of polluting substances for water in water bodies that have fishery importance]. M.: VNIRO. 145 s. [In Russian]
- Metodicheskoe rukovodstvo po biotestirovaniyu vody. RD 118-02-90. 1991. [Methodological guidance on biotesting of water. RD 118-02-90]. M.: Goskompriroda SSSR. 48 s. [In Russian]
- Metody biotestirovanija vod. 1988. [Methods of biotesting of waters]. Chernogolovka. 128 s. [In Russian]
- Metody biotestirovanija kachestva vodnoj sredy. 1989. [Methods of biotesting of water environment quality]. M.: MGU. 124 s. [In Russian]
- Mihajlova L.V. 1991. Sovremennyy gidrohimicheskij rezhim i vlijanie zagriznenij na vodnuju `ekosistemu i rybnoe hozjajstvo Obskogo bassejna (obzor) [Modern hydrochemical regime and the impact of pollution on aquatic ecosystem and fisheries of the Ob basin (review)] // Gidrobiol. zhurn. T. 27. № 5. S. 80–90. [In Russian]
- Mihajlova L.V., Isachenko-Bome E. A. 2012. Razrabotka i aprobatsiya normativa soderzhanija nefi v donnyh otlozhenijah poverhnostnyh vodnyh ob'ektov [Development and testing of the standard of oil content in bottom sediments of surface water bodies] // Vodnye resursy. T. 39. № 5. S. 530–542. [In Russian]
- Mihajlova L.V., Isachenko-Bome E.A. 2014. Naturnoe modelirovanie nefljanogo zagriznenija donnyh otlozhenij (DO) s tsel'ju aprobatsii ustanovlennogo normativa [Full-scale modeling of oil pollution of bottom sediments (BS) to test the set standard] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran. T. 2. S. 152–156. [In Russian]
- Mironov O.G. 1967. Dejstvie malyh kontsentratsij nefi i nefteproduktov na razvivajuschujusja ikru chernomorskoj kambaly kalkana [The effects of low concentrations of oil and oil products on the developing ROE of black sea flounder-Kalkan] // Voprosy ihtiol. № 7. Vyp. 3 (44). S. 577–581. [In Russian]
- Mironov O.G. 1968. Nefljanaja ugroza morskoi faune [Oil threat to the marine fauna] // Priroda. № 2. S. 80–84. [In Russian]
- Mironov O.G. 1969. Razvitie nekotoryh chernomorskih ryb v morskoi vode, zagriznennoj nefteproduktami [Development of some black sea fishes in seawater polluted by petroleum products] // Voprosy ihtiol. T. 9. Vyp. 6 (59). S. 1136–1139. [In Russian]
- Mironov O.G. 1973. Nefljanoe zagriznenie i zhizn' morja [Oil pollution and sea life]. Kiev: Naukova dumka. 85 s. [In Russian]
- Moiseenko T.I. 2009. Vodnaja `ekotoksikologija. Teoreticheskie i prikladnye aspekty [Aquatic ecotoxicology. Theoretical and applied aspects]. M.: Nauka, 400 s. [In Russian]
- Nemova N.N., Vysockaya R.U. 2004. Biohimicheskaya indikaciya sostoyaniya ryb [Biochemical indication of the state of fish]. M.: Nauka. 316 s. [In Russian]
- Nemova N.N., Vysotskaja R.U., Sidorov V.S. 2002. Ekologo-biohimicheskoe testirovanie vodoemov po sostojaniju ryb [Ecological and biochemical testing of reservoirs according to the state of fish] // Nauchnye aspekty `ekologicheskikh problem Rossii. M.: Nauka, T. 1. S. 215–220. [In Russian]
- Newman M.C. 2010. Fundamentals of ecotoxicology. Boca Roton, London, New York: CRC Press Taylor & Francis Group. 541 p. [In Russian]
- Nikanorov A.M., Ivanik V.M. 2014. Slovar'-spravochnik po gidrohimii i kachestvu vod sushi [The dictionary of hydrochemistry and water quality the land]. Rostov-na-Donu: OOO Tsentr Pechatnyh Tehnologij "Art Artel". 548 s. [In Russian]
- Nikitinskij Ja.Ja., Dolgov V.I. 1913. Otchet mikrobiologicheskoi laboratorii. Otchet vremennogo komiteta po izyskaniju mer k ohrane vodoemov Moskovskogo promyshlennogo rajona ot zagriznenija stochnymi vodami i otbrosami fabrik i zavodov za 1912 god [Report of the microbiological laboratory. Report of the provisional Committee to devise measures for the protection of water bodies of the Moscow industrial area from pollution by sewage and garbage factories for the year 1912]. M. 222 s. [In Russian]
- Nikol'skij A.M. 1893a. K voprosu o vlijanii neftjanyh ostatkov na razmnozhenie ryby [To the question about the influence of oil residues on fish breeding] // Rybnoe delo. № 3. S. 31–33. [In Russian]
- Nikol'skij A.M. 1893 b. O znachenii nefi v zhizni ryb r. Volgi [The importance of oil in the life of fishes of the Volga river] // Rybnoe delo. № 15. S. 16–17. [In Russian]
- Nikol'skij A.M. 1893c. Rezul'taty opytov vlijanija nefi na ryb [The results of experiments of influence of oil on fish] // Rybnoe delo. № 16. S. 330. [In Russian]
- Patin S.A. 1979. Vlijanie zagriznenija na biologicheskie resursy i produktivnost' mirovogo okeana [The impact of pollution on biological resources and productivity of the world ocean]. M.: Pischevaja promyshlennost. 304 s. [In Russian]
- Patin S.A. 1997. Ekologicheskie problemy osvoenija neftegazovyh resursov morskogo shel'fa [Environmental problems of oil and gas resources of the sea shelf]. M.: VNIRO. 350 s. [In Russian]

- Perevoznikov M.A. 1985. Teoreticheskie aspekty skringinga, klassifikatsii i rybohozhajstvennoj otsenki ihtiosidov [Theoretical aspects of screening, classification and management evaluation of ichthyocides] // Sb. nauchn. trudov GosNIORH. Vyp. № 234. S. 3–12. [In Russian]
- Petrosjan V.S., Shuvalova E.A., Filenko O.F. 2015. Vyjavlenie porogovyh znachenij kontsentratsij `ekotoksikantov pri monitoringe kachestva vod metodom opticheskoy kardiografii presnovodnyh molljuskov [Detection threshold concentrations of toxicants in the monitoring of water quality by the method of optical cardiography of freshwater molluscs] // `Ekologija i promyshlennost' Rossii. M.: Kalvis. T. 19. № 6. S. 11–16. [In Russian]
- Predel'no-dopustimye kontsentratsii (PDK) himicheskikh veshchestv v vode vodnyh ob'ektov hozhajstvenno-pit'evogo i kul'turno-bytovogo vodopol'zovanija. GN 2.1.5.689-98. Gigienicheskie normativy. 1998. [The maximum available concentration (MAC) of chemical substances in water of drinking and cultural-domestic water bodies. Hygienic standards. GN 2.1.5.689-98]. M.: Minzdrav Rossii. 74 s. [In Russian]
- Railkin A.I., Minichev Ju.S., Seravin L.N. 1990. Hemobiologicheskaja zaschita ot morskogo obrastanija [Hemobiological protection from marine fouling] // Zaschita sudov i tehniceskikh sredstv ot obrastanija: sb. tez. dokl. Vsesojuz. nauchno-tehn. konf. / L: Izd-vo "Sudostroenie". S. 66–75. [In Russian]
- Rand G.M., Wells P.G., McCarty L.S. 1995. Introduction to aquatic toxicology. Ch.1 // Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, environmental fate, and risk assessment. Washington, DC: Taylor & Francis. P. 3–67. [In Russian]
- Rudneva I.I. 2016. Ekotoksikologicheskie issledovanija pribrezhnoj chernomorskoj ihtiofauny v rajone Sevastopolja [Ecotoxicological studies of black sea coastal ichthyofauna in the center of Sevastopol]. M.: GEOS. 354 s. [In Russian]
- Rudneva I.I., Zherko N.V. 2000. Dejstvie polihlorirovannyh bifenilov na antioksidantnuju sistemu i perekisnoe okislenie lipidov v gonadah chernomorskoj skorpeny *Scorpaena porcus* [The effect of polychlorinated biphenyls on the antioxidant system and lipid peroxidation in gonads of the black sea scorpionfish *Scorpaena porcus*] // Ekologija. № 1. S. 70–73. [In Russian]
- Rukovodstvo po opredeleniju metodom biotestirovanija toksichnosti vod, donnyh otlozhenij, zagriznjajuschih veshchestv i burovnyh rastvorov. 2002. [The guidelines for determining the method of biotesting of toxicity of waters, bottom sediments, pollutants and drilling fluids]. M.: REFIA. NIA-Priroda. 118 s. [In Russian]
- Semernoj V.P. Sanitarnaja gidrobiologija [Sanitary hydrobiology]. Jaroslavl': Remder, 2002. 147 s. [In Russian]
- Scherban' E.P. 1969. Primenenie sadkovoju metodiki pri izuchenii vlijanija pestitsidov na produktivnost' planktonnyh zhivotnyh [The use of cage techniques to study the influence of pesticides on the productivity of planktonic animals] // Simpozium po vodnoj toksikologii. L: S. 118–119. [In Russian]
- Shirokova V.A. 2001. Istochniki po izucheniju himicheskogo sostava poverhnostnyh vod bassejna reki Volgi (vtoraja polovina XVIII–seredina XX vv.) [Sources for the study of the chemical composition of the surface waters of the basin of the Volga river (the second half of the XVIII–XX centuries the middle)] // Istochniki po istorii izuchenija prirodnyh resursov bassejna reki Volgi: mater. nauchn. konf. Moskva. S. 48–81. [In Russian]
- Sidorov V.S., Nemova N.N., Vysotskaja R.U., Feklova Ju.A. 2002. Ispol'zovanie biohimicheskikh metodov pri opredelenii PDK promyshlennyh toksikantov [The use of biochemical methods in determining the MPC of industrial toxicants] // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. T. 38. № 3. S. 345–350. [In Russian]
- Sidorov V.S., Nemova N.N., Vysotskaja R.U., Taksheev S.A. 2003. Variabel'nost' integral'nogo biohimicheskogo indeksa u ryb pod vlijaniem tehnogennyh vod gorno-obogatitel'nogo kombinata [Variability integral biochemical index of fish under the influence of man-made water Mining and Processing Plant] // `Ekologija. T. 4. S. 280–285. [In Russian]
- Stepanova N.Ju. 2014. Normirovanie soderzhanija tjazhelyh metallov v donnyh otlozhenijah [Normalization of heavy metals in bottom sediments] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i `ekosistemy: mater. V Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjashchennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran', T. 2. S. 170–172. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1940. Toksikologija vodnyh zhivotnyh v svjazi s dejstviem stochnykh promyshlennykh vod na vodoem [Toxicology of aquatic animals in connection with the action of sewage industrial waters on the of water bodies] // Zool. Zhurn. T. 19. № 4. S. 556–579. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1941. Novye puti reshenija problemy dejstvija stochnykh promyshlennykh vod na vodnye organizmy [New ways of solving the problem of the action of waste industrial waters on aquatic organisms]. M.: MGU, 77 s. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1960. Sovremennye problemy vodnoj toksikologii [Modern problems of aquatic toxicology] // Vestn. MGU. Ser. Biol. № 2. S. 3–17. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1967. Razvitie vodnoj toksikologii v SSSR [The development of aquatic toxicology in the USSR] // Nauchn. dokl. vyssh. shkoly. Biolog. nauki. № 12. S. 7–21. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1968a. Zagriznenie vod i zadachi vodnoj toksikologii [Water pollution and issue of aquatic toxicology] // Vsesojuz. nauch. konf. po voprosam vodnoj toksikologii: sb. tez. dokl. MGU. M.: Nauka. S. 7–9. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1968b. O termine "vodnaja toksikologija" [About the term "aquatic toxicology"] // Vsesojuz. nauch. konf. po voprosam vodnoj toksikologii: sb. tez dokl. / M.: Nauka. S. 35–37. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1970. Zagriznenie vod i zadachi vodnoj toksikologii [Water pollution and challenges of aquatic toxicology] // Voprosy vodnoj toksikologii. M.: Nauka. S. 11–24. [In Russian]
- Stroganov N.S. 1971. Metodika opredelenija toksichnosti vodnoj sredy // Metodiki biologicheskikh issledovanij po vodnoj toksikologii [The method of determining the toxicity of the aquatic environment]. M.: Nauka. S.14–59. [In Russian]

- Stroganov N.S. 1983. Biologicheskij aspekt normy i patologii v vodnoj toksikologii [The biological aspect of norm and pathology in aquatic toxicology] // Teoreticheskie problemy vodnoj toksikologii. Norma i patologija. M.: Nauka. S 5–21. [In Russian]
- Stroganov N.S., Pozhitkov A.T. 1941. Dejstvie stochnyh promyshlennyh vod na vodnye organizmy (Novye puti reshenija problemy) [The effect of industrial waste water on aquatic organisms (New ways of solving problems)]. M: Izd-vo MGU. 88 s. [In Russian]
- Tomilina I.I., Gremjachih V.A., Grebenjuk L.P., Golovkina E.I. 2014. Toksicheskoe i teratogennoe dejstvie metallicheskikh nanochastits na gidrobiontov razlichnoj sistematicheskoy prinadlezhnosti [Toxic and teratogenic effects of metallic nanoparticles on aquatic organisms of various systematic affiliation] // Antropogennoe vlijanie na vodnye organizmy i ekosistemy: mater. Vseross. konf. po vodnoj `ekotoksikologii, posvjaschennoj pamjati B.A. Flerova / Jaroslavl': Filigran. T. 2. S. 151–155. [In Russian]
- Triebkorn R., Adam S., Behrens A., Beier S., Böhmer J., Braunbeck T., Casper H., Dietze U., Gernhöfer M., Honnen W., Köhler H.-R., Körner W., Konradt J., Lehmann R., Luckenbach T., Oberemm A., Schwaiger J., Segner H., Strmac M., Schüürmann G., Siligato S., Traunspurger W. 2003. Establishing Causality between Pollution and Effects at Different Levels of Biological Organization: The VALIMAR Project // Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. V. 9. Issue 1. P. 171–194.
- Truhaut R. 1977. Eco-Toxicology – Objectives, Principles and Perspectives // Ecotox. Environ. Safety. V. 1. № 2. P. 151–173.
- Veselov E.A. 1948. Vlijanie na ryb zagriznenija vody neft'ju [The impact on fish of water pollution oil] // Rybn. hoz-vo SSSR. № 12. S. 21–23. [In Russian]
- Veselov E.A. 1953. Opyt klassifikatsii promyshlennyh stochnyh vod po ih dejstvu na ihtiofaunu v svjazi s osnovnymi zadachami rybohoz'jajstvennoj toksikologii [The experience of classification of industrial wastewater according to their effect on the fauna in connection with the main objectives of the fisheries toxicology] // Uchen. zap. KFGU. T. 5. Vyp. 3. S. 130–170. [In Russian]
- Veselov E.A. 1971. Klassifikatsija stochnyh vod i ih komponentov po ih dejstvu na vodoemy i vodnye organizmy [Classification of wastewater and their components according to their effect on waterways and aquatic organisms] // Izv. GosNIORH. T. 78. S. 43–77. [In Russian]
- Veselov E.A. 1978. Obzor metodov vodnoj toksikologii [Review of methods for aquatic toxicology] // Problemy vodn. toksikologii. Petrozavodsk: PGU. S. 5–31. [In Russian]
- Vinberg G.G. 1972. Znachenie gidrobiologii v reshenii vodohoz'jajstvennyh problem [The importance of hydrobiology in solving water problems] // Teorija i praktika biologicheskogo samoochischenija zagriznennyh vodoemov. M.: Nauka. S. 7–12. [In Russian]
- Zhadin V.I. 1967. Problemy sanitarnoj gidrobiologii vnutrennih vodoemov [Sanitary problems of Hydrobiology of inland waters] // Sanitarnaja i tehničeskaja gidrobiologija: mater I s'ezda Vsesojuz. gidrobiol. ob-va / M.: Nauka. S. 5–18. [In Russian]

AQUATIC ECOTOXICOLOGY IN RUSSIA: FROM PAST TO PRESENT

O. F. Filenko¹, G. M. Chuiko^{2,3}

¹Lomonosov Moscow State University

119991 Moscow, GSP-1, Leninskiye Gory, 1, building 12, e-mail: ofilenko@mail.ru

²Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences

³Demidov Yaroslavl State University

152742 Borok, Russia, e-mail: gchuiko@mail.ru

The data in history of establishing, since the end of XIX century and development in Russia of aquatic ecotoxicology are presented. Aquatic ecotoxicology is a topical scientific-applied field of science related to studies on the effects of anthropogenic factors in the quality of aquatic environment. The paper describes main events triggered sharp interest to problems of environmental pollution, activation of economic activity in particular. The studies of the scientists made main contribution to the development of this field of science are analyzed. The relations of aquatic toxicology with ecotoxicology and sanitary hydrobiology are discussed. It is noted that biotesting, as a main method in toxicological monitoring and establishing of criteria for quality of aquatic environment, plays an important role. In addition to the problems of nature preservation, other directions of applied activity of aquatic toxicology based on its scientific achievements (control of biodeterioration and of vectors of diseases) are given.

Key words: aquatic toxicology, pollution of aquatic environment, biotesting, criteria of quality of aquatic environment

УДК 574.583(28):591+574.64:556/551.4

ВЛИЯНИЕ ЖЕСТКОСТИ ВОДЫ НА ХРОНИЧЕСКУЮ ТОКСИЧНОСТЬ СМЕСИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILL. (CRUSTACEA, CLADOCERA)

И. В. Чалова, Б. А. Флеров

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

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: chalov@ibiw.yaroslavl.ru

В хронических (7 сут) экспериментах на *Ceriodaphnia affinis* Lill. выявлено достоверное снижение плодовитости рачков при уменьшении жесткости контрольной водопроводной воды до 0.38 мг-экв./л. Достоверное увеличение токсичности при снижении жесткости воды показано для фенола и додецилсульфата натрия. Тип взаимодействия пяти приоритетных загрязняющих веществ (меди, фенола; карбофоса, дизельного топлива, додецилсульфата натрия) в смеси в сублетальных концентрациях определен как антагонистический и не изменяется с уменьшением жесткости воды, использованной для приготовления растворов. При уменьшении жесткости воды до 0.38 мг экв./л отмечено увеличение токсичности смеси, что выражается в снижении плодовитости рачков, которое, однако, не имело достоверных отличий от других вариантов.

Ключевые слова: *Ceriodaphnia affinis*, хроническая токсичность, жесткость воды, полная смесь, медь, фенол, карбофос, додецилсульфат натрия, дизельное топливо.

ВВЕДЕНИЕ

При установлении критериев безопасности сбросов загрязненных вод возникает необходимость изучения влияния важнейших абиотических факторов среды (температуры, pH, кислородного режима, ионного состава) на токсичность для гидробионтов не только отдельных веществ, но и их сложных смесей [Алабастер, Ллойд, 1984 (Alabaster, Llojd, 1984); Остроумов, 2000 (Ostroumov, 2000); Сапегин, 1998 (Sapegin, 1998)].

Жесткость воды является одним из таких показателей. В природной воде ее значения колеблются в широких пределах, изменяясь по временам года. Вода с жесткостью менее 4 ммоль/дм³ характеризуется как мягкая; от 4 до 8 – средней жесткости; от 8 до 12 – жесткая; более 12 – очень жесткая [Зенин, Белоусова, 1988 (Zenin, Belousova, 1988)].

В практике полевых и экспериментальных токсикологических исследований накоплен достаточный материал по влиянию жесткости воды на токсичность тяжелых металлов для гидробионтов. С повышением жесткости воды летальное действие высоких концентраций алюминия, меди, кадмия на рыб (сеголетки семги *Salmo salar* и радужной форели *Salmo gairdneri*), а так же кадмия и меди на беспозвоночных (*Daphnia magna* и *Diaptomus*) и водоросли (*Chlorella*) снижается [Виноградов, 1992 (Vinogradov, 1992); Виноградов и др., 1992 (Vinogradov et al., 1992); Dutta, Kavita, 2001; Santore et al., 2001]. Токсическое дей-

ствие сублетальных концентраций меди, цинка и аммония на сеголетков карпа, наблюдаемое при содержании кальция 60 мг/л полностью исчезает при его увеличении до 150 мг/л [Коваленко, 2002 (Kovalenko, 2002)]. Причем защитное действие оказывает кальций, а не магний. Так, в опытах на сеголетках леща показано ослабление токсического действия ионов тяжелых металлов (Zn, Cd, Cu, Hg), а также усиление роста и устойчивости рыб к инфекционным заболеваниям при увеличении в воде концентрации кальция на фоне низкого содержания магния [Маврин и др., 1992 (Mavrin et al., 1992)]. Токсичность фенольных соединений практически не зависит от жесткости воды [Алабастер, Ллойд, 1984 (Alabaster, Llojd, 1984)].

В краткосрочных опытах на различных группах гидробионтов с использованием остролетальных концентраций тип взаимодействия веществ в смесях обычно определяется как аддитивный в жесткой воде и более чем аддитивный (синергический) в мягкой воде. С уменьшением концентраций загрязняющих веществ до того уровня, когда они уже не оказывают токсического действия, их аддитивный потенциал также уменьшается. В хронических экспериментах с низкими концентрациями токсикантов не выявлено достаточно четкой зависимости эффекта взаимодействия веществ в смесях от жесткости воды [Алабастер, Ллойд, 1984 (Alabaster, Llojd, 1984)].

Поэтому, несомненный интерес пред-

ставляет получение новых сведений о различиях токсичности приоритетных загрязняющих веществ и их смесей для гидробионтов в

зависимости от жесткости вод, что и стало целью нашего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Хронические эксперименты на *Ceriodaphnia affinis* Lilligeborg в качестве тест-объекта проводили по стандартной методике [Методика определения ..., 2001 (Metodika opredeleniya ..., 2001)]. Показателем хронической токсичности служило снижение плодовитости рачков за 7 суток по сравнению с контролем.

Для изучения влияния жесткости воды на токсичность отдельных веществ и их смесей для цериодафний использовали четыре варианта растворов: 1) на отстоянной водопроводной воде п. Борок, которая может быть отнесена к классу умеренно жестких вод (общая жесткость – 5.10 мг-экв./л); 2) на этой же воде, разведенной в 2 раза (2.44 мг-экв./л); 3) в 8 раз (0.60 мг-экв./л) и 4) в 32 раза (0.38 мг-экв./л). Все значения жесткости лежали в пределах физиологического оптимума для цериодафний (80–250 мг/л CaCO_3) [Методика определения ...2001, (Metodika opredeleniya... , 2001)].

В работе исследовали растворы пяти веществ: меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); фенола; карбофоса (50% эмульсия); дизельного топлива (водная вытяжка солянки – ВВС); додецилсульфата

натрия (ДДСNa) – и их полную смесь. В предварительных экспериментах определены их концентрации, вызывающие гибель не более 20% животных в острых (48 час.) опытах – допустимый уровень для контроля. Они составляли для меди – 0.045; фенола – 10.0; карбофоса – 0.0002; ВВС – 0.36; ДДСNa – 12.5 мг/л. Для приготовления смеси использовали все токсиканты в концентрациях, составляющих 1/5 от перечисленных выше значений.

Контролем служили: 1) показатели плодовитости цериодафний в неразбавленной отстоянной водопроводной воде; 2) 1/5 суммы показателей плодовитости в растворах отдельных веществ (эта контрольная величина рассчитана по результатам экспериментов с растворами отдельных веществ, т.к. при проведении исследований использовали модель суммации эффектов при комбинированном действии токсикантов).

Для каждого варианта проведено 3 серии экспериментов по 10 животных в каждой. Достоверность отличий экспериментальных данных определяли с использованием критерия Стьюдента [Зайцев, 1984 (Zajcev, 1984)].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В наших экспериментах (рис. 1) плодовитость цериодафний снижалась с уменьшением общей жесткости воды, однако, достоверные отличия этих значений отмечены лишь для 4-го варианта – при максимальном снижении жесткости воды до 0.38 мг-экв./л. Таким образом, подтверждается большое значение этого показателя для жизнедеятельности планктонных ракообразных. Чувствительность к уровню кальция в воде в значительной степени объясняется большой ролью этого элемента в регуляции роста и развития их эмбрионов. Процессы размножения тормозятся также исключением из среды обитания ионов магния. Низкое соотношение кальция и магния действует на жизненно важные процессы у беспозвоночных значительно сильнее, чем низкое отношение кальция к другим катионам, например, натрию или калию [Романенко и др., 1982 (Romanenko et al., 1982)].

Снижение общей жесткости воды, на которой были приготовлены растворы токсикан-

тов, в два раза (с 5.10 до 2.44 мг-экв./л) не вызвало заметного изменения плодовитости рачков ни в одном из рассматриваемых случаев (рис. 2). Дальнейшее уменьшение жесткости воды до 0.60 и 0.38 мг-экв./л приводило к усилению токсичности всех растворов, кроме дизельного топлива и как следствие снижению плодовитости цериодафний. Однако достоверное влияние уменьшения жесткости воды отмечено только для фенола и додецилсульфата натрия.

На рис. 3 представлены результаты хронических опытов по изучению влияния изменения жесткости растворов, содержащих полную смесь исследуемых токсических веществ, на плодовитость цериодафний. Установлено, что изменение жесткости воды, на которой были приготовлены контрольные и опытные растворы исследованных веществ, не вызвало достоверных изменений репродуктивной функции рачков.

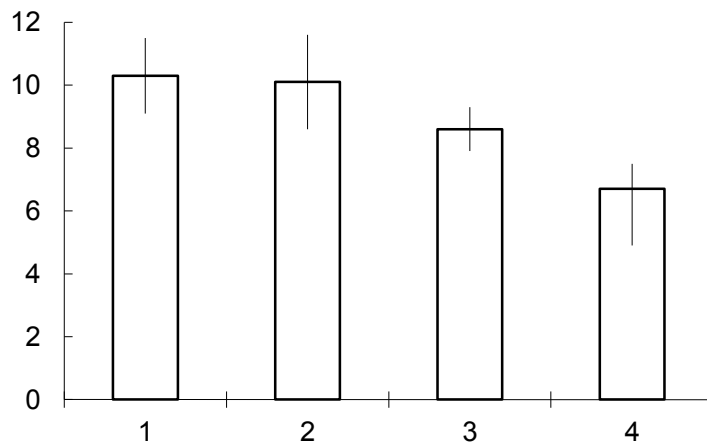


Рис. 1. Влияние жесткости воды на плодовитость *Ceriodaphnia affinis*.

По оси X – варианты разбавления воды, по оси Y – среднее количество молоди от одной самки за 7 суток (экз.). 1 – неразбавленная вода (общая жесткость 5.10 мг-экв./л); 2 – вода разбавленная в 2 раза (2.44 мг-экв./л); 3 – вода разбавленная в 8 раз (0.60 мг-экв./л); 4 – вода разбавленная в 32 раза (0.38 мг-экв./л).

Fig. 1. Influence of water hardness on fecundity of *Ceriodaphnia affinis*.

Along the X-axis – variants of water dilution, along the Y-axis – the average number of juveniles per female in 7 days (sp.).

1 – undiluted water (total hardness 5.10 mg-Eq./l); 2 – water diluted 2 times (2.44 mg-Eq./l); 3 – water is diluted 8 times (0.60 mg-Eq./l); 4 – water diluted 32 times (0.38 mg-Eq./l).

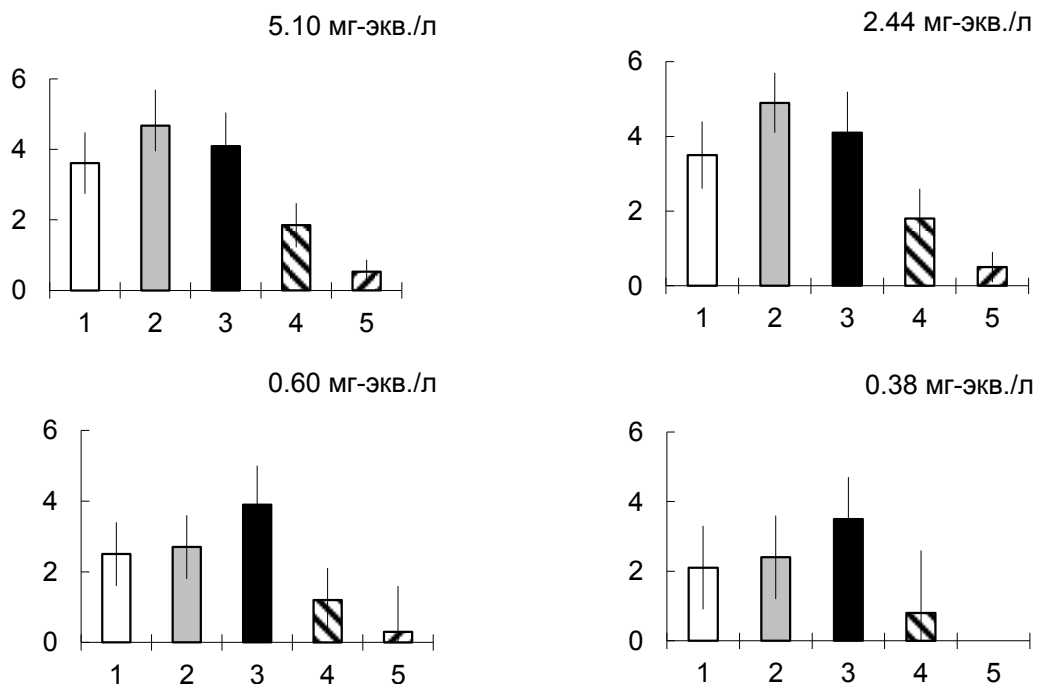


Рис. 2. Влияние жесткости воды на токсичность растворов отдельных веществ для *Ceriodaphnia affinis*.

По оси X – варианты растворов, по оси Y – среднее количество молоди за 7 суток (экз.). 1 – карбофос, 2 – фенол, 3 – ВВС, 4 – медь, 5 – ДДСNa.

Fig. 2. Influence of water hardness on the toxicity of solutions of certain substances for *Ceriodaphnia affinis*.

Along the X-axis – options for solutions along the Y-axis – the average number of juveniles per female in 7 days (sp.).

1 – malathion, 2 – phenol, 3 – aqueous extract of diesel fuel, 4 – copper, 5 – SLS.

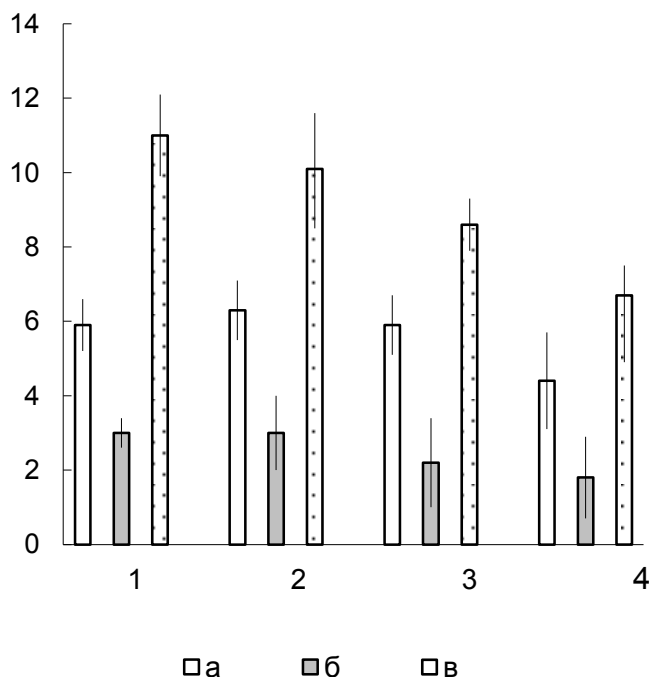


Рис. 3. Влияние жесткости воды на токсичность смеси пяти токсических веществ (карбофос, фенол, ВВС, медь, ДДСNa) для *Ceriodaphnia affinis*.

По оси X – варианты разбавления воды, по оси Y – среднее количество молоди за 7 суток на одну самку.

1– неразбавленная вода (общая жесткость 5.10 мг-экв./л); 2– вода разбавленная в 2 раза (2.44 мг-экв./л); 3– вода разбавленная в 8 раз (0.60 мг-экв./л); 4– вода разбавленная в 32 раза (0.38 мг-экв./л). а – среднее количество молоди в растворе с полной смесью токсикантов (экз.); б – $\frac{1}{5}$ суммы показателей плодовитости в растворах отдельных токсикантов (контроль); в – среднее количество молоди в неразбавленной воде (контроль).

Fig. 3. Influence of water hardness on the toxicity mixture of five toxic substances (malathion, phenol, aqueous extract of diesel fuel, copper, SLS) for *Ceriodaphnia affinis*.

X-axis – water dilution; Y-axis – the average number of juveniles per female in 7 days (sp.). 1– undiluted water (total hardness 5.1 mg-Eq./l); 2– water diluted 2 times (2.44 mg-Eq./l); 3– water is diluted 8 times (0.60 mg-Eq./l); 4– water diluted to 32 times (0.38 mg-Eq./l). a – the average number of juveniles in the solution with a full mixture of toxicants; б – $\frac{1}{5}$ of the sum of indicators of prolific activity in solutions of individual toxicants (control); в – the average number of juveniles in undiluted water (control).

Среднее количество молоди на одну самку в полной смеси токсикантов варьировало от 6.3 до 4.4 экз. и оставалось достоверно выше контрольных показателей. При взаимодействии тестируемых веществ, независимо от изменения жесткости воды, на которой были приготовлены растворы, возникает стойкий антагонистический эффект. Однако сила этого эффекта снижается с уменьшением жесткости воды и недостаточна для устранения токсичности исследуемой смеси. Показатели плодовитости во всех вариантах (кроме 0.38 мг-экв./л) достоверно ниже по сравнению с показателями плодовитости в контрольной воде.

Анализ полученных и литературных данных [Романенко, 1982 (Romanenko, 1982); Алабастер, Ллойд, 1984 (Alabaster, Llojd, 1984); Виноградов, 1992 (Vinogradov, 1992);

Виноградов и др., 1992 (Vinogradov et al., 1992); Коваленко, 2002 (Kovalenko, 2002); Остроумов, 2002 (Ostroumov, 2002); Santore et al., 2001] позволяет говорить о том, что изменение токсичности поллютантов и их смесей при снижении жесткости воды может определяться как химическим механизмом (возможностью активного комплексообразования и снижения концентрации токсических веществ), так и биологическим фактором, то есть ролью кальция в регуляции процессов проницаемости клеточных мембран. Известно, что его высокое содержание в воде снижает скорость поступления и препятствует аккумуляции катионов в тканях гидробионтов [Сравнительная физиология ..., 1977 (Sravnitel'naya fiziologiya ..., 1977)].

Полученные результаты говорят о том,

что при проведении биотестирования с использованием планктонных ракообразных необходимо учитывать показатели жесткости

воды, что ранее было показано В.Ф. Коваленко для тест-объектов – рыб [Коваленко, 2002 (Kovalenko, 2002)].

ВЫВОДЫ

1. Достоверное снижение плодовитости *Ceriodaphnia affinis* выявлено при уменьшении жесткости контрольной водопроводной воды до 0.38 мг-экв./л (разбавление в 32 раза).

2. Достоверное увеличение токсичности при снижении жесткости воды показано для фенола и додецилсульфата натрия.

3. Тип взаимодействия меди, фенола; карбофоса, дизельного топлива, додецилсульфата натрия в смеси в сублетальных концентрациях определен как антагонистический.

4. С уменьшением жесткости воды, использованной для приготовления растворов, тип взаимодействия в смеси не изменяется.

5. При уменьшении жесткости воды до 0.38 мг-экв./л отмечено увеличение токсичности смеси токсикантов, что выражается в снижении плодовитости рачков, которое, однако, не имело достоверных отличий от других вариантов.

Статья подготовлена при жизни Бориса Александровича Флёрова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алабастер Дж., Ллойд Р. Критерии и качество воды для пресноводных рыб. М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1984. 344 с.
- Виноградов Г.А. Обмен кальция и натрия у рыб при вариации концентраций ионов алюминия, меди, кадмия, магния и водорода // Биология внутренних вод: Инф. бюлл. 1992. № 91. С. 60–69.
- Виноградов Г.А., Маврин А.С., Тагунов В.Б., Ершов И.Ю. Влияние кальция, магния и тяжелых металлов на молодь леща. Условия проведения эксперимента // Биология внутренних вод: Инф. бюлл. 1992. № 91. С. 9–16.
- Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
- Зенин А.А., Белоусова Н.В. Гидрохимический словарь. Л.: Гидрометеиздат, 1988. 240 с.
- Коваленко В.Ф. К методике определения газообмена у водных животных // Гидробиологический журнал. 1986. Т. 22. № 4. С. 102–104.
- Коваленко В.Ф. Влияние ионов кальция на газообмен у рыб в присутствии ионов тяжелых металлов и алюминия // Гидробиологический журнал. 2002. Т. 38. № 5. С. 66–71.
- Маврин А.С., Виноградов Г.А., Лапирова Т.Б., Ершов И.Ю., Микрякова Т.Ф. Влияние кальция, магния и тяжелых металлов на молодь леща *Abramis brama* L. Результаты исследований // Биология внутренних вод: Инф. бюлл. 1992. № 91. С. 45–51.
- Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости цериодафний. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.6-2000. М.: Акварос, 2001. 45 с.
- Остроумов С.А. Биологические эффекты поверхностно-активных веществ в связи с антропогенными воздействиями на биосферу. М.: МАКС Пресс, 2000. 116 с.
- Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. Киев.: Наукова думка. 1982. 152 с.
- Сапегин Д.Н. Анализ работ по изучению комбинированного действия пестицидов с бытовыми и производственными ядами. Симферополь: Крым. гос. мед. ун-т, 1998. 24 с.
- Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977. Т. 1. 608 с.
- Dutta T.K., Kavita A. Acute toxicity of cadmium to fish *Labeo rohita* and copepod *Diaptomus forbesi* pre-exposed to CaO and KMnO₄ // Chemosphere, 2001. 42. № 8. P. 955–958.
- Santore R.C., Di Toro D.M., Paquin P.R., Allen H.E., Meyer J.S. Biotic ligand model of acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in fresh water fish and *Daphnia* // Environ. Toxicol. and Chem. 2001. 20. № 10. P. 2397–2402.

REFERENCES

- Alabaster Dzh., Llojd R. 1984. Kriterii i kachestvo vody dlya presnovodnyh ryb [Criteria and water quality for freshwater fish]. M.: Legkaya i pishch. promyshlennost', 344 s.
- Dutta T.K., Kavita A. 2001. Acute toxicity of cadmium to fish *Labeo rohita* and copepod *Diaptomus forbesi* pre-exposed to CaO and KMnO₄ // Chemosphere. 42. № 8. P. 955–958.
- Vinogradov G.A. 1992. Obmen kal'ciya i natriya u ryb pri variacii koncentracij ionov alyuminiya, medi, kadmiya, mag-niya i vodoroda [Exchange of calcium and sodium in fish at various concentrations of aluminium, copper, cadmium, magnesium and hydrogen ions] // Biol. vnutr. Vod: Inf. byull. № 91. S. 60–69. [In Russian]

- Vinogradov G.A., Mavrin A.S., Tagunov V.B., Ershov I.YU. 1992. Vliyanie kal'ciya, magniya i tyazhelykh metallov na molod' leshcha. Usloviya provedeniya ehksperimenta [Effect of calcium, magnesium and heavy metals on the fingerlings of bream. The experimental conditions] // Biol. vnutr. Vod: Inf. byull. № 91. S. 9–16. [In Russian]
- Zajcev G.N. 1984. Matematicheskaya statistika v ehksperimental'noj botanike [Mathematical statistics in experimental botany]. M.: Nauka, 424 s. [In Russian]
- Zenin A.A., Belousova N.V. Gidrohimiicheskij slovar' 1988. [Hydrochemical dictionary]. L.: Gidrometeoizdat, 240 s. [In Russian]
- Kovalenko V.F. 1986. K metodike opredeleniya gazoobmena u vodnykh zhivotnykh [Method of determination of gas exchange of aquatic animals] // Gidrobiol. Zhurnal. T. 22. № 4. S. 102–104. [In Russian]
- Kovalenko V.F. 2002. Vliyanie ionov kal'ciya na gazoobmen u ryb v prisutstvii ionov tyazhelykh metallov i alyuminiya [Effect of calcium ions on the gas exchange of fish in the presence of heavy metal ions and aluminium] // Gidrobiol. zhurnal. T. 38. № 5. S. 66–71. [In Russian]
- Mavrin A.S., Vinogradov G.A., Lapirova T.B., Ershov I.YU., Mikryakova T.F. 1992. Vliyanie kal'ciya, magniya i tyazhelykh metallov na molod' leshcha *Abramis brama* L. Rezul'taty issledovaniy [Effect of calcium, magnesium and heavy metals on juveniles of bream *Abramis brama* L. The results of research] // Biol. vnutr. Vod: Inf. byull. № 91. S. 45–51. [In Russian]
- Metodika opredeleniya toksichnosti vody po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti ceriodafnij 2001. PND F T 14.1:2:3:4.6-2000 [Method of determination of water toxicity on change of *Ceriodaphnia* mortality and fertility. PND F T 14.1:2:3:4.6-2000]. M.: Akvaros, 45 s. [In Russian]
- Ostroumov S.A. 2000. Biologicheskie ehffekty poverhnostno-aktivnykh veshchestv v svyazi s antropogennymi vozdeystviyami na biosferu [Biological effects of surfactant substances in connection with anthropogenic impact on the biosphere]. M.: MAKSS Press. Vol. 2. 116 s. [In Russian]
- Romanenko V.D., Arsan O.M., Solomatina V.D. 1982. Kal'cij i fosfor v zhiznedeyatel'nosti gidrobiontov [Calcium and phosphorus in the vital activity of hydrobionts]. Kiev.: Naukova dumka, 152 s. [In Russian]
- Santore R.C., Di Toro D.M., Paquin P.R., Allen H.E., Meyer J.S. 2001. Biotic ligand model of acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in fresh water fish and *Daphnia* // Environ. Toxicol. and Chem. 20. № 10. P. 2397–2402.
- Sapegin D.N. 1998. Analiz rabot po izucheniyu kombinirovannogo dejstviya pesticidov s bytovymi i proizvodstvennymi yadami [Analysis of studies on combined action of pesticides and domestic and industrial poisons]. Simferopol': Krym. gos. med. un-t. 24 s. [In Russian]
- Sravnitel'naya fiziologiya zhivotnykh 1977 [Comparative physiology of animals]. M.: Mir, V. 1. 608 s. [In Russian]

THE EFFECT OF WATER HARDNESS ON CHRONIC TOXICITY OF THE POLLUTANT MIXTURE FOR *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILIGEBORG (CRUSTACEA, CLADOCERA)

I. V. Chalova, **B. A. Flerov**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: chalorina@yandex.ru*

In chronic (7 days) experiments on *Ceriodaphnia affinis* Lilligeborg, a significant decrease in crustacean fertility has been revealed under reduction of control water hardness up to 0.38 mg-eq./l. A significant increase in the toxicity at reduction of water hardness is shown for phenol and sodium dodecyl sulphate. The type of interaction between five priority polluting substances (copper, phenol; malation, diesel fuel, sodium dodecyl sulphate) in a mixture in sublethal concentrations was determined as antagonistic and did not change with the reduction of hardness of water used for solutions preparation. The toxicity of a mixture increased at the reduction of water hardness up to 0.38 mg-eq./l. This was manifested as the decrease in *Ceriodaphnia* fertility which, however, had no significant differences from other variants.

Key words: *Ceriodaphnia affinis* Lill., chronic toxicity, water hardness, copper, phenol; malation, diesel fuel, sodium dodecyl sulphate

Научное издание

*А. И. Аминов, И. Л. Голованова, Е. И. Головкина, Л. П. Гребенюк, В. А. Гремячих, М.Е. Елизаров,
Е. Н. Желток, Е. А. Заботкина, Е. С. Иванова, А. М. Киркина, Т. Р. Клевлеева, Л. В. Козлова,
В. Т. Котов, Д. Э. Кудряшова, Т. Б. Лапирова, Л. Н. Лапкина, Д. Г. Селезнев, Н. Ю. Степанова,
И. И. Томилина, Ю. Г. Удоденко, О. Ф. Филенко, Б. А. Флеров, И. В. Чалова, Г. М. Чуйко, Е. В. Щедрова*

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ

Труды ИБВВ РАН, вып. 77(80), 2017

Подписано в печать ??09.2016. Формат 60×90 1/8.
Усл. печ. л. 16,5. Заказ № 16259. Тираж 150 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Филигрань»
150049, г. Ярославль, ул. Свободы, 91, тел. 8 (4852) 98-27-05, pechataet@bk.ru