

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ВОДНЫХ ПРОБЛЕМ РАН
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД ИМ. И.Д. ПАПАНИНА РАН
РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ПРИ РАН

МАТЕРИАЛЫ

III ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ВОДНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ Б.А. ФЛЕРОВА

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

КОНФЕРЕНЦИИ ПО ГИДРОЭКОЛОГИИ

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД И МЕТОДЫ НОРМИРОВАНИЯ АНТРОПОГЕННЫХ НАГРУЗОК

ШКОЛЫ-СЕМИНАРА

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД, СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ И ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

11-16 ноября 2008 г.

ЧАСТЬ 2

БОРОК 2008

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД
ИМ. И.Д. ПАПАНИНА РАН**



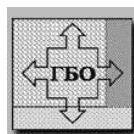
ИНСТИТУТ ВОДНЫХ ПРОБЛЕМ РАН



РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ПРИ РАН



МАТЕРИАЛЫ

**III ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ВОДНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ Б.А. ФЛЕРОВА**

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

КОНФЕРЕНЦИИ ПО ГИДРОЭКОЛОГИИ

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД И МЕТОДЫ НОРМИРОВАНИЯ АНТРОПОГЕННЫХ НАГРУЗОК

ШКОЛЫ-СЕМИНАРА

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД, СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ И ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

11-16 октября 2008 г.

ЧАСТЬ 2

БОРОК 2008

УДК 574.47(063) + 504.4.064(063) + 504.06.08.(063)

Материалы III Всероссийской конференции по водной токсикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова, «**Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы**», конференции по гидроэкологии «**Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок**» и школы-семинара «**Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки**». Часть 2. (Борок, 11-16 октября 2008 г.). – Борок, 2008. – 363 с.

Сборник материалов опубликован при финансовой поддержке:

Отделения наук о Земле РАН

Отделения биологических наук РАН

Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 08-0506119-Г и 08-04-06128-Г)

Гидробиологического общества при РАН

В книге представлены результаты исследований по широкому кругу теоретических и практических вопросов водной токсикологии и охраны окружающей среды. В части 2 опубликованы материалы докладов конференции «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы». Рассматриваются биохимические, физиологические, поведенческие реакции гидробионтов на действие антропогенных факторов; структурные и функциональные характеристики популяций гидробионтов и водных экосистем в условиях антропогенной нагрузки.

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

Материалы печатаются в авторской редакции

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

Фото на обложке: вид индустриального комплекса г. Череповца с Рыбинского водохранилища, на обороте – Рыбинское водохранилище вблизи Борка. © Г.М. Чуйко, 2008

ISBN

© Институт биологии внутренних вод РАН, 2008

© Институт водных проблем РАН, 2008

БИОХИМИЧЕСКИЕ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ, ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПЕРМИТРИНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК МОЛОДИ СИБИРСКОГО ОСЕТРА

Л.В. Балабанова

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

152742 Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок, Россия, balab@ibiw.yaroslavl.ru

В настоящее время проблема иммунитета рыб привлекает внимание исследователей, в частности, в связи с загрязнением водоемов разного рода токсикантами и изучением их влияния на рыб. Отмечено, что у рыб из районов постоянного поступления промышленных и сельскохозяйственных стоков в водоемы наблюдаются инфекционные и инвазионные болезни (Schaperclaus, 1979; Anderson, 1990; Ларцева и др., 1992). Определялось воздействие ряда токсикантов – фосфорорганических соединений, солей тяжелых металлов, фенола – на иммунную систему рыб (Микряков и др., 1991, 2001), Балабанова, 1997; 1998, O'Neill, 1981; Thuvander, 1989).

В представленной работе рассматривается действие пермитрина на клетки иммунной системы осетра.

Пермитрин – синтетический пиретроид, аналог природных пиретринов, содержащихся в цветах долматской ромашки (перетрума). Он применяется как инсектицид в сельском хозяйстве. Низкие нормы расхода, способность к быстрой биодegradации, малая летучесть обусловили рост объема использования синтетических пиретроидов для обработки полей против насекомых. Известно, что основные проявления токсического воздействия их на животных характеризуются преимущественно нарушениями функции центральной нервной системы, при этом и все другие системы организма животного страдают от действия пестицида, в том числе и иммунная. У осетровых к органам иммунной системы относятся тимус, селезенка, почки, гемопоэтическая ткань перикардальной и краниальной областей, где образуются иммунокомпетентные клетки (Fänge, 1982). К последним относятся лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и гранулоциты.

В опытах использовались сеголетки сибирского осетра *Acipenser baeri*. Осетров средней массой 11.4 г содержали в аквариумах с аэрируемой водой, где поддерживалась сублетальная концентрация пермитрина (0.1 мкг/л). Рыб для анализа (по 5 особей) отбирали через 7, 14, 30 и 60 суток содержания осетров в воде с добавлением пестицида. В те же сроки отбирали и контрольных рыб. Структуру иммуноцитов исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии. Фиксацию и последующую обработку материала производили по ранее описанной методике (Балабанова, Заботкина, 1988). Для изучения ультраструктуры иммунокомпетентных клеток осетра брались кусочки органов и тканей, где эти клетки образуются – почки, селезенки и краниальной ткани. Ультратонкие срезы (50-60 нм) после контрастирования 4%-ным водным раствором уранил-ацетата и окрашивания 1%-ным раствором цитрата свинца просматривали в ЕМ JEM 100С при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Контроль. Ультраструктура малых лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов сибирского осетра соответствует таковой костистых рыб и млекопитающих.

Малые лимфоциты. В этих клетках большую ее часть занимает ядро, содержащее значительное количество гетерохроматина, цитоплазма представлена узким ободком и бедна органоидами, она обычно содержит митохондрии, гранулы типа лизосом и свободные рибосомы (рис.1, а).

Плазматические клетки. Отличительная черта плазматических клеток – наличие в цитоплазме хорошо развитой сети гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), на рибосомах которого синтезируются иммуноглобулины. Кроме ГЭР. Занимающего практически всю цитоплазму клетки, здесь имеются отдельные митохондрии, гранулы типа лизосом и свободные рибосомы (рис.1, в).

Бластные клетки- незрелые, несформировавшиеся в определенный тип клетки, для которых характерно ядро с небольшим количеством гетерохроматина, цитоплазма со свободными рибосомами и митохондриями (рис.1, д).

Макрофаги – самые крупные из всех иммуноцитов. В их цитоплазме содержатся фагосомы, часто включающие целые погибшие клетки (рис.2, а).

У сибирского осетра 2 типа гранулоцитов, по аналогии с млекопитающими и костистыми видами рыб они отнесены к нейтрофилам и эозинофилам.

Нейтрофилы – наиболее многочисленный тип гранулоцитов. Форма ядра этих клеток разнообразна, от бобовидной до трехлопастной. В цитоплазме 2 типа специфических гранул – продолговатые, имеющие тонкую фибриллярную структуру, и округлые, несколько митохондрий, рибосомы и отдельные цистерны ГЭР (рис.2, б)

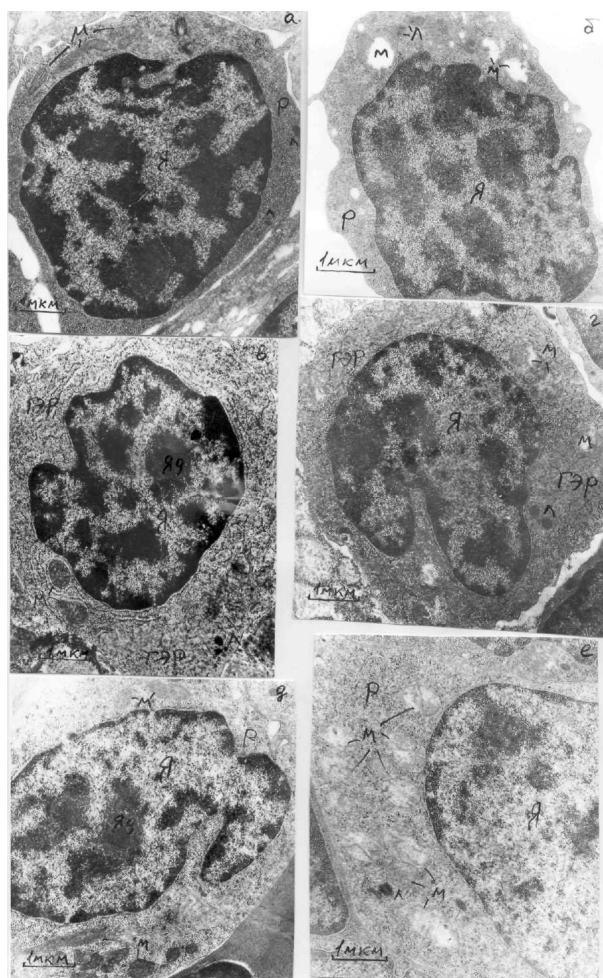


Рис.1. Малые лимфоциты (а,б); плазматические клетки (в,г); бластные клетки (д,е) осетра; а,в,д – контроль; б,г,е – опыт; гэр – гранулярный эндоплазматический ретикулум, л – лизосомы, м – митохондрии, р – ризосомы, я – ядро.

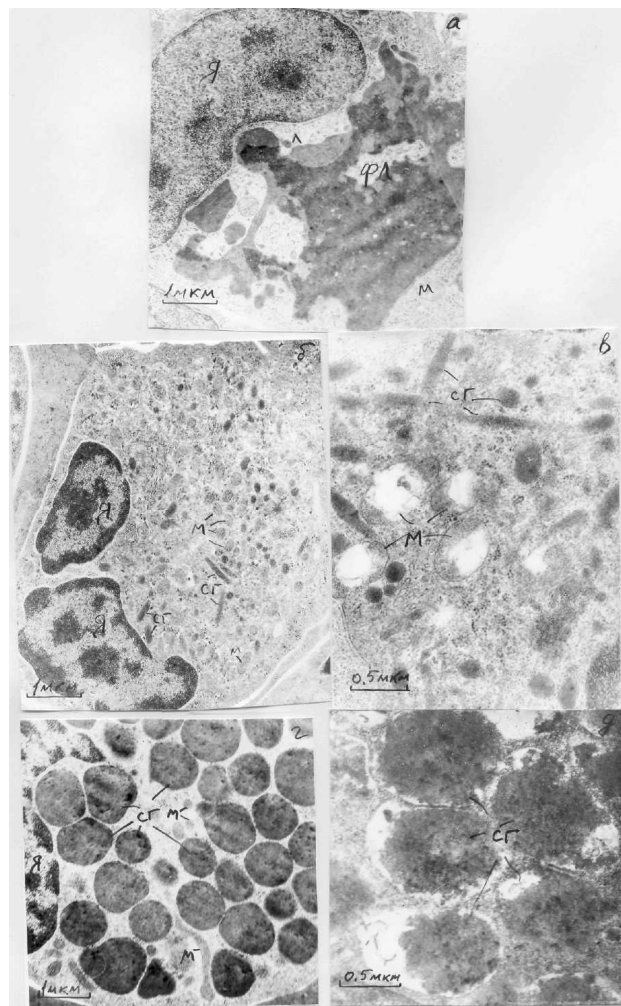


Рис.2. Макрофаг (а); нейтрофилы (б,в); эозинофилы (г,д) осетра; б,г – контроль; а,в,д –опыт; сг – специфические гранулы, остальные обозначения те же, что на рис.1.

Эозинофилы – клетки с округлым ядром и большим количеством округлых гомогенных специфических гранул в цитоплазме (рис.2, г).

Опыт. Наиболее выраженные изменения в ультраструктуре иммуноцитов наблюдались через 2 мес воздействия пермитрина. Одни из клеточных органоидов – митохондрии – становились набухшими, с просветленным матриксом и разрушенными кристами в малых лимфоцитах, плазматических клетках, нейтрофилах и бластных формах клеток (рис. 1, б, г, е, рис.2,в). В эозинофилах наблюдалась деструкция специфических гранул (рис.2, д). Изменений в структуре макрофагов не выявлено (рис.2, а).

Морфологические изменения митохондрий иммуноцитов (их набухание, просветление матрикса, разрушение крист) при длительном содержании рыб в воде с пермитрином отражают их функциональные изменения. Происходящие при воздействии токсиканта глубокие изменения митохондрий нарушают процессы окислительного фосфорилирования. При деградации митохондрий снижается синтез АТФ, обеспечивающий клетку необходимой энергией. Митохондрии – наиболее мобильные структуры клетки, изменение их опережает и определяет ответы других органоидов и гибель клетки на действие повреждающих факторов, и их состояние может служить чувствительным показателем состояния клетки (Машанский и др., 1971). Деградация митохондрий в малых лимфоцитах, плазматических клетках, гранулоцитах и бластных формах клеток под действием пермитрина приводит к снижению устойчивости рыб к болезням. Изменения структуры митохондрий происходят при воздействиях, еще не затрагивающих другие клеточные структуры.

Подобные изменения ультраструктуры митохондрий в иммуноцитах рыб разных видов наблюдаются и при воздействии других токсикантов (Балабанова, 1997, 1998; Микряков и др., 2001), различия в

продолжительности содержания рыб в воде с токсикантами. Так, в воде с добавлением солей тяжелых металлов структура митохондрий в иммунокомпетентных клетках рыб изменяется уже через 14 суток. Некоторые авторы (O'Neill, 1981; Robohm, 1986) отметили уменьшение производства антител у рыб при содержании их в воде с солями кадмия, что может быть вызвано деградацией митохондрий в продуцирующих антитела клетках и их предшественниках и нарушением вследствие этого функций этих клеток.

Выражаю благодарность А. С. Маврину за помощь при постановке эксперимента.

Список литературы

- Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* // Цитология. 1997. Т.39. №8. С.677-680.
- Балабанова Л.В. Влияние тяжелых металлов на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток селезенки и почек осетра *Acipenser baeri* Brandt // Биол. внутр. Вод. 1998. №2. С. 80-85.
- Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. Ультраструктура клеток иммунной системы карпа *Cyprinus carpio* в норме и при иммунизации // Цитология. 1988. Т.30. №6. С.657-662.
- Ларцева Л.В., Зубкова Л.А., Степанова Г.А. и др. Ихтиопатологическая ситуация в дельте Волги // Ветеринария. 1992. №4. С. 15-20.
- Маишанский В.Д., Комиссарчик Я.Ю., Винниченко Л.Н. и др. О различных изменениях ультраструктуры митохондрий в связи с функциональными особенностями клетки. Митохондрии: структура и функции в норме и патологии. М., 1971, с. 9-18.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды М.: Наука, 2001. 126 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Силкина Н.И. и др. Функционирование иммунной системы рыб под воздействием биотических и абиотических факторов // ИБВВ АН СССР. Борок. 1991. Деп. В ВИНТИ, № 809-В91. 93 с.
- Anderson D.P. Immunological indicators: effects of environmental stress on immune protection and disease outbreaks // Amer. Fish. Soc. Symp. 1990. V.8. P. 56-61.
- Fänge R. A comparative study of lymphomyeloid tissue in fish. Developmental a. Comp. Immunol. Supplement 2, 1982, p.23-33.
- O'Neill J.G. Effects of intraperitoneal lead and cadmium on the humoral immune response of *Salmo trutta* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1981. V.27. P.42-48.
- Robohm R.A. Paradoxical effects of cadmium exposure on antibacterial antibody responses in two fish species: inhibition in cannery (*Tautoglabrus adspersus*) and enhancement in striped bass (*Morone saxatilis*) // Vet. Immunol. A. Immunopathol. 1986. V. 12. P. 1443-1450.
- Schaperclaus W. Fischkrankheiten. B. 1979.
- Thuvander A. Cadmium exposure of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson effects on immune functions // J. Fish Biol. V.35. P. 521- 529.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *GAMMARUS LACUSTRIS*

Д.С. Бедулина², Ж.М.Шатилина^{1,2}, М.В.Губанов³, Е.С.Задереев³,

М.В. Протопопова², В.В. Павличенко², М.А.Тимофеев^{1,2}

¹Байкальский исследовательский центр,

664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия; brc.contact@gmail.com

²Иркутский государственный университет. 664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россия

³Институт биофизики СО РАН, 664036, Красноярск, Академгородок, Россия

Из всех видов антропогенных воздействий на водные экосистемы, токсическое загрязнение приобрело наибольшее распространение. Необходимость оценки степени загрязнения и исследования путей влияния токсических веществ на водные организмы не теряет своей актуальности.

В процессе эволюции у живых организмов сформировались защитные механизмы, которые позволяют им выживать в постоянно изменяющихся условиях среды обитания. К числу таких механизмов относят белки теплового шока (БТШ), которые помогают организмам противостоять как температурным, так и другим стрессовым воздействиям; а так же элементы антиоксидантной системы (АОС), предотвращающие повреждения, вызванные активными формами кислорода (АФК), которые образуются при воздействии большинства стрессов.

Особый интерес для изучения резистентных механизмов гидробионтов представляют виды-космополиты. Космополиты, обитающие в самых разных экологических условиях, в основном

характеризуются широкой экологической валентностью. Их популяции, обладая единством генетического материала, под влиянием достаточно резко отличающихся абиотических факторов среды, меняют свой внешний облик, а так же изменяются пределы устойчивости к данным факторам.

Целью данного проекта являлось сравнительное исследование адаптивных реакций на токсическое воздействие у широко распространенного вида *Gammarus lacustris* Sars (Amphipoda, Crustacea), из популяций, обитающих в контрастно различающихся условиях среды. В работе проводили оценку токсического воздействия хлорида кадмия (CdCl_2) на содержание двух семейств БТШ: низкомолекулярных БТШ (нмБТШ) и БТШ70, - и на активность антиоксидантных ферментов (пероксидазы и каталазы).

В работе использовали представителей популяции минерализованного меромектического озера Шира (республика Хакасия). Оз. Шира характеризуется низким содержанием кислорода и наличием сероводорода. Также использовали представителей популяций прибайкальских озер (Иркутская область). Прибайкальские озера, населенные *G. lacustris*, характеризуются широким диапазоном параметров. Ряд водоемов мелководные: с богатой растительностью, эвтрофные, с неустойчивым газовым режимом, многие «заморные». Вода озер слабо минерализована преимущественно карбонатными солями Са и Mg. Диапазон pH в водоемах от 6,2 до 9,2.

Проводили экспозицию рачков в растворе хлорида кадмия с концентрацией 0,05 мг/л в течении различных периодов от 1 ч до 3 суток. После экспериментов рачки были заморожены жидким азотом. Отбор образцов для биохимического анализа проводили из недифференцируемых тканей.

В работе оценивали уровень синтеза белка теплового шока БТШ70. Суммарный белок выделяли в 0.1 М Трис-НСl буфере (pH 7.6). Гомогенат центрифугировали 15 мин при 7000 g, осадок растворяли в буфере для образца (pH 6.8), содержащем 1 mM ЭДТА, 1% ДДС-Na, 20 % глицерин, 5 % β -меркаптоэтанол, 0.001 % бромфеноловый синий. Полученные белковые пробы хранили при температуре -20°C. Количество белка в пробах определяли по методу Лоури при длине волны 750 нм. Определение характера синтеза БТШ70 проводили, используя стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12.5 % полиакриламидном геле, с последующим Вестерн-блоттингом с антителами к БТШ70 (monoclonal anti-heat shock protein 70 clone BRM-22, Sigma Chemical Co). Полуколичественный анализ содержания белка на мембранах проводили с помощью программы Gel Explorer.

Образцы для определения активности ферментов готовили согласно методике детально описанной в работе (Timofeyev et al. 2007). Активность пероксидазы измеряли, используя в качестве субстрата гваякол при длине волны 436 нм, pH 5; активность каталазы с добавлением перекиси водорода при длине волны 240 нм, pH 7. Активность ферментов выражали в нкат/мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Бредфорда при длине волны 595 нм.

Исследование показало наличие конститутивного синтеза нмБТШ и БТШ70 у *G. lacustris* из обеих популяций. После токсического воздействия наблюдали последовательное достоверное увеличение содержания нмБТШ и БТШ70 у амфипод в течение всего хода экспозиции. Экспонирование амфипод вызывало достоверное ($p < 0,05$) снижение активности пероксидазы после 3 суток, а каталазы уже после 2 часов эксперимента.

Как показывают результаты нашего исследования, у рачков, экспонированных в растворах хлорида кадмия происходит индукция синтеза обоих БТШ. Учитывая, что оба белка являются шаперонами, усиление их экспрессии указывает на вероятное нарушение структуры и функций клеточных белков. В таком случае, белки теплового шока являются одними из ключевых компонентов клеточной защиты от токсического повреждения. Известно, что ионы кадмия способны ингибировать активность антиоксидантных ферментов. Снижение активности каталазы и пероксидазы может быть связано со снижением общего метаболизма в результате воздействия стресса, вызванного действием CdCl_2 .

Таким образом, представленные результаты показывают, что БТШ обоих изученных семейств в равной степени участвуют в механизмах токсикорезистентности у амфипод *G. lacustris* независимо от популяционной принадлежности. В присутствии хлорида кадмия у исследованных амфипод происходит угнетение антиоксидантных процессов. Токсичное влияние хлорида кадмия на клеточном уровне, возможно, выражается в нарушении функций клеточных белковых структур. Защита от неблагоприятного токсического действия у амфипод включает в себя активацию синтеза низкомолекулярного шаперона α -кристаллина и БТШ70.

Работа поддержана грантами РФФИ: № 08-04-00928-а, №08-04-10065-к.

Список литературы

Timofeyev M.A., Shatilina Z.M., Bedulina D.S., Protopopova M.V., Pavlichenko V., Grabelnich O.I., Kolesnichenko A.V. Evaluation of biochemical responses in Palearctic and Lake Baikal endemic amphipod species exposed to CdCl_2 . Ecotoxicol. Environm. Safety Volume 70, Issue 1, May 2008, Pages 99-105.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ СТОЧНЫХ ВОД, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ СЫРОГО БЕНЗОЛА

Н.К. Блинова, В.А. Осмоловский, А.П.Какичев

*Технологический институт Восточнoукраинского национального университета им. В. Даля
Советский просп. 59а, Северодонецк, Луганская обл., 93400 Украина, sti@sti.lg.ua*

В результате деятельности промышленных предприятий в поверхностные водоемы попадает огромное количество высокотоксичных соединений органического и неорганического происхождения. Поступление загрязняющих веществ в водоемы оказывает неблагоприятное воздействие на гидробионтов, приводит к нарушению состояния водных экосистем. Важнейшим направлением охраны водной среды является предотвращение попадания в нее загрязнений с неочищенными или недостаточно очищенными сточными водами.

Серьезную опасность для состояния поверхностных вод представляют различные группы органических соединений, поступающих со стоками промышленных предприятий. Одним из основных продуктов органического синтеза является бензол, представляющий собой исходное сырье для синтезов капролактама, адипиновой кислоты, полистирола и т.д. Среди сырьевых источников товарного бензола основным является продукт коксохимического производства – «сырой бензол».

Товарный бензол получают путем разделения «сырого бензола» ректификационными методами на отдельные фракции, с дальнейшей очисткой этих фракций от серосоединений методами сернокислотной мойки или гидроочистки. При этом образуются следующие виды сточных вод: подсмольная вода сырого бензола и подсмольная вода колонны выделения головной фракции в количествах около 24кг и 9кг на 1 тонну сырого бензола соответственно.

Предотвращение загрязнения водоемов от органических веществ во многом зависит от надежной и качественной очистки сточных вод. До настоящего времени для извлечения органических загрязнений из бытовых и промышленных сточных вод успешно применяется метод биологической очистки. К числу преимуществ метода биохимической очистки относится способность микроорганизмов подвергать биохимическому окислению различные классы органических соединений и, как следствие, возможность применения метода на многих производствах (Роговская, 1967; Когановский и др.1974; Орловский,1974).

Биологическая очистка сточных вод основана на физиологической особенности микроорганизмов использовать в качестве питательного и энергетического субстрата широкий спектр органических веществ и неокисленные минеральные соединения – углеводороды, ароматические вещества, органические кислоты, спирты, жиры, углеводы, аммиак, нитриты. В процессе биологической очистки формируется сложный по составу биоценоз активного ила, состоящий в основном из скоплений бактерий, он также включает простейшие, грибы, водоросли. Главным действующим началом активного ила являются микроорганизмы. Микробные клетки осуществляют деструкцию органических молекул и получают необходимую для жизнедеятельности энергию. Качественный и количественный состав микроорганизмов зависит от характера стоков ((Роговская, 1967; Орловский,1974; Яковлев, Карюхина, 1990).

Настоящая работа посвящена исследованию степени токсичности для микрофлоры биоценоза активного ила жидких отходов, образующихся в процессе переработки сырого бензола, определению основных биохимических показателей - ХПК (химического потребления кислорода), БПК (биохимического потребления кислорода) и оценке возможности биологической очистки этих стоков.

Нами проведена серия лабораторных опытов в статических условиях по определению степени токсичности сточных вод, образующихся при переработке сырого бензола, для сапрофитной микрофлоры биоценоза активного ила. Эксперименты проводились по стандартной методике НИИ ВОДГЕО. Активный ил использовали из действующих сооружений биохимической очистки сточных вод предприятия ЗАО «Северодонецкое Объединение Азот».

Химическое потребление кислорода подсмольных вод определяли бихроматным методом. Биологическое потребление кислорода - модифицированным нитратным методом, где в качестве источника кислорода для окисления органических веществ использовались нитраты (Лурье, 1984). Подсмольные воды разбавляли дехлорированной водопроводной водой до значения показателя ХПК равного 300-500мгО/дм³. Аналитический контроль за ходом процесса проводили по основным показателям: рН, ХПКбихр., БПК полн., азот аммонийный ($N-NH_4^+$), азот нитритный ($N-NO_2^-$) и азот нитратный ($N-NO_3^-$). Интенсивность размножения бактерий сапрофитов оценивали по величине оптической плотности.

Для опытов использовали реальные подсмольные воды сырого бензола, полученные на пилотной установке в разведении 1 : 40, 1 : 80 и подсмольные воды колонны выделения головной фракции в разведении 1 : 200, 1 : 400, что соответствует ХПК 100 и 50 мгО/дм³. В качестве контрольной пробы применяли раствор адипиновой кислоты в концентрации 100 мг/дм³ (ХПК 100 мгО/дм³). Качественный состав суммарного потока сточных вод (подсмольная вода сырого бензола и подсмольная вода колонны выделения головной фракции) образующихся при переработке сырого бензола определяли хроматографическим методом.

Исходя из исследования качественного состава сточные воды, образующиеся при переработке сырого бензола, представляют собой сложную многокомпонентную смесь, содержащую органические вещества преимущественно бензольного ряда (такие как бензол, толуол, ксилол, этилбензол), непредельные соединения (циклопентадиен, стирол, кумарон, циклогексен), сернистые соединения (сероуглерод, тиофен) и насыщенные углеводороды жирного и гидроароматического ряда (циклогексан).

Большая часть компонентов исследуемых сточных вод обладает ярко выраженным токсическим действием для гидробионтов и низкой степенью биологической деструкции. Ряд органических веществ характеризуются как соединения усваиваемые и подвергающиеся биохимическому окислению микроорганизмами – бензол, толуол, ксилол, стирол, фенол. Однако, степень биохимического окисления, выражаемая соотношением БПКполн./ХПКбихр. для перечисленных веществ различна. Бензол в незначительной степени окисляется микроорганизмами 37.4%, его производные с короткой боковой цепью, например толуол, разлагаются несколько легче – 58.8% (Беспамятнов, Кротов, 1985). При разрушении углеводородов бензольного ряда вначале окисляется боковая цепь, постепенно укорачиваясь. Лаг-фаза, то есть время которое требуется микроорганизмам для начала активного размножения, а затем окисления вещества, зависит от скорости перестройки ферментативного аппарата, окисляющего боковую цепь, за отщеплением которой следует распад кольца (Когановский и др., 1974). Такие соединения, как бензол, толуол подвергаются деструкции при длительной адаптации микроорганизмов. Циклогексан, циклогексен, тиофен, этилбензол – биологическому распаду не подлежат. О возможности биологической деструкции таких компонентов, как пентан, гептен-1, диметилциклогексан, кумарон, дициклопентадиен, инден (всего 11 веществ) – данные в литературе отсутствуют. По отдельным веществам - диметилциклогексан, гептен-1, μ -этилтолуол, кумарон, инден - отсутствуют и нормативы предельно допустимой концентрации ПДК (Беспамятнов, Кротов, 1985).

Нами определено, что одними из преобладающих высокотоксичных компонентов в стоках являются: циклопентадиен в концентрации 215.9 мг/дм³ и сероуглерод в концентрации 193.3 мг/дм³. Эти вещества являются лимитирующими при оценке возможности биологической очистки. Однако биохимические характеристики циклопентадиена отсутствуют. Сероуглерод обладает выраженным токсическим действием на микрофлору активного ила. При содержании сероуглерода в воде в концентрации 30-40 мг/дм³ наблюдается угнетающее влияние на развитие сапротрофной микрофлоры (Никаноров, 1989). Показатель МКбос., который соответствует максимальной концентрации загрязняющего вещества, допустимой для подачи на биологические очистные сооружения, для сероуглерода равен 5 мг/дм³. Исходя из этого сточные воды – подсмольные воды сырого бензола и колонны выделения головной фракции, могут быть направлены на БОС (биологические очистные сооружения) при разбавлении не менее чем в 50 раз.

Согласно экспериментальным данным сточные воды переработки сырого бензола представляют собой высококонцентрированные органосодержащие отходы. Более загрязненными являются подсмольные воды колонны выделения головной фракции. Показатель ХПКбихр. подсмольной воды сырого бензола составил 4.020 гО/дм³, подсмольной воды колонны выделения головной фракции – 20.750 гО/дм³, БПКполн. – 1.328 гО₂/дм³ и 8.093 гО₂/дм³ соответственно. Степень биохимического окисления микроорганизмами исследуемых вод низкая (менее 50%) и составляет 33% для подсмольной воды сырого бензола и 39% для подсмольной воды колонны выделения головной фракции.

При разбавлении подсмольных вод сырого бензола 1 : 40 наблюдалось существенное торможение развития гетеротрофных микроорганизмов. При разбавлении 1 : 80 развитие бактерий сапрофитов практически не отличалось от такового в контроле. Пик размножения микроорганизмов произошел на 3-4 сутки. Время полного окисления составило 10 суток (в контроле 8 суток).

Подсмольные воды колонны выделения головной фракции при разбавлении 1 : 200 практически полностью подавляли развитие микроорганизмов сапрофитов. Подсмольные воды в разбавлении 1 : 400 не обладали токсичностью, но тормозили развитие бактерий-сапрофитов по сравнению с контрольной пробой во времени. Период адаптации в опыте составлял трое суток. По

истечении трех суток динамика биохимического окисления не отличалась от контроля. Максимальное увеличение микробной массы происходило на 5-7 сутки с учетом периода адаптации. Время полного окисления органических веществ подсмольных вод колонны выделения головной фракции после адаптации микроорганизмов активного ила составило 11 суток.

Таким образом, подсмольные воды сырого бензола при разбавлении 1 : 40 и колонны выделения головной фракции при разбавлении 1 : 200 оказывают токсическое действие на биоценоз активного ила. Подсмольные воды сырого бензола при разбавлении 1 : 80 и подсмольные воды колонны выделения головной фракции при разбавлении 1 : 400 не проявляют токсического действия на сопотрофных микроорганизмов активного ила.

Сточные воды, образующиеся при переработке сырого бензола при определенных технологических условиях (Блинова, 2008) и экспериментально определенной степени разбавления могут подвергаться биологической очистке. Учитывая низкую степень биохимического окисления загрязняющих компонентов исследуемых вод, наличие трудноокисляемых органических веществ а также веществ, обладающих токсическим действием для микроорганизмов биоценоза активного ила необходим длительный период адаптации.

Список литературы

- Беспмятнов Г.П., Кротов Ю.А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в воздухе и воде. Справочник. – Л.: Химия, 1997. –321с.
- Блинова Н.К. Оптимизация процесса биологической очистки органосодержащих промышленных сточных вод //Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Серія: Технічні науки.-Луганськ: ЛНАУ.- 2008. -№81. – С.269-274.
- Когановский А.М., Кульский Л.А., Сотникова Е.В., Шмарук В.Л. Очистка промышленных сточных вод. – К.: Техника, 1974. – 257с.
- Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984.- 448с.
- Никаноров А.М. Гидрохимия. – Л.: Гидрометеиздат. – 1989. -165с.
- Орловский З.А. Очистка сточных вод за рубежом. – М.: Стройиздат, 1974. -192с.
- Роговская Ц.И. Биохимический метод очистки производственных сточных вод. - М.: Стройиздат, 1967. – 140с.
- Яковлев С.В., Карюхина Т.А. Биохимические процессы в очистке сточных вод. – М.: Стройиздат, 1990. -107с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОРМУЛЫ КРОВИ РЫБ В БИОТЕСТИРОВАНИИ И БИОМОНИТОРИНГЕ

М.Р. Верголяс

*Института коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского НАН Украины
лаборатория биомаркеров и биотестирования
г. Киев, бульв. акад. Вернадского, 42, Украина, vergolyas@meta.ua*

Среди методов оценки состояния популяции рыб важное место занимают гематологические исследования. Кровь является одной из наиболее лабильных тканей, быстро реагируя на действие различных факторов. Это позволяет получить объективную оценку физического состояния каждой особи и популяции в целом.

Лейкоциты рыб представлены разными по структуре и характеру функционирования клетками: лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами, эозинофилами и базофилами. В основном, лейкоциты рыб, в отличие от высших позвоночных, представлены лимфоцитами, тогда как у теплокровных - клетками нейтрофильного ряда. У рыб лимфоциты составляют 45-99 % клеток от общего количества лейкоцитов, вместе с тем в высших позвоночных - 25-30%.

Общее количество лейкоцитов и процент отдельных их типов клеток в организме рыб колеблется и зависит от индивидуальных, вековых особенностей, поры года, впечатление паразитами, присутствия в воде токсичных факторов и от других условий существования. рыб (Рош и Бож, 1996). Картина крови изменяется в зависимости от температуры и загрязнения воды, гидрохимического режима и других условий обитания рыб.

На влияние внешних факторов рыбы реагируют интенсивностью лейкопоза и изменением соотношения между лимфоцитами и гранулоцитами. В организме рыб под влиянием «агрессивных»

факторов увеличивается содержание клеток гранулоцитарного ряда (палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов) (Кларк, Вайтмор и МакМахон, 1979).

Исследование мазков крови позволяет получить информацию о состоянии иммунитета особи, уровня ее стрессированности, что в совокупности с другими параметрами, получаемыми при популяционных исследованиях (генотип, особенности морфологии) может дать сведения, достаточно ценные и в практическом и в теоретическом отношении.

Представлены примеры двух независимых исследований, первое из которых выполнено по принципу биотестирования, а второе - биомониторинга.

Во время экспедиционных выездов были получены пробы воды из реки Днепр (р-н Гидропарк и р-н Бортничи) и из реки Десна (р-н Хотяновка). В качестве контроля брали отстоявшуюся в течении трех дней водопроводную воду, пропущенную через бытовой фильтр "Барьер".

В отличие от предыдущего, второе исследование носило мониторинговый характер и имело целью оценить длительное влияние антропогенного загрязнения на организм рыб с помощью предложенных гематологических методов. Для исследования влияния антропогенного загрязнения морских вод на гематологические показатели рыб особи кефали-лобана *Mugil cephalus* были выловлены вблизи г. Афины, на побережье Средиземного моря (Греция). Были отобраны две базовые репрезентативные станции для сбора в районе Анависос и районе Перама. Район Перама характеризовался значительным уровнем антропогенного загрязнения, благодаря наличию предприятий тяжелой промышленности и близкому расположению порта Шрей. Район Анависос характеризовался как экологически благополучный.

При исследовании влияния, отобранных образцов воды на гематологические показатели рыб *Carassius auratus*. Отбирали особей весом 15-20 г, длиной 80-100 мм и переносили их в сосуды с образцами речной воды. Воду постоянно насыщали воздухом, во избежание явления гипоксии. Каждая экспериментальная группа насчитывала 8 особей. После 4 суток инкубации получали образцы крови для цитологического анализа.

При изучении продолжительного влияния антропогенной нагрузки на гематологические показатели рыб *Mugil cephalus*, в каждом месте вылова отбирали по 5 особей.

Кровь отбирали из хвостовой вены, капли крови наносили на предварительно обезжиренное предметное стекло. Препараты подсушивали на воздухе, предотвращая попадание пыли, фиксировали в 96 %-ном этаноле 30 мин и снова подсушивали. Фиксированные препараты хранились в сухом месте до проведения цитологического анализа. Препараты окрашивали непосредственно перед анализом. Препараты окрашивали по методике Паппенгейма - Крюкова, которая заключается в комбинированной обработке мазков раствором Мая-Грюнвальда и 2% раствором Романовского, что дает возможность лучше дифференцировать составные части клеток. Цитологические препараты анализировали под световым микроскопом с общим увеличением $\times 1000$.

Результаты исследования представлены в таблицах 1 и 2. В сравнении с контрольными показателями наблюдался рост количества бластных клеток при влиянии проб воды из р. Днепр в районе Гидропарка на в среднем на 6% ($p < 0,05$). Также при воздействии данной пробы отмечена тенденция к увеличению количества промиелоцитов. Подобные изменения, но в меньшей степени отмечены при воздействии пробы воды из р. Десна (табл. 1).

Таблица 1. Лейкоцитарная формула (%) рыб, *Carassius auratus*, при влиянии исследуемых проб воды

Исследуемые показатели	Контроль	Десна	Киев-Днепр	Бортничи-Днепр
Бласты	0.01 \pm 0.01	0.04 \pm 0.03	0.07 \pm 0.04*	0.1 \pm 0.05
Промиелоциты	0.06 \pm 0.04	0.08 \pm 0.04	0.09 \pm 0.04	0.01 \pm 0.01
Миелоциты	0.49 \pm 0.11	0.48 \pm 0.11	0.38 \pm 0.09	0.38 \pm 0.09
Метамиелоциты	2.5 \pm 0.24	2.5 \pm 0.24	2.66 \pm 0.25	2.48 \pm 0.24
Палочкоядерные нейтрофилы	1.39 \pm 0.18	1.55 \pm 0.19	1.45 \pm 0.19	1.54 \pm 0.19
Сегментоядерные нейтрофилы	1.51 \pm 0.19	2.02 \pm 0.22*	2.06 \pm 0.22*	2.03 \pm 0.22*
Эозинофилы	0.26 \pm 0.08	0.58 \pm 0.12*	0.76 \pm 0.13*	0.8 \pm 0.14*
Базофилы	4.52 \pm 0.33	5.37 \pm 0.36	7.88 \pm 0.43*	7.75 \pm 0.42*
Моноциты	4.33 \pm 0.32	7.48 \pm 0.42*	7.29 \pm 0.41*	7.48 \pm 0.42*
Лимфоциты	84.9 \pm 0.57	79.8 \pm 0.64	73.6 \pm 0.70	73.6 \pm 0.70

* – $p < 0.05$

Все исследуемые пробы воды вызвали рост количества сегментоядерных нейтрофилов почти в два раза, от $1.51 \pm 0.19\%$ в контроле до 2.02 ± 0.22 , 2.06 ± 0.22 и $2.03 \pm 0.22\%$ в пробах воды «Десна», «Киев-Днепр» и «Бортнички», соответственно.

Также наблюдался значительный ($p < 0.05$) рост эозинофилов во всех исследуемых пробах воды, однако в пробах «Киев-Днепр» и «Бортнички» данный показатель увеличился до 0.76 ± 0.13 и $0.8 \pm 0.14\%$ от $0.26 \pm 0.08\%$ в контроле.

Показано, что при влиянии исследуемых проб, в сравнении с контролем, увеличивался уровень базофилов, достоверным данное изменение было при влиянии проб Киев-Днепр» и «Бортнички», на 3.36 и 3.23% соответственно. Уровень моноцитов в крови рыб повышался при влиянии всех исследуемых проб в среднем на 3.1%

При проведении мониторингового исследования крови рыб из районов с разным уровнем антропогенной нагрузки, у рыб из района Перама отмечено повышенное содержание бластных клеток и промиелоцитов, по сравнению с районом Анависос. Наиболее значимые изменения в лейкоцитарной формуле *Mugil cephalus* наблюдали по количеству эозинофилов, базофилов и моноцитов. Содержание эозинофилов в крови рыб обитающих в загрязненном районе составляло $0.83 \pm 0.11\%$, а в чистом – $0.12 \pm 0.04\%$ (табл.2). Относительное содержание базофилов и моноцитов в крови рыб из района Перама было в среднем на 3.2% выше, чем в крови рыб из района Анависос.

Таким образом, как при краткосрочном, так и при хроническом влиянии загрязненной воды наблюдалось значительное повышение содержания эозинофилов, базофилов и моноцитов. Увеличение количества эозинофилов, является характерным для процессов поражения печени, которая является одним из признаков сопровождении аллергии в организме. В высших позвоночных резкий рост содержания эозинофилов в крови наблюдается не только при инвазийных заболеваниях, но и при токсичном влиянии химических веществ.

Таблица 2. Изменение количественного соотношения белых клеток крови у рыб (*Mugil cephalus*) выловленных в районах с разной степенью антропогенной нагрузки.

Исследуемые показатели	Р-н Анависос	Р-н Перама
Бласты	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.02
Промиелоциты	0.07 ± 0.03	0.12 ± 0.04
Миелоциты	0.38 ± 0.07	0.38 ± 0.07
Метамиелоциты	1.35 ± 0.14	1.67 ± 0.15
Палочкоядерные нейтрофилы	1.38 ± 0.14	1.53 ± 0.15
Сегментоядерные нейтрофилы	2.46 ± 0.19	2.54 ± 0.19
Эозинофилы	0.12 ± 0.04	$0.83 \pm 0.11^*$
Базофилы	4.51 ± 0.25	$7.78 \pm 0.33^*$
Моноциты	4.34 ± 0.25	$7.56 \pm 0.32^*$
Лимфоциты	85.3 ± 0.43	76.1 ± 0.52

*– $p < 0.05$

При краткосрочном влиянии также отмечалось увеличение процента сегментоядерных нейтрофилов и бластных клеток. Увеличение процента сегментоядерных нейтрофилов отмечается у млекопитающих в стрессовых условиях и при влиянии физических и химических факторов, так же отмечено и у рыб при влиянии растворов кадмия (Витеска М., 2001).

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что количественные показатели периферической крови рыб отражают влияние негативных факторов на организм рыб.

Список литературы

- Clark S., Whitmore D.H., and McMahon R.F. Considerations of blood parameters of largemouth bass, *Micropterus salmoides*// Journal of Fish Biology. – 1979. – Vol.14. – P. 147-158.
- Roche H., and Boge G. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication// Marine Environmental Research. – 1996. – Vol. 41. – P. 27-43.
- Witeska M. Changes in the Common carp blood cell picture after acute exposure to cadmium// Acta Zoologica Lituanica. – 2001. – Vol. 11, N 4. – P. 366-371.

ВЛИЯНИЕ АНАЛОГА ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА МЕТИЛ ФАРНЕЗОАТА НА ПАРАМЕТРЫ РОСТА И РАЗМНОЖЕНИЯ ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ

Е.Н. Волкова¹, Е.С. Задереев^{2,1}

¹Сибирский федеральный университет

660049, г. Красноярск, пр. Свободный, 79, Россия, VolkovaAN2008@mail.ru

²Институт биофизики СО РАН

660036, г. Красноярск, Академгородок, Россия

Причины возникновения, эволюция и особенности регуляции полового размножения – являются одной из активно исследуемых, но проблемных областей в современной биологии. Удобным объектом для исследования основных закономерностей, преимуществ и недостатков, разных способ размножения (полового и неполового) являются ветвистоусые ракообразные, способные чередовать способы размножения, а так же варьировать количество потомков разного пола в потомстве в зависимости от условий среды обитания. Не смотря на то, что определение пола и способа размножения у ветвистоусых ракообразных определяется условиями среды обитания, физиологически реализация этих процессов протекает под контролем эндокринной системы.

Для исследования влияния природных и антропогенных факторов на структуру и динамику популяций животных и растений необходимо проведение лабораторных исследований. Исследования действия внешних условий на определение пола и способа размножения посвящено достаточное количество исследований (Alekseev et al., 2007), однако эндокринные процессы и роль гормонов в этих процессах исследованы очень слабо. Необходимо отметить, что исследования действия внешних факторов на определение пола и способа размножения очень часто крайне противоречивы и, не смотря на, почти 100 летнюю историю (Banta, Brawn, 1929) до настоящего времени не привели к выработке единого представления о регуляции этих процессов (Zadereev, 2005). Возможной причиной этого является практически полное отсутствие информации о физиологических и гормональных процессах, ответственных за определение пола и способа размножения. Наиболее полный обзор по эндокринной системе ракообразных представлен в работе Джеральда ЛеБланка (LeBlanc, 2007). Основной прогресс в этой области в настоящее время связан с исследованием действия ювенильного гормона метилфарнезоата (МФ) на определение пола в потомстве ветвистоусых.

В данной работе исследовалось действие эндогенного, вовлеченного в процесс регуляции полового размножения, фактора на параметры роста и размножения двух видов ветвистоусых ракообразных.

Метил фарнезоат - главный терпеноидный гормон ракообразных (молекула передачи сигналов). Метил фарнезоат был обнаружен более чем у 30 видов ракообразных, включая десятиногих (крабы, креветки и т.д.), усоногих (уточка морская) и беспанцирных (креветка морская) (Laufer, Biggers, 1998). Этот гормон у ракообразных регулирует много функций, подобно ювенильным гормонам насекомых (Olmstead, LeBlanc, 2002).

Эффекты метила фарнезоата на личиночное развитие и метаморфоз были отмечены для усоногого рака *Balanus amphitrite* и креветки *Macrobrachium rosenbergii*, хотя наблюдения в эксперименте не последовательны и не могут установить общие закономерности воздействия гормона на метаморфоз ракообразных. Вообще, воздействие высоких концентраций ($\geq 1 \mu\text{M}$) метила фарнезоата стимулирует метаморфоз усоногих (Smith et al., 2000; Yamamoto et al., 1997). Однако, концентрация $0.1 \mu\text{M}$ подавляла метаморфоз в одном исследовании (Smith et al., 2000), в то время как в другом исследовании при столь же низкой концентрации ($0.01 \mu\text{M}$) происходило стимулирование метаморфоза (Yamamoto et al., 1997). Воздействие метилом фарнезоатом (концентрация в пределах от 0.85 до $2.4 \mu\text{M}$) на креветок, приводит к подавлению их личиночного роста, и появлению организмов со смешанными личиночными и ювенильными чертами (Abdu et al., 1998). Вообще, метил фарнезоат, похоже, стимулирует личиночное развитие усоногих, но подавляет личиночное развития десятиногих.

Для жаброногих ракообразных характерен циклический партеногенез, в котором популяция использует и не половое и половое воспроизводство. При благоприятных экологических условиях популяция может существовать, производя партеногенетических потомков. Под воздействием определенных сигналов, которые предупреждают об ухудшении среды обитания, самки производят самцов в потомстве. Это сопровождается входом популяции в половую репродуктивную стадию, заканчивающуюся производством покоящихся яиц. У дафний (*D. magna*, *D. pulex*, *D. pulicaria*), высокие концентрации метила фарнезоата стимулируют производство самцов в потомстве (Olmstead,

LeBlanc, 2002; Rider et al., 2005; Tatarazako et al., 2003). Этот эффект гормона, определяющий пол, ограничен во времени последними стадиями созревания ооцита (Olmstead, LeBlanc, 2002). Пол устанавливается, как только когда яйца перемещаются в выводковую камеру. Наблюдения Баркера и Хиберта (1986) привели к заключению, что выводок жаброногих состоит или всех самцов или всех самок в потомстве (LeBlanc, 2007). Однако лабораторные исследования показали, что средние концентрации метила фарнезоата могут стимулировать производство смешанных кладок (Olmstead, LeBlanc, 2002) и даже гермофродитных индивидуумов (Laufer, Biggers, 2001). Недавние исследования показывают, что метил фарнезоат, является половым детерминантом у видов ветвистоусых родов *Ceriodaphnia* и *Moina* (Oda et al., 2005). Для нескольких видов ветвистоусых показано, что ювенильный гормон вызывает отрождение самцов (Olmstead, LeBlanc, 2002). В частности, самцы в потомстве были произведены под влиянием метила фарнезоата у нескольких озерных видов жаброногих, постоянно размножающихся партеногенезом, среди которых самцы ранее не встречались (Kim et al., 2006). В настоящее время неизвестно, обычна ли эта полоопределяющая роль метила фарнезоата среди других бранхиопод и других таксонов ракообразных. При этом так же показано на некоторых видах, что действие МФ приводит к ингибированию полового размножения, обеспечивая отрождение самцов (Olmstead, LeBlanc, 2002).

Кроме того, показано, что ряд антропогенных химических веществ, имеющих схожую с ювенильным гормоном структуру, вызывает похожие эффекты – изменение в соотношении полов в потомстве (Oda et al., 2005). В частности пестицид феноксикарб - регулятор роста насекомых ювеноидного типа для борьбы с рядом насекомых-вредителей на хлопчатнике, виноградниках, фруктовых деревьях, декоративных культурах, а также с тараканами, мухами, комарами, вредителями хранящихся продуктов.

Объектами нашего исследования были ветвистоусые рачки *Moina brachiata* (Jurine, 1820) и *Moina macroscopa* (Straus, 1918), обладающие коротким жизненным циклом, высокой скоростью партеногенетического размножения, высокой функциональной пластичностью воспроизводительной системы. Биология этих видов хорошо изучена. Ветвистоусые используются как тест-объекты при оценке токсичности вод, как стартовый корм в рыборазведении и как корм для аквариумных рыб (Иванова, 1985).

В качестве корма во всех экспериментах использовалась неаксеничная культура зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*. Водоросль выращивалась в накопительном режиме культивирования в колбах объемом 500 мл на среде Тамия при постоянных освещенности и аэрации. Перед использованием в качестве кормового субстрата водоросли для сгущения центрифугировались при скорости 3000 об./мин. Полученная масса водорослей хранилась в холодильнике и использовалась в качестве корма в экспериментах не более 2-х недель после центрифугирования. Концентрацию клеток хлореллы в среде определяли на счетчике частиц CASY TTC (Германия). В экспериментах использовались самки третьего поколения, культивируемые в условиях, не лимитирующих партеногенетическое размножение. Выбор концентрации пищи для культивирования животных обусловлен необходимостью использования пищевых условий, оптимальных для партеногенетического размножения. Самок помещали в среду с концентрацией пищи 200000 кл./мл (для *Moina macroscopa*) и 500000 кл./мл (для *Moina brachiata*), среда ежедневно заменялась на свежеприготовленную. Данная пищевая обеспеченность не лимитирует удельную скорость соматического роста, плодовитость самок и не вызывает смены способа размножения у рачков (Zadereev, Lopatina, 2007).

В экспериментальные условия помещали одноразмерных ювенильных самок из первого отрожденного потомства в третьем поколении (0.6-0.7 мм). Эксперименты с одиночными самками проводились в стаканчиках с объемом среды 20 мл. Среда ежедневно заменялась на свежеприготовленную. Эксперименты проводились в термостате при постоянных температуре (26°C) и фотопериоде (16 часов свет, 8 часов темнота). Для партеногенетических самок подсчитывали количество отрожденных потомков и их пол. Эксперименты продолжались до момента отрождения самками второго потомства.

Во всех экспериментах разница в плодовитости, времени от начала эксперимента до отрождения первой кладки, прироста длины тела между опытом и контролем оценивали двухвыборочным t-тестом в программе Microsoft Excel. Разницу в смертности и доле отрожденных самцов между опытом и контролем оценивали тестом разности долей в программе STATISTIKA 6.

Действие гормона на рачков исследовалось при концентрации МФ 0,01 мкл./мл. Так что в объеме среды 20 мл с одиночными самками количество гормона составило 0.2 мкл. Используемый концентрированный гормон хранился в лабораторном низкотемпературном холодильнике при t=

40°C. В экспериментах был использован чистый гормон methyl farnesoate (фирма производитель - Echelon, USA).

Эксперименты по действию ювенильного гормона МФ были проведены с популяциями *M.brachiata* и *M. macroscopa*, привезенными из пруда п.Борок:

1) Исследуя влияние гормона на *M.brachiata*, было проведено 4 эксперимента. По 10 ювенильных самок помещались в стаканчики с опытной средой, содержащей гормон. Использовались следующие концентрации пищи: в первом эксперименте 400000 и 50000 кл./мл, втором 400000 и 200000 кл./мл, третьем и в четвертом 400000 и 100000 кл./мл. Во всех экспериментах для каждой концентрации корма использовались в качестве контроля среды, не содержащие гормон.

2) Исследуя влияние гормона на *M. macroscopa*, проведено 3 эксперимента. По 10 ювенильных самок помещались в стаканчики с опытной средой, содержащей гормон. Использовались следующие концентрации пищи: в первом и во втором экспериментах 100000 кл./мл и 50000 кл./мл и в третьем 100000 кл./мл. Здесь также в каждом эксперименте использовались в качестве контроля среды, не содержащие гормон.

По итогам проведенных экспериментов было обнаружено, что воздействие гормона на мойн снижает их плодовитость (табл. 1).

M. brachiata. Проведенный статистический анализ показывает значимые различия плодовитости в среде с гормоном по сравнению с контролем для всех концентраций пищи. Видно, что плодовитость снижается при высоких концентрациях пищи. Можно констатировать, что плодовитость при воздействии гормона была всегда одинакова и находилась на уровне плодовитости в контроле при самой низкой из протестированных концентраций корма. Плодовитость самок в контрольной среде в полном соответствии с наличием зависимости плодовитости от пищевой обеспеченности росла с ростом концентрации пищи. Статистический анализ показывает значимые различия плодовитости мойн в средах с концентрациями корма 400000 и 100000 кл./мл ($P=0.0095$, $t=1.664$), 400000 и 50000 кл./мл ($P=5.12 \times 10^{-10}$, $t=1.665$), различия не значимы для плодовитостей с концентрациями корма 400000 и 200000 кл./мл ($P=0.183$, $t=1.665$).

Таблица 1. Влияние метила фарнезоата (МФ) на плодовитость самок *Moina brachiata* и *Moina macroscopa*

Вид		<i>Moina brachiata</i>				<i>Moina macroscopa</i>	
Концентрация пищи, тыс. кл./мл		400	200	100	50	100	50
Количество потомков, штук	Контроль	10.32	9.31	8	3.3	10.95	8
	МФ	5.2	4.5	4.8	2.9	4.8	5.4
Достоверность различий		$P=2.34 \times 10^{-13}$ $t=1.657759$	$P=2.54 \times 10^{-6}$ $t=1.690923$	$P=5.57 \times 10^{-11}$ $t=1.689573$	$P=0.237$ $t=1.693888$	$P=4.70 \times 10^{-10}$ $t=1.68$	$P=0.0244$ $t=1.81$

M. macroscopa. Так же как и у самок *M.brachiata* при концентрации пищи, не лимитирующей партеногенетическое размножение рачков (для *M.macroscopa* это 100000 кл./мл), различия в плодовитости подвергнутых воздействию гормона самок по сравнению с контролем достоверны. При концентрации пищи 50000 кл./мл различия также достоверны, но как видно разница в средних плодовитостях при этой концентрации корма значительно ниже. То есть сохраняется тенденция, полученная на самках *M.brachiata*, – плодовитость под действием гормона одинакова при всех концентрациях пищи и находится на уровне плодовитости при низких концентрациях корма.

Под воздействием метила фарнезоата происходит задержка отрождения рачками первой кладки. Между средами с гормоном и без, выявлены достоверные различия во времени отрождения первой кладки для обоих видов (табл. 2).

Таблица 2. Влияние метила фарнезоата (МФ) на время отрождения первой кладки *Moina brachiata* и *Moina macroscopa*

Вид		<i>Moina brachiata</i>				<i>Moina macroscopa</i>	
Концентрация пищи, тыс. кл./мл		400	200	100	50	100	50
Сутки отрождения кладки	Контроль	2.8	3.4	3.2	2.1	4	4.3
	МФ	3.4	3.9	4	2.6	4.7	5
Достоверность различий		$P=0.0012$ $t=1.672$	$P=0.00884$ $t=1.734$	$P=5.63 \times 10^{-6}$ $t=1.734$	$P=0.048$ $t=1.734$	$P=4.7 \times 10^{-10}$ $t=1.68$	$P=0.02439$ $t=1.81$

По итогам экспериментов обнаружено, что гормон стимулирует отрождение самцов у протестированных видов ветвистоусых ракообразных. В проведенных экспериментах было установлено достоверное различие между долей самцов в потомстве самок, развивавшихся в среде с гормоном и без, как для *M. Brachiata*, так и для *M. macrocopa* (табл. 3).

Таблица 3. Доли отрожденных самцов *Moina brachiata* и *Moina macrocopa* в среде с гормоном (МФ) и в среде без гормона (контроль)

Вид		<i>Moina brachiata</i>				<i>Moina macrocopa</i>	
Концентрация пищи, кл./мл		400000	200000	100000	50000	100000	50000
Доля самцов, %	Контроль	0	0	0	0	3	0
	МФ	21	46	5	60	55	24
Достоверность различий		<0.0001	<0.0001	0.01	<0.0001	<0.0001	0.03

Как и было показано ранее (Olmstead, LeBlanc, 2002) гормон стимулирует отрождение самцов. Необходимо отметить тот факт, что ранее не было показано, что он снижает плодовитость и замедляет скорость роста ветвистоусых ракообразных. Данный факт имеет вполне понятное объяснение. Как было указано в литературном обзоре, у насекомых в течение личиночного периода ювенильный гормон тормозит активность другого гормона - *экдизона*, который стимулирует рост личинки, ускоряет её линьку. Таким образом, можно предположить, что повышенные концентрации ювенильного гормона будут вызывать замедленное развитие организма. Вероятно, у ветвистоусых ракообразных метилфарнезоат выполняет такие же функции как ювенильный гормон у насекомых и в повышенных концентрациях тормозит развитие животных.

В результате проведенного исследования мы добились отрождения самцов под действием добавленного в среду культивирования аналога ювенильного гормона. В ответ на сигналы среды в организме самки образуется метил фарнезоат, который стимулирует развитие самца из диплоидного ооцита. Возможно, метил фарнезоат регулирует ген, определяющий пол потомства.

Таким образом, нами показано, что метил фарнезоат стимулирует отрождение самцов у самок *Moina macrocopa* и *M. brachiata*. Впервые установлено, что под действием метила фарнезоата происходит снижение плодовитости и более позднее отрождение первой кладки. При этом плодовитость в гормоне всегда одинакова – на уровне самой низкой концентрации корма.

Список литературы

- Иванова М.Б. Продукция планктонных ракообразных в пресных водах. Л.: Лениздат, 1985. - 224с.
- Abdu U.P., Takac P., Laufer H., Sagi A. Effect of methyl farnesoate on late larval development and metamorphosis in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae): A juvenoid-like effect? // Biol. Bull., 1998. – V.195. -№2. – P.112–119.
- Banta A.M., Brawn L.A. Control of sex in Cladocera. 1. Crowding the mothers as a means of controlling male production // Physiological Zoology, 1929. - V.2. - №1. - P. 80-92.
- Diapause in Aquatic Invertebrates Theory and Human Use / Eds. V.R. Alekseev, B.T. de Stasio, J.J. Gilbert. – Netherlands: Springer, 2007. - 257p.
- Kim K., Kotov A.A., Taylor D.J. Hormonal induction of undescribed males resolves cryptic species of cladocerans // Proceedings - Royal Society of London. Biological sciences, 2006. - V.273. - № - 1583. - P.141-147.
- LeBlanc G.A. Crustacean endocrine toxicology: a review // Ecotoxicology, 2007. –V.16. - №1. – P.61–81.
- Laufer H., Biggers W.J. Unifying concepts learned from methyl farnesoate for invertebrate reproduction and post-embryonic development // Am. Zool., 2001. – V.41. - №3. – P.442–457.
- Oda S., Tatarazako N., Watanabe H., Moriata M., Iguchi T. Production of male neonates in four cladoceran species exposed to a juvenile hormone analog, fenoxycarb // Chemosphere, 2005. – V.60. - №1. – P.74–78.
- Olmstead A.W., LeBlanc G.A. The juvenoid hormone methyl farnesoate is a sex determinant in the crustacean *Daphnia magna* // J. Exp. Zool., 2002. – V.293. - №7. –P.736–739.
- Rider C.V., Gorr T.A., Olmstead A.W., Wasilak B.A., LeBlanc G.A. Stress signaling: co-regulation of hemoglobin and male sex determination through a terpenoid signaling pathway in a crustacean // J. Exp. Biol., 2005.-V.208. - №1. – P.15–23

- Smith P.A., Clare A.S., Rees H.H., Prescott M.C., Wainwright G., Thorndyke M.C. Identification of methyl farnesoate in the cypris larva of the barnacle, *Balanus amphitrite*, and its role as a juvenile hormone // *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2000. – V.30. - №8. – P.885–890.
- Tatarazako N., Oda S., Watanabe H., Morita M., Iguchi T. Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia* // *Chemosphere*, 2003. – V.53. - №8. – P.827–833.
- Yamamoto H., Okino T., Yoshimura E., Tachibana A., Shimizu K., Fusetani N. Methyl farnesoate induces larval metamorphosis of the barnacle, *Balanus amphitrite* via protein kinase C activation // *J. Exp. Zool.*, 1997. – V.278. - №6. – P.349–355.
- Zadereev E.S., Lopatina T.S. The induction of diapause in *Moina* by species-specific chemical cues // *Aquatic Ecologi.*, 2007. – V.41. - №2 – P.255-261.
- Zadereev Ye.S. Effect of chemical interactions on the diapause induction in zooplankton // *Verhandlungen IVL*, 2005. - V.29. - №1 – P.227-231.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

И.Л. Голованова.

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
п. Борок, Ярославская обл., Россия, golovan@ibiw.yaroslavl.ru*

Изучение действия факторов внешней среды на физиолого-биохимический статус водных животных является одной из актуальных задач биологии, особенно в условиях возрастающего антропогенного загрязнения. Любые природные или антропогенные агенты, попадающие в окружающую среду в количествах, превышающих средние природные фоновые значения в определенный момент времени, могут рассматриваться в качестве загрязнителей. Биологические последствия проявляются, прежде всего, в прямом токсическом действии на организм, вызывая изменение различных биохимических, физиологических и морфологических показателей. Использование биохимических методов часто позволяет наблюдать изменения в обмене веществ, наступающие, как правило, до появления видимых отклонений от нормы, и дают возможность определять границы адаптационных возможностей организма.

Среди антропогенных факторов, влияющих на физиолого-биохимический статус рыб, можно выделить агенты как химической (тяжелые металлы, органические загрязнители), так и физической природы (температура, электромагнитное излучение, pH). Углеводы, несмотря на относительно низкое содержание в естественной пище большинства видов рыб, играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене организма. Поэтому в данной работе основное внимание будет уделено влиянию указанных агентов на показатели углеводного обмена, в частности на характеристики карбогидраз – ферментов, осуществляющих начальные этапы ассимиляции углеводных компонентов пищи, в кишечнике пресноводных костистых рыб.

Тяжелые металлы (ТМ) являются наиболее распространенными загрязнителями, часто встречающимися в сточных водах промышленных предприятий. К ним относятся более 40 элементов таблицы Д.И. Менделеева, имеющих плотность более 5 г/см³ и относительную атомную массу более 40. ТМ обладают высокой токсичностью и не подвергаются химической биodeградации, как это свойственно органическим соединениям. Hg, Cd, Cu и Zn, рассматриваются в ряду самых опасных в экотоксикологическом отношении элементов. При этом Cu и Zn – необходимые микроэлементы (входят в состав активного центра ферментов, служат регуляторами многих биохимических процессов), в то время как биологические функции Cd и Hg пока неизвестны. Фоновые концентрации этих металлов в природных водах обычно не превышают 0.0001–0.02 мг/л, но в результате техногенного загрязнения могут возрастать до нескольких мг/л. Рыбы способны накапливать ТМ до концентраций, в десятки и тысячи раз превосходящих их содержание в окружающей среде, значительно превышая ПДК, установленные для рыбохозяйственных водоемов: 0.01– 0.5 мкг/л Hg, 0.001 мг/л Cu, 0.005 мг/л Cd, и 0.01 мг/л Zn (Перевозников, Богданова, 1999). В организм рыб ионы Cu, Zn, Hg и Cd поступают преимущественно с пищей, однако поступление с водой также играет значительную роль. Накопление ТМ у рыб происходит во многих жизненно важных органах: опорные структуры и жабры аккумулируют в основном ТМ, растворенные в воде, желудок, пилорические придатки и кишечник – поступающие с пищей. Наиболее часто самые высокие концентрации ТМ отмечаются в печени, почках или жабрах рыб, в ряде случаев – в кишечнике.

В настоящее время накоплен обширный материал по влиянию ТМ на различные аспекты жизнедеятельности рыб. В частности, при действии ТМ отмечены снижение иммунитета, изменение поведения, темпа роста и упитанности рыб, эффективности ассимиляции пищи и состояния углеводного обмена. При этом ТМ могут оказывать негативное влияние на морфологические и функциональные характеристики пищеварительного тракта рыб, изменяя активность пищеварительных ферментов и скорость гидролиза основных компонентов пищи. Ртуть оказывает эмбриотоксические, тератогенные, мутагенные и гонадотоксические эффекты, вызывает нарушения липидного, белкового и пептидного обменов (Немова, Высоцкая, 2004). Наиболее токсичны органические соединения Hg, в частности ее метилированная форма, обладающая липофильными свойствами и легко преодолевающая биологические мембраны. В экспериментах на молоди рыб, длительное время получавших корм с повышенным содержанием метилированной Hg природного происхождения, показано снижение активности карбогидраз, причем активность панкреатической α -амилазы снижается в большей степени, чем общая амилолитическая активность или активность сахаразы (Голованова, 2006). Кроме того, у взрослого окуня из природных водоемов показано увеличение значений константы Михаэлиса (K_m) гидролиза ди- и полисахаридов, свидетельствующее о снижении сродства ферментов к субстрату с увеличением накопления ртути в организме. В хронических экспериментах на тилляпии установлено, что сублетальные концентрации ионов Cd (5 мг/л) необратимо снижают активность карбогидраз, гидролизующих крахмал, на 65% от контроля, в то время как эффект *in vitro* составляет лишь 17% (Голованова, 2006). Кратковременное действие сублетальных концентраций ионов Cu (0.01 мг/л) в эмбриональный период вызывает снижение общей амилолитической активности и повышение активности сахаразы у сеголетков плотвы, в то время как в условиях *in vitro* эффект отсутствует. На примере карбогидраз кишечника у 13 видов рыб, различающихся по типу питания, показана прямая корреляция между концентрацией ионов Cu и Zn (0.1–25 мг/л) и величиной тормозящего эффекта *in vitro*. При этом максимальный тормозящий эффект (до 50% от контроля) Cu на активность карбогидраз кишечника отмечен у рыб планкто- и бентофагов, Zn – у ихтиофагов (Голованова, 2006). Активность протеиназ в кишечнике пресноводных рыб снижается в еще большей степени (Кузьмина, 2005).

При изучении влияния токсикантов органической природы установлено, что даже кратковременное действие низких доз хлорофоса (промышленный яд с энзиматическим и нервно-паралитическим действием) и нитрозогуанидина (генотоксикант с прямым влиянием на химическую структуру ДНК) в период раннего эмбриогенеза достоверно изменяет активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике развивающихся сеголетков плотвы. Зависимость изученных показателей от концентрации токсиканта носит нелинейный характер. При действии хлорофоса ($1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ мг/л) общая амилолитическая активность снижалась в большей степени в средней точке дозозависимого профиля. Активность сахаразы, напротив, достоверно возрастала, причем наибольший стимулирующий эффект отмечен в крайних точках испытанного диапазона концентраций. Разнонаправленные эффекты действия хлорофоса на активность мембранного фермента сахаразы и общую амилолитическую активность, отражающую суммарную активность панкреатической α -амилазы и собственно кишечных глюкоамилазы и мальтазы, могут быть связаны с различным влиянием токсиканта на процессы синтеза панкреатических и собственно кишечных ферментов. Нитрозогуанидин достоверно снижает активность карбогидраз, причем сверхнизкие ($3 \cdot 10^{-7}$ мг/л) и самые высокие ($3 \cdot 10^{-1}$ мг/л) из испытанных концентраций вызывают сходные изменения ферментативной активности и кинетических характеристик гидролиза углеводов. Снижение значений K_m гидролиза сахарозы, свидетельствующее об увеличении фермент-субстратного сродства, можно отнести к адаптивным реакциям раннего онтогенеза плотвы в ответ на повреждающее эмбриотоксическое действие сверхмалых доз хлорофоса и нитрозогуанидина. Поскольку после внесения в воду хлорофос практически весь переходит в более токсичный диметилдихлорвинилфосфат (ДДВФ), то вполне вероятно, что именно с этим веществом и связан основной токсический эффект. В 60 сут. экспериментах *in vivo* были установлены разнонаправленные изменения общей амилолитической активности у мозамбикской тилляпии при действии ДДВФ в сублетальной концентрации 0.46 мг/л. Однако в условиях *in vitro* ДДВФ в концентрации 0.2–100 мг/л не влияет на активность пищеварительных карбогидраз у 11 видов пресноводных костистых рыб (Golovanova et al., 1999). По всей вероятности, при хроническом действии ДДВФ изменяет активность пищеварительных карбогидраз не за счет прямого действия на ферменты, а за счет снижения потребления пищи в результате изменения пищевого поведения рыб. В хроническом эксперименте установлено, что нафталин, полиароматический углеводород, в сублетальной концентрации 1.5 мг/л не влияет на уровень активности карбогидраз в кишечнике тилляпии. Аналогичные результаты получены и при действии нафталина *in vitro* в широком диапазоне

концентраций (Golovanova et al., 1994). Интересно отметить, что в экспериментах *in vivo* при действии метилртути, хлорофоса, нитрозогуанидина и ионов Cu снижение активности карбогидраз, осуществляющих начальные этапы гидролиза углеводов, сопровождалось повышением линейно-массовых показателей рыб. Вполне вероятно, что ускорение роста молоди при действии сублетальных концентраций токсикантов обусловлено компенсаторным увеличением эффективности усвоения белковых компонентов пищи по сравнению с углеводными компонентами. Кроме того, низкая скорость начальных этапов ассимиляции углеводов может восполняться повышением эффективности заключительных этапов их усвоения либо снижением энергетических расходов организма на двигательную активность, что нередко наблюдается при обилии корма в условиях токсического воздействия.

В настоящее время внутренние водоемы все чаще подвергаются локальному термальному и электромагнитному загрязнению. В результате сброса подогретых вод промышленных предприятий, атомных и тепловых электростанций нарушается температурный режим водоемов. Для выяснения последствий этого явления на гидролиз углеводов у рыб в экспериментах *in vivo* с различной скоростью повышали температуру воды до критического уровня (определяемого по нарушению локомоторной функции рыб), значения которого в различные сезоны года не превышали 40°C (Голованова, 2006). При медленном повышении температуры воды со скоростью около 1°C/сут. активность карбогидраз кишечника у молоди карповых видов рыб достоверно увеличивалась во все сезоны. Более высокие скорости нагрева (4–50°C/ч), как правило, снижали скорость гидролиза углеводов в 2–7.5 раз во все сезоны, исключая лето. В этот сезон отмечено последовательное увеличение общей амилолитической активности с повышением скорости нагрева воды. Наиболее чувствительна к изменению скорости нагрева воды панкреатическая α -амилаза. При повышении температуры воды со скоростью 50°C/ч отмечено уменьшение термостабильности карбогидраз: сдвиг оптимума гидролиза крахмала с 60°C до 30°C, а также снижение величины температурного коэффициента Q_{10} в интервале температур 30–40°C от 2.3 у контрольных рыб до 1.7 у опытных. Поскольку для синтеза новых пищеварительных ферментов требуется, по крайней мере, несколько суток, а продолжительность температурного воздействия не превышала 5 ч, снижение скорости гидролиза углеводов при резком повышении температуры воды поздней осенью и ранней зимой, по всей вероятности, обусловлено изменением физико-химических свойств белковой глобулы ферментов и/или липидного матрикса мембран.

Постоянное наличие электромагнитных полей (ЭМП), создаваемых воздушными и подводными линиями электропередач на некоторых участках акваторий, может оказывать различные эффекты на биоту водоемов, а также изменять действие присутствующих в водной среде токсикантов. При изучении отдаленных последствий кратковременного действия переменного ЭМП частотой 500 Гц установлены разнонаправленные изменения активности карбогидраз и кинетических характеристик гидролиза ди- и полисахаридов у сеголетков плотвы (Голованова и др., 2006). Достоверное снижение общей амилолитической активности и увеличение значений K_m гидролиза крахмала и сахарозы свидетельствуют об уменьшении эффективности начальных этапов переваривания углеводов.

В последние десятилетия в северо-западной части России, увеличивается количество озер с низким значением pH воды. При этом окунь часто является единственным видом, обитающим в озерах с pH воды < 4.5. Несмотря на то, что в кислых озерах преобладают окуни – бентофаги, а в озере с нейтральным значением pH воды – окуни хищники (в пище которых содержание углеводов значительно ниже, чем у бентофагов), уровень общей амилолитической активности и активности сахаразы у рыб из кислых озер может быть в 1.5–2.0 раза ниже (Голованова, 2006). Вместе с тем в опытах *in vitro* у окуня из кислых озер показана большая устойчивость карбогидраз к снижению pH инкубационной среды, что может отражать адаптацию пищеварительной системы к длительному пребыванию в условиях ацидификации. Действительно, при изменении pH инкубационной среды от 7.4 до 5.0 общая амилолитическая активность у рыб из озера с нейтральным значением pH воды снижается на 56%, в то время как у рыб из кислого озера – лишь на 36% от контроля. В то же время, у окуня из кислых озер в отличие от окуня из водоемов с нейтральным значением pH воды отмечено значительное снижение значений K_m гидролиза крахмала и сахарозы, что свидетельствует об увеличении сродства ферментов к субстрату. Это может быть обусловлено более высоким накоплением Hg в кишечнике окуня из кислых озер и, по всей вероятности, позволяет частично компенсировать неблагоприятное влияние закисления среды на скорость гидролиза углеводов.

Поскольку в природе действие факторов всегда является комплексным, наряду с отдельным влиянием отдельных агентов необходимо изучение и их совместного действия. Установлено, что все исследованные физические агенты (температура, электромагнитное излучение, pH) могут изменять

не только активность карбогидраз, но и их устойчивость к действию химических загрязнителей. Действительно, при сочетанном действии ЭМП частотой 500 Гц и низких концентраций хлорофоса ($1 \cdot 10^{-2}$ мг/л) уровень общей амилолитической активности и кинетические характеристики гидролиза ди- и полисахаридов изменяются в большей степени, чем при раздельном действии этих факторов (Голованова и др., 2006). Повышенный уровень тепловой нагрузки, ацидификация водоема, хроническое действие Cd и Hg снижают не только скорость гидролиза углеводов, но и устойчивость пищеварительных карбогидраз рыб к действию ионов Cu, Zn и Cd (Голованова, 2006).

При исследовании влияния биотических факторов показано, что чувствительность карбогидраз к действию Cu, Zn и Cd снижается с возрастом рыб, у голодных особей она ниже, чем у сытых. В летний сезон на фоне высокой функциональной активности пищеварительной системы чувствительность карбогидраз рыб к действию ионов тяжелых металлов возрастает. Выявленные эффекты в большей мере проявляются у рыб бентофагов, прекращающих активное питание при температуре среды меньше 7°C, по сравнению с ихтиофагами, у которых в холодное время года питание не прекращается, лишь снижается его интенсивность.

Таким образом, скорость гидролиза углеводов в кишечнике пресноводных костистых рыб значительно изменяется при действии антропогенных факторов как физической (температура, электромагнитное излучение, pH), так и химической природы (тяжелые металлы, органические загрязнители). Совместное действие может усиливать негативные эффекты раздельного влияния изученных агентов. Панкреатические ферменты более чувствительны к действию антропогенных факторов по сравнению с мембранными ферментами. Адаптации к условиям функционирования осуществляются за счет изменения температурных и кинетических характеристик ферментов. Выявленные изменения показателей углеводного обмена свидетельствуют об изменении физиолого-биохимического статуса рыб при действии антропогенных факторов.

Список литературы

- Голованова И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у рыб и объектов их питания // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб: ИЭФБ им. И.М. Сеченова РАН. 2006. 43 с.
- Голованова И.Л., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В., Таликина М.Г. Отдаленные последствия раздельного и сочетанного влияния хлорофоса и переменного электромагнитного поля в период эмбриогенеза на эффективность гидролиза углеводов у сеголетков плотвы // Токсикологический Вестник. 2006. № 5. С. 34–38.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215 с.
- Кузьмина В.В. Кузьмина В.В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М.: Наука, 2005. 300 с.
- Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. С-Пб.: ГосНИОРХ, 1999. 228 с.
- Golovanova I.L., Kuz'mina V.V., Gobzhel'ian T.E., Pavlov D.F., Chuiko G.M. In vitro effects of cadmium and DDVP (dichlorvos) on intestinal carbohydrase and protease activities in freshwater teleosts // Comp. Biochem. Physiol. 1999. V.122C. N 1. P. 21–25.

ВЛИЯНИЕ ПХБ НА ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ У МОЛОДИ ПЛОТВЫ

И.Л. Голованова, Г.М. Чуйко, А.А. Филиппов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
п. Борок, Ярославская обл., Россия, golovan@ibiw.yaroslavl.ru

Полихлорированные бифенилы (ПХБ), относящиеся к классу хлорорганических соединений, являются одной из самых распространенных групп стойких органических загрязнителей. В настоящее время использование этих веществ запрещено, хотя ранее они широко применялись в качестве диэлектриков, растворителей, гидравлических жидкостей, теплоносителей, хладагентов, компонентов смазочных масел и т.д. Обладая высокой липофильностью и стойкостью к действию физических, химических и биологических факторов, ПХБ способны к биоаккумуляции и накоплению по трофическим цепям. В водных объектах первичным накопителем ПХБ служат донные отложения, из которых они передаются бентосным беспозвоночным организмам, далее бентосоядным и хищным рыбам. Коэффициент накопления ПХБ в биоте очень высок, при этом рыбы могут аккумулировать их в концентрациях, в тысячи раз превышающих их содержание в воде (Роотс, 1989). Поступая в организм гидробионтов с водой и пищей (Paterson et al., 2006), ПХБ даже в крайне малых дозах оказывают токсическое, мутагенное и канцерогенное действие (Niimi, 1996; Изюмов и др., 2004). ПХБ изменяют

пищевое поведение рыб, снижают выживаемость молоди, вызывают замедление и остановку полового развития, нарушения гормонального баланса, обмена витаминов и минеральных элементов, изменение запасов гликогена в печени, а также различные морфологические патологии (Nakayama et al., 2005). В то же время данные по влиянию ПХБ на пищеварительные ферменты в доступной литературе отсутствуют.

Цель работы – исследование хронического действия ПХБ на активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.).

В работе исследована молодь плотвы, полученная методом искусственного скрещивания от одной пары производителей, выловленных в Рыбинском водохранилище. В качестве источника ПХБ использовали грунт и корм (фарш из мышц леща) из наиболее загрязненного участка Рыбинского водохранилища (район р. Кошта, Шекснинский плес, в который сбрасываются сточные воды металлургического предприятия г. Череповца) и более чистого Центрального плеса (Первомайские о-ва). Проведено 2 серии экспериментов. В первой серии исследованы сеголетки (0+) плотвы (средняя масса 3.4 ± 0.3 г, средняя длина 6.5 ± 0.4 см). Рыб содержали в двух аквариумах (контроль и опыт) при температуре 12–18°C, pH 7.5–7.6, содержание кислорода 7.96–9.69 мг/л. В контрольном аквариуме присутствовал чистый грунт (песчаный ил) с содержанием ПХБ 0.025 мкг/г сухой массы, в опытном – загрязненный (серый ил) с содержанием ПХБ 0.426 мкг/г сухой массы. Кроме того, в опытный аквариум вносили корм, загрязненный ПХБ (0.051 мкг/г сырого веса), в контрольный аквариум – чистый корм (содержание ПХБ менее 0.004 мкг/г сырого веса). Вторая серия экспериментов проведена на двухлетках (1+) плотвы (масса 20.9 ± 2.7 г, длина 11.6 ± 0.6 см). В этой серии ПХБ поступали в опытный и контрольный аквариумы лишь с кормом, который вносили в аквариумы три раза в неделю в количестве 10% от массы рыбы. Общее содержание ПХБ в корме и донных отложениях определяли методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения в лаборатории аналитической экотоксикологии (ИПЭЭ РАН). Отбор рыб производился в начале эксперимента (0 суток) и через 40, 96 и 218 суток в первой серии опытов, и через 52 и 169 сут. экспозиции – во второй серии.

Для определения активности пищеварительных ферментов рыб обездвиживали, извлекали кишечника и освобождали их от содержимого. При помощи стеклянного гомогенизатора готовили суммарные пробы кишечника от 6 экз. рыб, добавляя охлажденный до 2–4°C раствор Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl, 1.9 мМ KCl, 13 мМ CaCl₂, pH 7.4) в соотношении 1 : 9. Растворы субстратов (0.45–7.2%-ный крахмал и сахароза в концентрации 12.5–200 ммоль/л) также готовили на растворе Рингера. Гомогенаты и растворы субстратов инкубировали в течение 30 или 60 мин при температуре 20°C, pH 7.4.

Общую амилолитическую активность (ОАА), отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал – α -амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и ферментов группы мальтаз КФ 3.2.1.20, и активность сахаразы КФ 3.2.1.48, гидролизующей сахарозу, оценивали по приросту гексоз методом Нельсона в модификации Уголева и Иезуитовой (Уголев, Иезуитова, 1969). Активность ферментов определяли в пяти повторностях и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации ферментативно-активного препарата и субстрата в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г·мин)). Кинетические характеристики гидролиза крахмала и сахарозы – значения кажущейся константы Михаэлиса (K_m) и максимальной скорости реакции (V_{max}) определяли графическим методом Лайнуивера-Берка, строя для каждой повторности графики зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в координатах двойных обратных величин.

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок. Достоверность различий оценивали, используя метод дисперсионного анализа (ANOVA, LSD тест), $p \leq 0.05$ (Sokal, Rohlf, 1995).

Достоверные различия в массе тела у рыб контрольной и опытной групп выявлены у сеголетков через 218 сут, у двухлетков – через 169 сут воздействия. При этом масса опытных сеголетков превышала массу контрольных на 47%, масса тела опытных двухлетков, наоборот, ниже на 19% по сравнению с контрольными рыбами. Различий в длине тела у тех и других в течение эксперимента не выявлено. Результаты по влиянию ПХБ, поступающих с грунтом и пищей, на активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза крахмала в кишечнике сеголетков плотвы, представлены в табл. 1. Уровень ОАА у опытных сеголетков практически не изменялся по сравнению с контрольными особями, лишь через 96 сут отмечено достоверное снижение ферментативной активности на 11%. Активность сахаразы достоверно снижалась через 40 и 96 сут воздействия на 13 и 32%, соответственно, однако, через 218 сут наблюдалось достоверное увеличение активности на 32% от контроля. Кинетические характеристики гидролиза крахмала достоверно не изменялись, за исключением кажущейся K_m , значения которой через 96 сут эксперимента увеличились на 48% по

сравнению с контролем. Снижение уровня ферментативной активности: ОАА (отражающей суммарную активность панкреатической α -амилазы и собственно кишечных мальтазы и глюкоамилазы) и мембранного фермента сахаразы, а также снижение фермент-субстратного сродства (повышение K_m гидролиза крахмала) свидетельствуют об отсутствии адаптивных изменений данных показателей и уменьшении скорости начальных этапов гидролиза углеводов у сеголетков плотвы при поступлении ПХБ с кормом и грунтом.

Таблица 1. Влияние ПХБ, поступающих с грунтом и пищей, на активность карбогидраз (ОАА и сахаразы) и кинетические характеристики гидролиза крахмала в кишечнике сеголетков плотвы.

Продолжительность эксперимента, сутки	Ферментативная активность, мкмоль/(г·мин)		Кинетические характеристики гидролиза крахмала	
	ОАА	Сахараза	K_m	V_{max}
0	52.8 ± 1.50 —	4.51 ± 0.04 —	62.0 ± 3.80 —	72.5 ± 1.05 —
40	54.9 ± 2.51 50.3 ± 1.29	1.90 ± 0.06 1.66 ± 0.07^a	27.3 ± 2.02 25.0 ± 1.52	51.8 ± 1.92 50.5 ± 2.38
96	38.9 ± 0.86 34.7 ± 0.71^a	1.87 ± 0.04 1.26 ± 0.05^a	25.2 ± 1.11 37.3 ± 3.09^a	46.5 ± 2.12 41.2 ± 0.85
218	33.8 ± 2.13 33.6 ± 1.52	1.65 ± 0.07 2.18 ± 0.09^a	38.8 ± 4.02 44.8 ± 1.38	44.6 ± 2.71 40.3 ± 2.07

Примечание. Здесь и в табл. 2: над чертой контроль, под чертой — опыт; ^a — статистически достоверные изменения показателя по сравнению с контролем ($p < 0.05$).

Таблица 2. Влияние ПХБ, поступающих с пищей, на общую амилалитическую активность, активность сахаразы и кинетические характеристики гидролиза крахмала и сахарозы в кишечнике двухлетков плотвы.

Продолжительность эксперимента, сутки	Ферментативная активность, мкмоль/(г·мин)		Кинетические характеристики гидролиза			
			крахмала		сахарозы	
	ОАА	Сахараза	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}
0	22.10 ± 1.22 —	1.85 ± 0.06 —	31.0 ± 1.90 —	29.1 ± 1.70 —	— —	— —
52	33.0 ± 1.56 21.5 ± 0.98^a	1.98 ± 0.04 1.73 ± 0.05^a	56.4 ± 3.08 35.6 ± 1.89^a	42.6 ± 2.51 31.1 ± 1.65^a	12.1 ± 0.22 10.3 ± 0.16^a	2.46 ± 0.05 2.12 ± 0.10^a
169	33.0 ± 1.07 31.8 ± 1.28	2.38 ± 0.09 1.87 ± 0.05^a	41.2 ± 2.05 50.4 ± 1.24^a	47.8 ± 1.85 30.4 ± 2.70^a	15.0 ± 0.41 14.9 ± 1.38	3.11 ± 0.11 2.57 ± 0.08^a

У двухлеток плотвы ОАА достоверно снижалась на 35% от контроля лишь через 52 сут воздействия ПХБ, активность сахаразы — на 13 и 22% через 52 и 169 сут эксперимента (табл. 2). Значения K_m гидролиза крахмала достоверно снижались на 37% через 52, а через 169 сут воздействия достоверно повышались на 22% от контроля, при этом V_{max} снижалась 27% и 37%, соответственно. K_m гидролиза сахаразы достоверно снижалась лишь на 15% через 52 сут, V_{max} — на 14 и 17% через 52 и 169 сут, соответственно. Снижение K_m гидролиза крахмала и сахарозы, выявленные через 52 сут воздействия, отражают увеличение сродства ферментов к субстрату и свидетельствуют об адаптивных изменениях этого показателя. В то же время, через 169 сут эксперимента, адаптивных изменений кинетических характеристик ферментов, гидролизующих крахмал, не выявлено, что может быть обусловлено большим накоплением ПХБ в организме в течение более длительного периода воздействия.

Способность ПХБ изменять активность ферментов была отмечена ранее для β -глюкуронидазы в лизосомальной и микросомальной фракциях гепатопанкреаса карпа *Cyprinus carpio* (L.), этоксикумарин-О-диэтилазы и этоксирезорурфин-О-диэтилазы в микросомах печени рыб, для ряда ферментов сыворотки крови (Ito et. al., 1980; Melancon, Lech, 1983). Поскольку загрязненные осадки могут служить дополнительным источником ПХБ для рыб (Rubinstein et al., 1984), можно было предположить наличие более выраженного токсического эффекта в первой серии экспериментов на сеголетках. Однако, сравнение результатов 40 и 52 сут экспериментов показало, что у двухлеток

плотвы ферменты, расщепляющие полисахариды, более чувствительны к действию ПХБ, чем у сеголетков. Несмотря на то, что в экспериментах на сеголетках и пища, и грунт были загрязнены ПХБ, а в опытах с двухлетками грунт в аквариумах отсутствовал и ПХБ поступали лишь с кормом, уровень ОАА у первых достоверно не изменялся, в то время как у вторых снижался на 35% от контроля. Кроме того, у двухлеток отмечено снижение значений K_m гидролиза крахмала, свидетельствующее об увеличении фермент-субстратного сродства и адаптивных изменениях данного показателя. По всей вероятности, этот факт обусловлен изменениями панкреатической α -амилазы, которая более чувствительна к действию антропогенных факторов по сравнению с типично мембранными ферментами (Голованова, 2006). Выявленные различия могут быть связаны как с разным количеством ПХБ, накопленных в организме, так и с нелинейным характером ответной реакции пищеварительных карбогидраз на возрастание концентрации ксенобиотиков, как это было показано ранее при действии хлорофоса и нитрозогуанидина на молодь плотвы (Голованова и др., 2007).

Таким образом, в хроническом эксперименте (5-7 мес) установлено негативное действие ПХБ, поступающих с загрязненным грунтом и/или пищей, на активность ферментов, расщепляющих углеводные компоненты корма в кишечнике молоди плотвы. Снижение уровня ОАА и активности сахаразы составляет 11–35% от контроля. Результаты 40 и 52 сут экспериментов свидетельствуют о том, что присутствие загрязненного грунта не усиливает негативного эффекта ПХБ, поступающих с кормом. Напротив, у двухлетков плотвы, содержащихся в аквариумах без грунта и получавших ПХБ исключительно с пищей, выявлено снижение уровня ОАА и адаптивные изменения сродства ферментов, гидролизующих ди- и полисахариды, к субстрату. В то же время негативный эффект действия ПХБ на активность мембранного фермента сахаразы одинаков у рыб обеих возрастных групп. По мере увеличения продолжительности эксперимента, эффекты действия ПХБ на активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза крахмала и сахарозы меняются в различных направлениях в зависимости от возраста рыб и условий эксперимента.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №08-05-00805.

Список литературы

- Голованова И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у рыб и объектов их питания // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб: ИЭФБ им. И.М. Сеченова РАН. 2006. 43 с.
- Голованова И.Л., Таликина М.Г., Филиппов А. А. Отдаленные последствия влияния сверхнизких концентраций хлорофоса и нитрозогуанидина в период эмбриогенеза на физиолого-биохимические показатели сеголетков плотвы // Совр. пробл. физиол. и биохим. вод. организмов. Тез. 2-ой науч. конф. Петрозаводск, 2007. С. 42–43.
- Изымов Ю.Г., Таликина М.Г., Чеботаева Ю.В. Эмбриональная смертность и мутагенный эффект в первом поколении плотвы *Rutilus rutilus* при прямом и опосредованном действии Ароклора 1254 на спермии родителей // Вопр. ихтиологии. 2004. Т. 44. №2. С. 265–269.
- Роотс О.О. Общие закономерности накопления полихлорированных дифенилов и хлорорганических пестицидов в планктоне и рыбах Балтийского моря / 1 Всес. конф. по рыбхоз. токсикол. Тез. докл. Ч. 2. Рига, 1989. С. 95–96.
- Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С.192–196.
- Ito Y., Nishimura K., Murata T. Effects of PCB on lysosomes in the hepatopancreas of carp. // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1980. V.46. № 4. P.469–472.
- Melancon M.J., Lech J.J. Dose-effect relationship for induction of hepatic monooxygenase activity in rainbow trout and carp by Aroclor 1254 // Aquat. Toxicol. 1983. V. 4. № 1. P. 51–61.
- Nakayama K., Oshima Y., Nagafuchi K., Hano T., Shimasaki Y., Hongo T. Early-life-stage toxicity in offspring form exposed parent medaka, *Oryzias latipes*, to mixtures of tributyltin and polychlorinated biphenyls // Environ. Toxicol. and Chem. 2005. V. 24. № 3. P.591–596.
- Niimi A.J. PCBs in aquatic organisms // In: Beyer W.N., Heinz G.H., Redmon-Norwood F.W. (eds) Environmental contaminants in wildlife. Interpreting tissue concentrations. Boca Raton-NY-London-Tokyo: CRC Press. 1996. Ch.5. P.117–151.
- Paterson G., Drouillard K.G., Haffner G. D. An evaluation of stable nitrogen isotopes and polychlorinated biphenyls as bioenergetic tracers in aquatic systems // Can. J. Fish. and Aquat. Sci. 2006. V. 63. № 3. P. 628–641.
- Rubinstein N.I., Gilliam W.T., Gregory N.R. Dietary accumulation of PCBs from a contaminated sediment source by a demersal fish (*Leiostomus xanthurus*) // Aquat. Toxicol. 1984. V. 5. № 4. P. 331–342.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. N.Y.: Freeman and Co, 1995. 887 p.

ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *ARTEMIA SPECIES* К СОЕДИНЕНИЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ РАЗЛИЧЬ МИНЕРАЛИЗАЦИИ ВОДЫ

В.В. Горгуленко, Д. Ю. Гаськов, В.В. Кириллов

Институт водных и экологических проблем СО РАН

656038, г. Барнаул, ул. Молодежная, 1, Россия, lada@iwep.asu.ru, vkirillov@iwep.asu.ru

При выборе тест-объектов учитывают региональный фактор, то есть в биотестах используют живые организмы занимающие центральное место в исследуемой экосистеме (Брагинский, 1993; Филенко, 1976). Поэтому, для биотестирования вод ультрагалинных водоемов Алтайского края целесообразно использовать в качестве тест-объекта рачков рода *Artemia*, которые не только широко расселилась в солёных водоёмах края, но и часто является доминирующим видом (Соловов, 1990). Биотесты на артемии стандартизированы в ряде стран, в том числе и в России (Методика., 2006; Руководство., 2002). Их применяют для оценки токсичности поверхностных, подземных и сточных вод, водных вытяжек почв, донных отложений и отходов (Бутаев, 2002). Несмотря на стандартизацию этих методик, существует ряд недостаточно проработанных в них аспектов.

Во-первых, в методиках биотестирования (Методика., 2006; Руководство., 2002), для описания вида используют термин «*Artemia salina* L». Однако в 1979 г. видовой статус *Artemia salina* Linnaeus был признан таксономически недействительным. При этом североамериканские и североафриканские популяции предложено относить к видам *A. franciscana* и *A. tunisiana*. Евразийские парthenогенетические популяции артемий относят к *A. parthenogenetica* (Browne, 1982; Lavens, 1996). С другой стороны, рассматривая видовой статус артемии, В.П. Соловов (1990) писал, что если популяцию нельзя идентифицировать, то целесообразно использовать родовой статус, т.е. *Artemia species*. Таким образом, в российских методиках остается открытым вопрос о том, какой вид артемии действительно используется в биотестировании.

Во-вторых, исследования в области сравнительной токсикологии беспозвоночных показывают, что виды одного рода обладают разной чувствительностью к токсическим соединениям (Макрушин, 1988). Отметим, что знаний в области сравнительной чувствительности разных видов артемии к действию токсикантов недостаточно, что указывает на необходимость исследований в этом направлении.

В-третьих, не совсем ясны пределы минерализации исследуемой среды, при которой можно использовать, например, науплиусов артемии. Так согласно Руководству (2002) в качестве культивационной воды для выращивания науплиусов, в контроле и для приготовления разбавлений рекомендована искусственная морская вода с минерализацией 32 г/дм³. В соответствии с Методикой (2006) культивационную воду готовят из отстоянной водопроводной воды с добавлением NaCl до необходимой солёности. Однако в методиках не учитывается то, что минерализация некоторых озёр Западной Сибири колеблется от 33,7 до 265,6 г/дм³ (Соловов, 1990). Кроме того, не учитывается то, что степень растворения NaCl в 100 мл воды, при 20⁰C, равна 36 г. Использование перенасыщенного раствора нецелесообразно, так как перенасыщенные растворы неустойчивы – помешивание и встряхивание могут вызвать кристаллизацию избытка соли.

В-четвертых, успех биотестирования в значительной мере зависит от культивационной воды, которую, как правило, используют в экспериментах для приготовления разбавлений, а также в качестве контроля. В работе Л.П. Брагинский (2000) отмечено, что независимо от выбранного способа приготовления воды для культивирования тест-объекта или проведения токсикологического анализа с помощью них, вода должна быть «облагорожена» и должна способствовать полноценному развитию организма. Согласно данным Т.А. Самойловой (2006) для проведения краткосрочных экспериментов на артемии можно использовать сбалансированную искусственную морскую воду с минимальным набором элементов, например, «Tropic marine». Но, выживаемость артемии и ее полноценное развитие в такой воде ниже, чем в воде обогащенной органическими и минеральными добавками. Таким требованиям соответствует искусственная морская вода приготовленная из синтетической морской соли «hw-Marinmix professional» (Самойлова, 2006; Terzaghi; 1998). Кроме того, П.М. Вороновым (1984) экспериментально было показано то, что науплиусы артемии способны жить в среде с NaCl от двух до трех недель. Отметим, что нами не найдены данные о сравнительной физиологии науплиусов артемии и их чувствительности к действию токсических соединений при использовании культивационных сред приготовленных на основе NaCl, и набора солей. Поэтому, рекомендации Методики (2006) по применению воды приготовленной на основе хлорида натрия, на наш взгляд требуют дополнительных исследований.

Выше изложенное послужило основанием для проведения исследований, целью которых было

выявление наиболее чувствительных науплиусов артемии из разных популяций к токсическому действию соединений тяжелых металлов ($K_2Cr_2O_7$, $CdSO_4$, $CuSO_4$) в условиях разного минерального состава и минерализации воды. Объектом исследования были суточные науплиусы *Artemia sp.* выращенные из цист с оз. Малое Яровое (сбор 2003 г.) и Большое Яровое (сбор 2006 г.), а также из цист приобретенных в зоомагазине (фирмы: ЗАО «Нева-Тропик» (г. Москва) и ЗАО «Совхоз Городской» (г. Барнаул)). При минерализации 10 г/дм³ воду готовили из отстоянной водопроводной воды с последующим добавлением хлорида натрия (Методика., 2006) и из дистиллированной воды путем добавления синтетической морской соли «hw-Marinmix» (Германия). При минерализации 32 г/дм³ воду готовили по ИСО 10253 из дистиллированной воды путем добавления минеральных солей (табл. 1) (Руководство., 2002). Перед биотестированием приготовленные среды аэрировали в течение 2-х суток.

Таблица 1. Состав искусственной морской воды (минерализация 32 г/дм³)

Химическое вещество	Концентрация, г/дм ³	Химическое вещество	Концентрация, г/дм ³
NaCl	22.000	CaCl ₂ (безводный)	1.000
Na ₂ SO ₄ (безводный)	3.700	KCl	0.650
NaHCO ₃	0.200	H ₃ BO ₃	0.023
MgCl ₂ *6H ₂ O	9.700		

При выборе наиболее чувствительных науплиусов, из четырех исследуемых популяций артемии, учитывали следующие показатели: 1. выклев науплиусов должен быть более чем 60%; 2. количество погибших науплиусов в контроле не должно превышать 10%.

Минерализация искусственной морской воды 10 г/дм³. Выклев науплиусов из цист с оз. М. Яровое, ЗАО «Нева-Тропик» и ЗАО «Совхоз Городской» составил от 70 до 90%, из цист с оз. Б. Яровое – менее чем 60%. Поэтому эксперименты с науплиусами выращенными из цист с оз. Б. Яровое далее не проводили.

Установлено, что для науплиусов исследуемых трех популяций артемии наиболее токсичен бихромат калия, менее токсичен – сульфат кадмия и наименее – сульфат меди (II). При этом науплиусы выращенные из цист с оз. М. Яровое наиболее чувствительны к токсическому действию соединений тяжелых металлов, чем науплиусы выращенные из цист ЗАО «Совхоз Городской» и ЗАО «Нева-Тропик» (табл. 2).

При использовании воды приготовленной из синтетической морской соли «hw-Marinmix» науплиусы исследуемых популяции артемии более чувствительны к действию соединений тяжелых металлов, чем при использовании воды приготовленной с добавлением NaCl (табл. 2).

Таблица 2. Полулетальные концентрации соединений тяжелых металлов для науплиусов *Artemia sp.* в условиях разного состава воды (минерализация 10 г/дм³)

Исследуемое вещество	Критерий токсичности	Источник материала		
		оз. Малое Яровое	ЗАО «Нева- Тропик»	ЗАО «Совхоз Городской»
	NaCl			
K ₂ Cr ₂ O ₇ , (мгCr/дм ³)	ЛК ₅₀ - ⁴⁸	5.0	5.8	6.0
CdSO ₄ , (мгCd/дм ³)		9.1	93.4	—
CuSO ₄ , (мгCu/дм ³)		15.8	17.9	—
синтетическая морская соль «hw-Marinmix»				
K ₂ Cr ₂ O ₇ , (мгCr/дм ³)	ЛК ₅₀ - ⁴⁸	2.6	3.02	4.6
CdSO ₄ , (мгCd/дм ³)		7.6	85.2	-
CuSO ₄ , (мгCu/дм ³)		10.2	12.3	-

Минерализация искусственной морской 32 г/дм³. Выклев науплиусов из цист с оз. М. Яровое, Б. Яровое и ЗАО «Нева Тропик», ЗАО «Совхоз Городской» составил 70 – 90%. Наибольший выклев науплиусов был получен из цист ЗАО «Совхоз Городской» и ЗАО «Нева-Тропик».

В контроле, при использовании свежеприготовленной искусственной морской воды, гибель науплиусов, выращенных из цист с оз. М. Яровое, Б. Яровое и ЗАО «Нева Тропик», превышала 10%,

гибель науплиусов выращенных из цист ЗАО «Совхоз Городской» - менее 10%. Но установить полулетальную концентрацию бихромата калия ($ЛК_{50-72}$) для науплиусов выращенных из цист ЗАО «Совхоз Городской» не удалось, т.к. выживаемость тест-особей в токсической среде была более чем 50%.

Было сделано следующее заключение - свежеприготовленная искусственная морская вода (32 г/дм^3) непригодна для проведения биотестирования на науплиусах артемии. Опираясь на замечание Л.П. Брагинского (2000) о том, что в соответствии с национальными стандартами Франции, США «стандартные тест-растворы» могут быть использованы в биотестах после 20 дней их приготовления, были проведена серия экспериментов на искусственной морской воде с разными сроками ее аэрации. В качестве тест-объектов использовали науплиусы выращенные из цист с оз. М. Яровое, как наиболее чувствительные к токсическому действию тяжелых металлов при проведении экспериментов на воде с минерализацией 10 г/дм^3 . В качестве модельного токсиканта использовали бихромат калия.

Было установлено, что с увеличением срока аэрации искусственной морской воды повышается и выживаемость науплиусов в контроле. При этом наибольшая гибель науплиусов была зафиксирована в контрольной воде после ее недельной аэрации (гибель тест-особей составила 93.3 %). В экспериментах на воде со сроком аэрации от 2-х до 7-и недель гибель науплиусов находилась в пределах от 50 до 16.7%. После 8, 9 и 10-и недель аэрации воды гибель науплиусов в контроле составила 10% (рис.1).

Рис. 1 Доля гибели науплиусов *Artemia sp.* в искусственной морской воде (32 г/дм^3) после ее аэрации в течение:



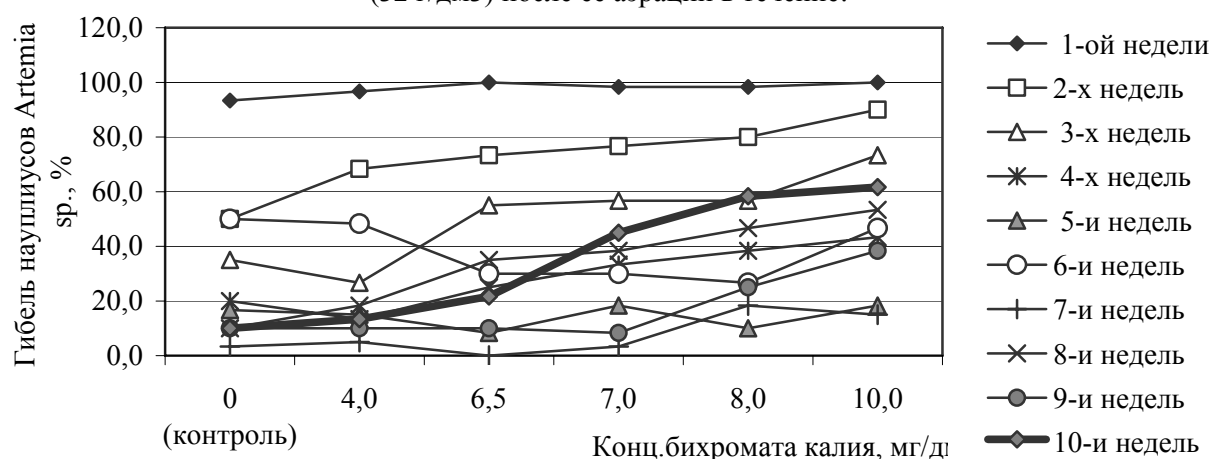
При использовании воды со сроками аэрации от 1 до 2-х недель наблюдали самую высокую гибель науплиусов во всех исследуемых концентрациях бихромата калия. При увеличении срока аэрации воды наблюдали тенденцию в уменьшении гибели науплиусов в растворах токсиканта с низкой концентрацией и увеличением гибели науплиусов при высоких концентрациях бихромата калия. Однако только при использовании воды со сроком аэрации воды 10 недель были получены результаты, удовлетворяющие условиям проведения эксперимента с бихроматом калия согласно Руководству (2002), то есть гибель науплиусов в контроле не превышала 10%, полулетальная концентрация (ЛК) бихромата калия для тест-особей находилась в диапазоне $2,3 - 2,83 \text{ мгСг/дм}^3$ (рис. 2).

Установлено, что полулетальная концентрация бихромата калия для науплиусов выращенных из цист с оз. М.Яровое равна 2.5 мгСг/дм^3 , для науплиусов выращенных из цист от ЗАО «Нева-Тропик» - 7.7 мгСг/дм^3 , для науплиусов выращенных из цист от ЗАО «Совхоз Городской» - 8.8 мгСг/дм^3 . Соответственно, науплиусы выращенные из цист с оз. М.Яровое менее устойчивы к токсическому действию бихромата калия, чем науплиусы выращенные из цист ЗАО «Нева-Тропик» и ЗАО «Совхоз Городской».

Таким образом, методика приготовления культивационной воды согласно Руководству (2002) – трудоёмка, так как требует продолжительного времени в ее подготовке к биотесту. По нашему мнению, для биотестирования наиболее пригодна вода приготовленная на основе синтетической морской соли «hw-Marinmix» (Германия).

Из четырех исследуемых популяций науплиусы, выращенные из цист с оз. М. Яровое, наименее устойчивы к токсическому действию исследуемых соединений тяжелых металлов в условиях разного минерального состава и минерализации воды. При сравнении полученных результатов с литературными данными было установлено, что науплиусы артемии менее устойчивы к соединениям тяжёлых металлов по сравнению с водорослями *Phaeodactylum tricornutum* Bohl.

Рис. 2. Динамика гибели науплиусов *Artemia* sp. в контроле и в среде с бихроматом калия в экспериментах с искусственной морской водой (32 г/дм³) после ее аэрации в течение:



(Дятлов, 2000, 2001а,б), инфузориями *Euplotes patella lemani* (Петросян, 2000), моллюсками *Lymnaea ovata* (Курочкина, 1999), но уступают в чувствительности коловраткам *Brachionus plicatilis* Muller (Самойлова, 2006) и гидроидным полипам *Cordylophora inkermanica* и *C. caspia* (Кошелев, 2003). Таким образом, науплиусы артемии можно отнести к тест-объектам со средней чувствительностью к токсическому действию соединений тяжелых металлов.

Список литературы

- Айвазова Л.Е., Гроздов А.О., Соколова С.А., Новосадова Т.Г. Метод биотестирования водной среды с использованием инфузорий / Методы биотестирования вод. – Черноголовка, 1988. – С. 37 – 42.
- Балаян А.Э., Стом Д.И. Метод биотестирования по обездвиживанию клеток водорослей дюналиеллы / Методы биотестирования вод. – Черноголовка, 1988. – С. 21 – 23.
- Брагинский Л.П. Интегральная токсичность водной среды и ее оценка с помощью методов биотестирования // Гидробиол. ж. – 1993. – Т. 29. – № 6. – С. 66-72.
- Брагинский Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиол. ж. – 2000. – Т.36, №5. – С.50 – 70.
- Бутаев А.М., Костров Б.П., Исуев А.Р. и др. Токсико-генетическое состояние природных вод Дагестана / Вестник Дагестанского научного центра РАН. – 2002. – № 12 – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.caspiy.net/dir2/ekotoks.html>.
- Воронов П.М., Волков П.В. Влияние соединений натрия на выклев и выживаемость науплиусов *Artemia salina* / Гидробиол. ж. – 1984. – Т.20, №1. – С.93 – 94.
- Гроздов А.О., Айвазова Л.Е., Соколова С.А., Цвылев О.П. Метод биотестирования водной среды с использованием коловратки / Методы биотестирования вод. – Черноголовка, 1988. – С. 47 – 50.
- Дятлов С.Е., Петросян А.Г. Норма реакции лабораторной культуры *Phaeodactylum Tricornutum* Bohl. на абиотические факторы. 1. Чувствительность к стандартному токсиканту бихромату калия / Альгология – 2000. – Т.10. – № 1. – С. 32-35.
- Дятлов С.Е., Петросян А.Г. *Phaeodactylum Tricornutum* Bohl. (Chrysophyta) как тест-объект. Общие положения / Альгология. – 2001а. – Т.11. – № 1. – С. 145 – 154.
- Дятлов С.Е., Петросян А.Г. *Phaeodactylum Tricornutum* Bohl. (Chrysophyta) как тест-объект. Диапазон соленостной резистентности / Альгология – 2001. – Т.11. – № 2. – С. 259 – 264.
- Кошелев А.В. Гидроидные полипы рода *Cordylophora* в токсикологических исследованиях / Экология моря. – 2003. Вып. 64. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.gosnadzor.ru/about/p4.dos>.
- Курочкина Т.Ф., Насибулина Б.М. и др. Оценка влияния токсических веществ на биологические объекты / Рыбохозяйственные исследования на Каспии. Результаты НИР за 1999 год. – Астрахань, 2000. – С. 45-46.
- Макрушин А.В. Опыт использования в биотестировании разных видов ветвистоусых ракообразных / Под ред. М.А. Перевозникова, А.Н. Гантверга // Влияние биологически активных веществ на гидробионтов. Сб. науч. Трудов ГосНИОРХ/ – Л.: Промрыбвод, 1988. – Вып. 287. – С. 92 – 95.
- Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *Artemia salina* L.: ФР 1.1.39.2006.02505, ПНД Ф Т 14.1:2.14-06, 16.1:3.11-06. – М.: МГУ, 2006. – 22 с.

Петросян А.Г., Дятлов С. Е. Инфузории рода *Euplotes* как тест-организмы в морском биотестировании / Экология моря. – 2000. - №50. – С. 105 – 108.

Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов / Отв. исполнители: В. Н. Кузьмич, С. А. Соколова, А. Н. Крайнюкова. – М.: РЭФИА, НИИ Природа, 2002. – С. 87 – 93.

Самойлова Т.А. Отдаленные эффекты токсичного загрязнения среды на солоноводных беспозвоночных в культуре : Автореф. дис.... к.б.н. – М., 2006. – 22 с.

Соловов, В.П., Студеникина Т.Л. Рачок артемия в озерах Западной Сибири: морфология, экология, перспективы хозяйственного использования / Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1990. – 81 с.

Филенко О.Ф., Хоботьев В.Г. Загрязнение металлами / Общая гидробиология. Биоценология. Гидробиология. – М.: ВИНТИ, 1976. – Т. 3. – С. 110-150.

Browne R.A Biogeography of the brine shrimp, *Artemia*: distribution of parthenogenetica and sexual populations // J. Biogeography. – 1982. – Vol. 9, №4. – P. 331 – 338.

Lavens P., Sorgeloos P., eds Manual on the production and use of live food for aquaculture / FAO Fisheries Technical Paper. No. 336. Rome, FAO, 1996. - 295 p.

Terzaghi C., Buffagni M., Bonfanti P., Camatini M. Physical-chemical and ecotoxicological evaluation of water based drilling fluids used in Italian off-shore / Chemosphere. - Vol. 37, № 14 –15. – 1998. – P. 2859 – 2871.

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КАТИОННЫХ ДЕТЕРГЕНТОВ НА ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.

О.Л. Гостюхина, А.А. Солдатов, И.В. Головина, В.В. Трусевич, А.Я. Столбов

Институт биологии южных морей НАН Украины

пр. Нахимова, 2, Севастополь 99011, Крым, Украина, gostolga@yandex.ru

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) относятся к группе токсикантов, способных оказывать прямое повреждающее действие на гидробионтов. Среди ПАВ выделяют 3 основные категории: ионогенные (катионные и анионные), неионогенные и высокомолекулярные ПАВ [9]. Особую опасность для водных организмов представляют катионные детергенты, к числу которых принадлежит и тетрадецилтриметиламмоний бромид (ТДТМА) [11]. Это обусловлено их высокими адгезивными свойствами и выраженным перфорирующим действием на биомембраны [13, 14], что может приводить к активации в них процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1] и нарушению структуры и функций мембран, а также к повреждению молекул белков и нуклеиновых кислот, клеточных и тканевых структур. Усиление реакций ПОЛ не может не оказывать влияние и на состояние защитного антиоксидантного (АО) комплекса тканей гидробионтов.

Известен ряд негативных эффектов катионных ПАВ в отношении некоторых водных организмов. В частности, установлено, что эти токсиканты оказывают ингибирующее действие на фильтрационную активность мидий *Mytilus galloprovincialis* и *M. edulis* [5, 7], пресноводных унioniда *Unio pictorum* и *U. tumidus* [8] и коловраток *Brachionus angularis* [6], трофическую активность моллюска *Lymnaea stagnalis* [8], угнетают рост пресноводных водорослей и цианобактерий [3], повреждают структуру биомембран в тканях рыб *Pimephales promelas* и *Ictalurus punctatus* [13]. Однако информация о воздействии катионных детергентов на АО комплекс и ПОЛ, а также на поведенческие реакции двустворчатых моллюсков-фильтраторов, являющихся важным объектом биомониторинга, крайне ограничена. Это и определило цель работы – выявить особенности влияния катионного детергента ТДТМА на состояние системы АО активность↔ПОЛ и поведение черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam.

Для оценки состояния АО активности и уровня ПОЛ использовали половозрелых особей мидий черной и коричневой морфы с длиной раковины 50-60 мм. Моллюсков собирали с коллекторных установок НИЦ «Государственный океанариум» в бухте Казачья и частного предприятия в бухте Севастопольской (район Севастополя, Черное море). Животных подвергали воздействию раствора ТДТМА в концентрации 0.8 мг л⁻¹ в течение 8 суток. В супернатантах тканей гепатопанкреаса, жабр и ноги мидий определяли активность АО ферментов: глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), супероксиддисмутаза (СОД), каталазы и пероксидазы, а также содержание восстановленного глутатиона (GSH), ТБК-активных продуктов и белка согласно методикам, описанным ранее [2].

Для выявления поведенческих реакций моллюсков также использовали взрослых особей мидий, размером 55-60 мм, которых подвергали воздействию ТДТМА в концентрации 3.4 мг л⁻¹ в течение 5.5 часов. Эксперименты проведены на базе Карадагского природного заповедника НАН Украины. Для работы использовали автоматизированный комплекс регистрации движений створок

моллюсков, разработанный в Институте биологии южных морей НАН Украины в 2002 году [10]. Работа прибора заключается в регистрации сигналов с помощью датчика Холла и магнита, закрепленных на створках раковины, при изменении расстояния между ними, с последующим преобразованием в цифровую информацию. Чувствительность прибора 0.1 мм. Прибор позволяет использовать в эксперименте 10 животных, размещаемых в индивидуальных лотках с независимым водоснабжением. Непрерывный съем информации с регистрацией сигналов осуществляется через 1 минуту, с последующей компьютерной обработкой материала. Цифровой материал обработан статистически [4]. Сравнение выборочных средних осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты в таблицах представлены как $\bar{x} \pm S\bar{x}$.

Оценка состояния АО комплекса и ПОЛ тканей мидий. Наиболее выраженные изменения при влиянии ТДТМА обнаружены у мидий черной морфы.

Жабры. В условиях действия детергента рост содержания ТБК-активных продуктов в этом органе составил 31.5 % ($p \leq 0.01$) (табл. 1).

Таблица 1. Содержание ТБК-активных продуктов в тканях мидий в контроле и в условиях действия ТДТМА, мкмоль МДА мг^{-1} белка

Ткани	Черная морфа		Коричневая морфа	
	контроль	опыт	контроль	опыт
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Гепатопанкреас	355.0 \pm 34.8 n=15	436.1 \pm 51.7 n=12	345.0 \pm 40.6 n=10	486.7 \pm 107.2 n=10
Жабры	649.9 \pm 57.4* n=12	925.1 \pm 101.0* n=11	992.6 \pm 141.7 n=10	954.9 \pm 149.2 n=10
Нога	220.0 \pm 45.1 n=9	354.0 \pm 63.9 n=11	418.9 \pm 64.3 n=9	331.8 \pm 94.5 n=10

Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$; n – число особей

Высокая чувствительность жабр к действию ТДТМА обусловлена, по всей вероятности, выполнением их физиологических функций – респираторной и фильтрационной, которые реализуются через тонкий водно-гематический барьер при постоянном непосредственном контакте ткани с внешней средой. Очевидно, это и обуславливает повышенную уязвимость жабр к действию токсиканта.

Компенсация окислительной нагрузки в жабрах осуществлялась с участием разных звеньев АО комплекса – как высокого, так и низкого сродства к субстрату. Ключевая роль в защите клеток жабр от токсического действия ТДТМА принадлежит системе СОД-каталаза. Увеличение активности этих ферментов составило: СОД – в 6.0 раз ($p \leq 0.001$), каталазы – в 1.7 раза ($p \leq 0.01$) (рис. 1).

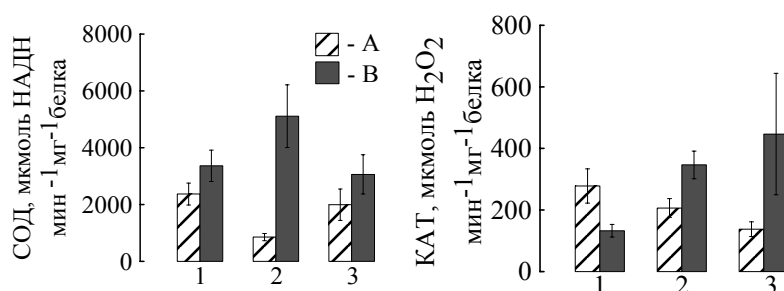


Рис. 1. Активность СОД и каталазы в тканях мидий черной морфы при действии ТДТМА

(А – контроль, В – опыт, 1 – гепатопанкреас, 2 – жабры, 3 – нога)

Указанные ферменты функционируют, как правило, во взаимосвязи, обеспечивая защиту клеток от токсического действия высоких концентраций продуктов ПОЛ. СОД осуществляет реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала с образованием менее активного пероксида водорода. Токсичный H_2O_2 , в свою очередь, обезвреживается каталазой, обладающей низким сродством к данному соединению.

Содержание восстановленного глутатиона под действием ТДТМА возросло в сравнении с контрольной группой в 1.7 раза ($p \leq 0.05$) (рис. 2). При этом реакции глутатион-зависимых ферментов не совпадали. Отмечен рост активности ГР в 1.45 раза ($p \leq 0,05$). Для ГП, напротив, обнаружено достоверное снижение активности в 1.6 раза ($p \leq 0,05$) (рис. 2). Такое соотношение величин

компонентов глутатионпероксидной системы (ГПС) указывает на то, что ее функционирование направлено, по всей вероятности, на наращивание ресурса GSH, участвующего как в работе ГПС, так и осуществляющего самостоятельное антиоксидантное действие. Это позволяет рассматривать рост содержания GSH в жабрах как свидетельство активации защитных систем клетки и формирования адаптивного ответа этой ткани на действие токсической нагрузки.

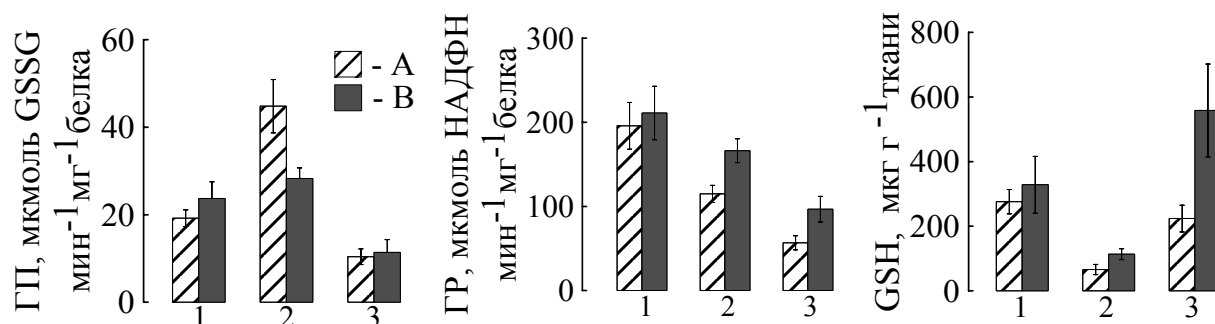


Рис. 2. Активность ГП, ГР и уровень GSH у мидий черной морфы при действии ТДТМА (А – контроль, В – опыт, 1 – гепатопанкреас, 2 – жабры, 3 – нога)

В остальных тканях моллюска действие детергента не приводило к столь выраженным изменениям в АО статусе и уровне ПОЛ, как в жабрах.

Гепатопанкреас. Использованный в эксперименте детергент не оказал заметного влияния на ткань гепатопанкреаса. Это выражалось в неизменном содержании ТБК-активных продуктов и постоянном уровне антиоксидантной активности, а в отдельных случаях – и в ее снижении (каталаза).

Взаимодействие со средой тканей гепатопанкреаса, относящегося к группе внутренних органов, носит опосредованный характер. Уровень токсических продуктов в нем определяется их содержанием в гемолимфе моллюсков. Следовательно, степень токсической нагрузки на гепатопанкреас должна быть ниже, чем в периферических тканях, непосредственно контактирующих с детергентом. Кроме того, гепатопанкреас мидий, выполняющий функцию детоксикации, обладает мощными системами обезвреживания различных токсикантов, а также способен к их накоплению без потери своей функциональной полноценности [12]. По всей вероятности, указанные свойства и определили наибольшую устойчивость гепатопанкреаса к действию ТДТМА.

Нога. Реакции ГПС в ноге, как и в ткани жабр, заключались в существенном росте уровня GSH и активности ГР. Увеличение составило соответственно 2.5 раза ($p \leq 0.05$) и 1.7 раза ($p \leq 0.05$). При этом активность ГП в ноге не претерпевала изменений. Вероятно, работа ГПС в ноге мидий черного фенотипа была направлено на наращивание ресурса GSH. В отличие от ГПС, в активностях СОД, каталазы и пероксидазы под воздействием детергента статистически значимых изменений в ткани ноги обнаружено не было.

Более низкий, чем в жабрах, уровень окислительной нагрузки в ноге можно объяснить отличиями в структурно-функциональных особенностях данных тканей. Нога, в отличие от жабр, имеет более плотный многослойный эпителий и в целом характеризуется меньшей интенсивностью обменных процессов. В связи с этим, мембраны эпителиальных клеток ткани ноги являются, по всей вероятности, менее проницаемыми для детергента. Это, очевидно, и обусловило сохранение интенсивности ПОЛ на постоянном уровне, а также менее выраженные изменения в АО статусе данной ткани.

Отклик АО комплекса и ПОЛ тканей мидий коричневой морфы на действие токсиканта был качественно сходным с реакциями особей черного фенотипа. Наиболее выраженные изменения также зафиксированы в жаберной ткани. Отличия выражались только в неизменном содержании ТБК-активных продуктов во всех исследованных тканях. Это свидетельствует о меньшей чувствительности и более высокой устойчивости тканей мидий коричневой морфы к действию катионного детергента.

Поведенческие реакции. Воздействие раствора ТДТМА в концентрации 3,4 мг л⁻¹ вызывает захлопывание створок моллюсков в первые 0,5-1,5 минуты появления токсиканта в воде экспериментальных лотков (максимальная концентрация токсиканта -3.4 мг/л устанавливалась в лотках через 5 минут пропускания раствора). На протяжении всего периода экспозиции (5,5 часов) некоторые моллюски кратковременно приоткрывали створки на небольшую величину, очевидно для выброса продуктов метаболизма, и тут же их вновь захлопывали. Примеры актограмм приводятся на

рисунке 3.

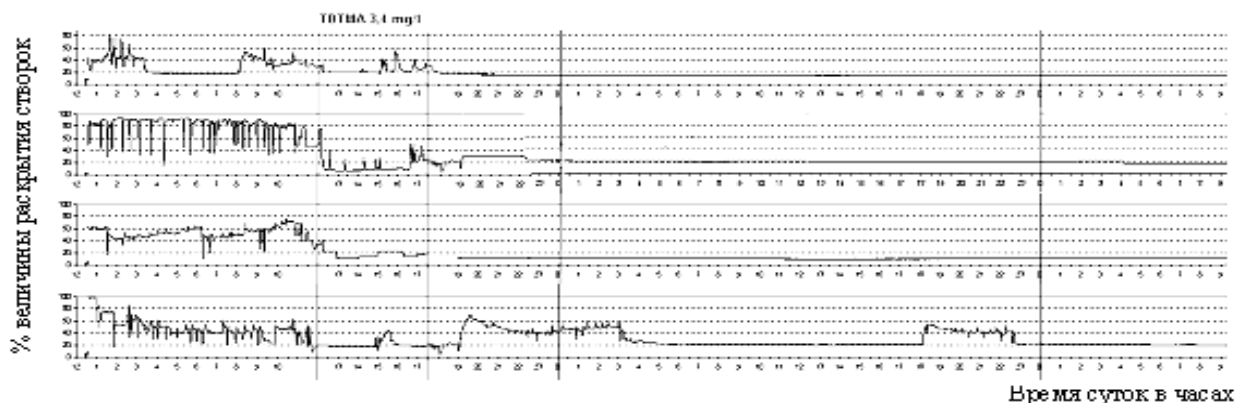


Рис.3. Актограмма движений створок мидий при воздействии раствора ТДТМА в концентрации 3.4 мг л^{-1}

Использованная концентрация ТДТМА в поведенческих экспериментах оказалась чрезвычайно высокой, так как даже после замены раствора ТДТМА на чистую морскую воду большинство моллюсков створки не открывали и после окончания эксперимента через 1.5 суток оказались мертвыми. На более низкие концентрации детергента реакция не была выражена. Это означает, что контроль состояния АО ферментативной системы тканей является более информативным в оценке токсичности водной среды, чем поведенческие реакции моллюска.

Таким образом, наиболее чувствительной к действию катионного детергента ТДТМА является ткань жабр мидий черной морфы. Об этом свидетельствует увеличение уровня ТБК-активных продуктов. Компенсация токсической нагрузки осуществляется с участием АО систем разного уровня – как высокого, так и низкого сродства к субстрату. Реакции антиоксидантного комплекса гепатопанкреаса и ноги менее выражены, а интенсивность ПОЛ в этих тканях не претерпевает изменений. Поведенческие реакции моллюска менее восприимчивы к токсическому эффекту ТДТМА, чем параметры ферментативной АО системы и процессы ПОЛ. Последние следует рекомендовать в качестве биомаркеров токсичности водной среды.

Список литературы

- Ведутенко В.В., Писаренко Л.М., Касакина О.Т. ПАВ – супрамолекулярные катализаторы реакции β -каротина с гидропероксидами // XI Междунар. конф. по химии органических и элементоорганических пероксидов: Тез. докл., 24–26 июня 2003 г. – М., 2003. – С. 129–130.
- Гостюхина О.Л., Солдатов А.А., Головина И.В. Влияние тетрадецилтриметиламмоний бромида на состояние ферментативной системы антиоксидантной защиты тканей черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Доп. НАН України. – 2007. – № 11. – С. 147–151.
- Колотилова Н.Н., Пискунова Н.Ф., Остроумов С.А. Воздействие катионогенных СПАВ на пресноводные цианобактерии и зеленые микроводоросли // Современные проблемы микологии, альгологии и фитопатологии. – М., 1998. – С. 337–338.
- Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990.
- Остроумов С.А. Действие некоторых амфифильных веществ и смесевых препаратов на морских моллюсков // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 39, № 2. – С. 103–108.
- Остроумов С.А., Вальц Н., Руше Р. Воздействие катионного амфифильного вещества на коловраток // Докл. РАН. – 2003. – Т. 390, № 3. – С. 423–426.
- Остроумов С.А., Виддоус Дж. Воздействие катионного поверхностно-активного вещества на мидий: ингибирование фильтрации воды // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. – 2004. – №4. – С. 38–41.
- Остроумов С.А., Колесников М.П. Моллюски в биогеохимических потоках (С, N, P, Si, Al) и самоочищении воды: воздействие ПАВ // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. – 2003. – № 1. – С. 15–24.
- Паршикова Т.В., Негруцкий С.Ф. Влияние поверхностно-активных веществ на водоросли (Обзор) // Гидробиол. журн. – 1988. – Т. 24, № 6. – С. 46–58.
- Трусевич В.В., Столбов А.Я. Поведенческие реакции черноморских мидий в исследовании механизмов адаптации к условиям среды обитания // Наук.і зап. Тернопільського національного педагогічного університету. Сер. Біологія. – 2005. – Т. 4, № 27. – С. 251–254.
- Bindu P.C., Philip B., Chandran R.V. Lysosomal stability in *Oreochromis mossambicus* (Peters) on exposure to

surfactants // Indian. J. Exp. Biol. – 2005. – Vol. 43, № 1. – P. 96–99.
Livingstone D.R., Lips F., Garcia Martinez P., Pipe R.K. Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis* // Mar. Biol. – 1992. – Vol. 112, № 2. – P. 265–276.
Rosen M.J., Li F., Morall S.W., Versteeg D.J. The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organisms // Environ. Sci. Technol. – 2001. – V. 35, № 5. – P. 954–959.
Ying G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // Environ. Int. – 2006. – Vol. 32, № 3. – P. 417–431.

ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ВОДНОЙ СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ В ЗООПЛАНКТОНЕ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ С ОПУХОЛЕПОДОБНЫМИ АНОМАЛИЯМИ

Н.Н. Жигалова, А.С. Семенова, Я.В. Парфенова

*Атлантический научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
(АтлантНИРО)*

236022, г. Калининград, ул. Дм. Донского, д. 5, Россия, a.s.semenowa@rambler.ru;
hydrobio@atlant.baltnet.ru

Одним из важнейших направлений антропогенной экологии моря является изучение негативных экологических последствий антропогенных воздействий на морские организмы. Известно, что в последние десятилетия уровень загрязнения Балтики веществами с токсическими и мутагенными свойствами значительно возрос, что оказывает все большее отрицательное влияние как непосредственно на состояние обитателей пелагиали, так и опосредованно через ухудшение условий среды обитания (Куликов, 1990; Негативные экологические последствия..., 2005). Одним из проявлений отрицательного воздействия систематического антропогенного загрязнения вод стало широкое распространение патологических изменений у морских организмов (Израэль, Цыбань, 1989). К числу этих изменений относят и опухолеподобные выросты на различных участках тела копепод, предположительно считающиеся либо неоплазмами (Силина, Худолей, 1993; Щука, 2002), либо простейшими паразитами р. *Ellobiopsis* (Bridgeman at all, 2000; Щука, 2002; Коновалова, 2007). По внешнему виду и характеру прикрепления к телу рачка, наросты имеют различия, что может свидетельствовать о разной природе их происхождения. Прозрачные наросты грушевидной, овальной или цилиндрической формы с шиповидно-корневидным отростком внедренным в тело хозяина, вероятно, относятся к паразитическим простейшим эллобиопсидам. Опухолеподобные аномалии без видимого стилетоподобного отростка цилиндрической или шаровидной формы с плотным содержимым скорее неоплазмы, которые по некоторым данным (Omair at all, 2001), представляют собой продолжение жизненных, но уже некротических тканей организма. Локализация выростов на теле рачков самая разнообразная, но чаще всего наблюдалось появление их на экзоскелете в трещинах между торакальными сегментами. Эти неоплазмы, по мнению (Силина, Худолей, 1993; Harshbarger, 1997; Щука, 2002), могут образовываться в результате воздействия канцерогенных химических веществ, онкогенных вирусов, солнечной радиации и других причин. Следует отметить, что аномалии по-разному реагируют на прижизненную окраску организмов. Выросты, предположительно являющиеся эллобиопсидами, обычно окрашиваются, как и все живые организмы. Некротические наросты остаются неокрашенными как все мертвые особи.

Рачки с опухолеподобными аномалиями, как правило, отстают в росте от одновозрастных особей и зачастую имеют искривленный карапакс. Но патогенез этих аномалий остается не выясненным. В Балтике появление особей с подобными наростами отмечалось с середины восьмидесятых годов, а в конце девяностых они регистрировались уже у всех видов копепод (Силина, Худолей, 1993; Щука, 2002). В 1998-2000гг. опухолеподобные аномалии у всех массовых видов копепод были широко распространены во всех обследованных подрайонах моря (восточная часть Финского залива, открытая часть Балтики и пролив Скагеррак) (Щука, 2002). Нами был проведен анализ состояния популяций копепод с целью установления видового состава и распределения особей с опухолеподобными аномалиями в юго-восточном районе (26 подрайон по классификации IKES) и Куршском заливе Балтийского моря.

В юго-восточной части Балтики материал собран по стандартной сетке станций в период сезонных съемок в марте, мае-июне, августе и октябре 2007г. (рис. 1). Сбор сетных проб осуществлялся из слоя 0-100м или 0-дно. Использовалось стандартное орудие лова - сеть БСД (большая сеть Джеди) с диаметром входного отверстия 37см из газа №68 (около 76 мкм). Объем материала составил 98 проб. Обработка проводилась в камере Богорова в соответствии с методикой

принятой HELCOM (1988) (HELCOM: Guidelines, 1988). Предварительно объем пробы доводился до 100мл, из которых штемпель-пипеткой Гензена отбирался для обработки 1 или 0,5мл в зависимости от концентрации организмов в пробе. Полученные величины численности организмов пересчитывались на весь объем пробы, а затем на м³.

Материал по зоопланктону Куршского залива собран в вегетационный период 2007г. с апреля по ноябрь на 6 стандартных станциях с 3х горизонтов (0,5; 1,5 и 3м). Использовался шестилитровый батометр Ван-Дорна, с последующим процеживанием содержимого через газ № 68. Фиксация проб производилась 4% формалином нейтрализованным сахарозой (Haney, Hall, 1973). Для определения живой и мертвой фракций зоопланктона пробы окрашивались 2 различными методами с использованием нейтрального красного и анилинового голубого красителей (Crippen, Perrier, 1974; Seepersad, Crippen, 1978; Дубовская и др., 1999; Dubovskaya et al., 2003). Объем материала составил 180 проб. Обработка проб и расчет численности и биомассы зоопланктона осуществлялись по стандартной методике (Методические..., 1984)

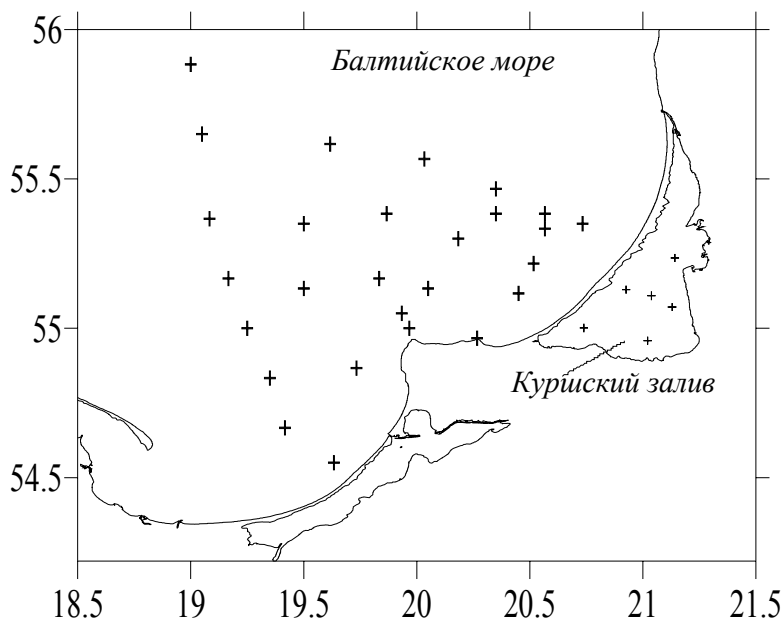


Рис. 1. Схема расположения зоопланктонных станций в юго-восточной части Балтийского моря и Куршском заливе.

Как показали проведенные исследования, распространение аномальных форм копепоид в юго-восточной части собственно Балтики и Куршском заливе Балтийского моря в 2007г. было повсеместным и всесезонным. Предположительно, подавляющее большинство наростов на копепоидтах и половозрелых рачках представляли собой прикрепленных экзопаразитов, являющихся (по предположению Бриджмена) представителями р. *Ellobiopsis*. Большинство таких особей и их паразитов были живыми. Новообразования на науплиальных стадиях копепоид, скорее всего, являлись неоплазмами из некротической ткани хозяина. Пораженными оказались все виды копепоид, из которых наиболее уязвимыми в море были представители р. *Acartia*, а в заливе - виды *E.graciloides*, *M. leuckarti* и *A.viridis* (главным образом их науплии) являвшиеся круглогодично самыми многочисленными представителями веслоногих ракообразных в зоопланктоне районов наблюдений. Наибольший процент аномальных особей в популяциях рассмотренных видов отмечен в холодный период года, когда рачки ослаблены и, возможно, легче подвергаются заражению паразитическими простейшими.

Межсезонная динамика изменений соотношения дефектных особей отдельных популяций в общей массе аномальных копепоид близка к соотношению численности этих видов в зоопланктоне. В зимний сезон в Балтийском море максимальные концентрации рачков с наростами были отмечены в зоне больших глубин Гданьской впадины и северной части полигона. Относительное содержание аномальных особей в этот период составило 9,6% от суммарной численности зоопланктона при диапазоне колебаний от 3,2% до 36,3%. Весной копепоиды с опухолеподобными аномалиями в массе присутствовали в планктоне, главным образом, на мелководных южных участках района и на северо-востоке. В среднем доля их составила 1,3% (0,2 – 3,4%). Летом концентрации аномальных форм резко снизились и составили в среднем лишь 0,5% от общего количества зоопланктона (0 – 4,6%).

Максимальные скопления дефектных рачков встречены на северо-востоке, северо-западе и юге полигона. Те же зоны сравнительно больших концентраций аномальных форм отмечены и в осенний сезон. Площади их несколько сократились, но часть в общем обилии составила 3,5% (0,4 – 16,3%).

Относительная численность аномальных рачков в Куршском заливе возрастала с апреля по ноябрь, когда был отмечен наибольший процент особей с опухолеподобными наростами (рис. 2).

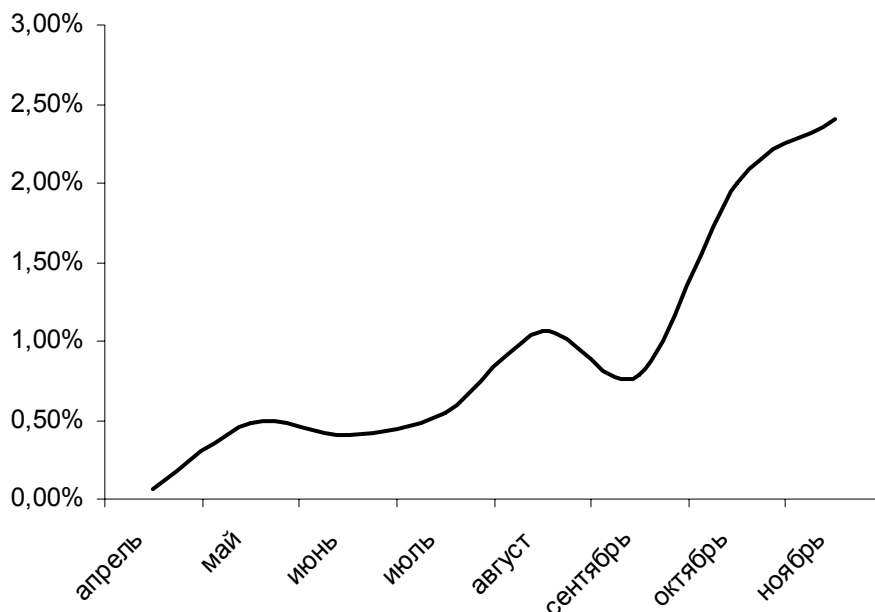


Рис. 2. Сезонная динамика относительной численности копепод с опухолеподобными наростами в зоопланктоне Куршского залива в 2007 г.

Доля аномальных копепод в водах юго-восточной Балтики составила в 2007 г. 4,0% (при диапазоне 0-36,3%) от среднегодовой численности всего зоопланктона, в Куршском заливе - 1% (при диапазоне 0-9,5%) от среднесезонной численности за вегетационный период. Отсутствие данных по состоянию зоопланктона зимой значительно снизило относительную величину зараженности рачков в заливе.

Доля мертвых особей среди аномальных рачков вдвое выше показателя смертности для копепод осредненного за вегетационный период, что можно считать результатом негативного воздействия неоплазм и экзопаразитов на жизнеспособность рачков. Массовое распространение дефектных особей может значительно повысить общую смертность копепод.

Максимальная относительная численность копепод с опухолеподобными наростами отмечена повсеместно в теплый период года. По данным Г.В. Коноваловой (Коновалова, 2007) в Японском море паразитирующие эллобиопсиды были обнаружены именно в летний сезон. Зоны повышенных концентраций аномальных рачков на морском участке наблюдений совпадали с районами максимальных концентраций всего зоопланктона только в зимний период. Приурочены они были к водам больших глубин. Но следствием губительного действия сероводорода это, очевидно, быть не может, поскольку зимой 2007 г. в районе исследований сероводородных зон зафиксировано не было. В теплое время года локализация аномальных особей отличалась от распределения общего обилия зоопланктона. Весной, в период максимального количественного развития планктонной фауны, наибольшие концентрации аномальных форм отмечены в мелководной прибрежной зоне районов исследования. В летний и осенний сезоны высокие относительные величины численности дефектных организмов наблюдались на различных участках акваторий. Визуально они располагались по периферии зон массового развития зоопланктона. Наиболее постоянным местом значительных скоплений аномальных организмов на морском участке была зона к северо-востоку от м.Таран. В Куршском заливе наибольшая за вегетационный период доля копепод с опухолеподобными аномалиями наблюдалась в поверхностном горизонте (рис. 3), аналогичное распределение дефектных рачков отмечалось для Финского залива (Щука, 2002).

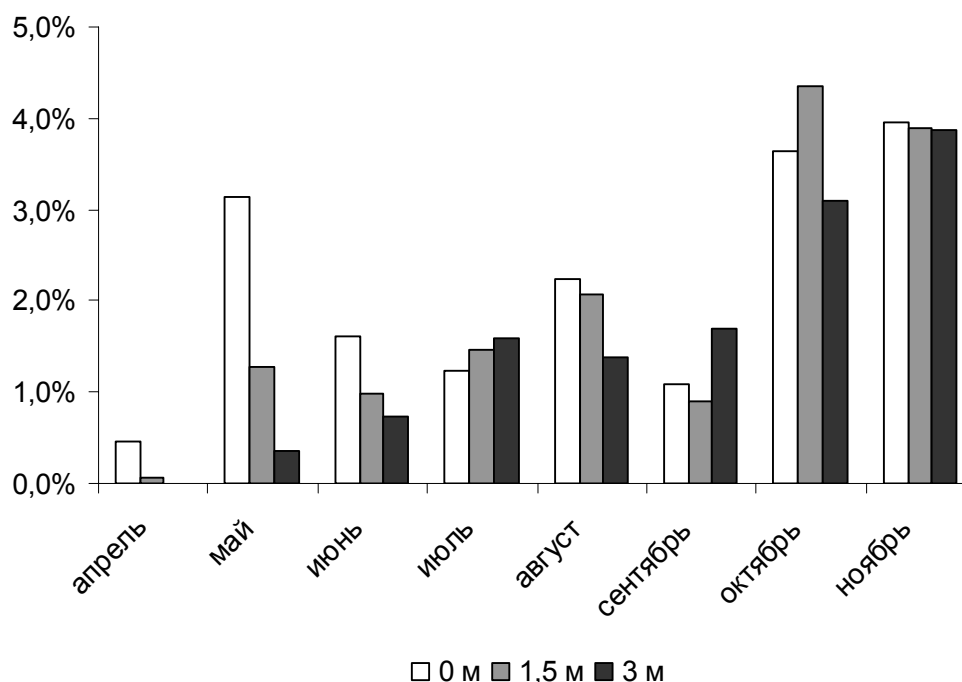


Рис. 3. Доля (%) копепод с опухолеподобными наростами на горизонтах отбора проб.

Существует значительное количество вероятных причин возникновения аномалий в виде опухолеподобных наростов на различных частях тела зоопланктонных организмов и, в частности, на копеподах (Мих, 1986; Израэль, Цыбань, 1989; Худолей, Боговский, 1993; Harshbarger, 1997). Наиболее распространенными считаются гипертрофирование и химическое загрязнение вод.

Гипертрофирование, сопровождающееся интенсификацией развития планктонной флоры бассейна, ведет к увеличению, в том числе, и доли водорослей, чьи токсины способны индуцировать рост опухолей (Негативные экологические последствия..., 2005). Именно такой процесс отмечается в последнее десятилетие, особенно в теплые годы, в Куршском заливе. Наиболее интенсивно развиваются представители отд. *Synophyta*, определяющего высокий общий уровень развития фитопланктона, особенно токсических его представителей (Дмитриева, 2007).

Среди многих химических загрязняющих веществ наибольшую потенциальную угрозу несут полихлорированные бифенилы (ПХБ), обладающие токсическими и канцерогенными свойствами. Исследования проведенные летом 1998 г. и зимой 2000 г. показали, что максимальные концентрации ПХБ в теплый период года имели место в юго-восточной части Балтики, в холодный - непосредственно в водах восточной части Гданьского залива (м.Таран) (Негативные экологические последствия..., 2005). Хотя ни одно из исследований не позволило точно определить патогенез выростов, очевидно, не стоит исключать вероятность возникновения очагов больших скоплений копепод с опухолеподобными аномалиями именно в этой зоне как результат воздействия опасных природных загрязняющих веществ ПХБ.

Мониторинг распределения и динамики количественных характеристик патобиологических форм зоопланктона может служить оперативным методом индикации загрязненных вод и выявления районов химического загрязнения водной среды.

Список литературы

- Дмитриева О.А. Потенциально токсичные виды фитопланктона российской части Куршского и Вислинского заливов Балтийского моря.// Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса». Вып.5. Калининград, 2007. С. 102-117.
- Дубовская О.П., Гладышев М.И., Губанов В.Г. Сезонная динамика численности живых и мертвых особей зоопланктона в небольшом пруду и некоторые варианты оценки смертности.// Журнал общей биологии. 1999. Т.60, №5. С. 543-555.
- Израэль Ю.А., Цыбань А.В. Антропогенная экология океана/ Л.: Гидрометеиздат. 1989. 528с.
- Коновалова Г.В. Паразитические перидинеи (Dinoflagellates) и эллобиопсиды (Ellobiopsidae) прибрежных вод Японского моря // Биология моря. 2007. Т.33. №3. С.167-175.

- Куликов А.С. Содержание мертвых копепоид в планктоне открытых районов Балтийского моря в мае-июле 1987г.// Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып.3 / под ред. А.В.Цыбань. Л.: Гидрометеиздат. 1990. С. 128-135.
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л.: ГосНИОРХ, 1984. 33 с.
- Негативные экологические последствия антропогенного воздействия// Исследование экосистемы Балтийского моря / под ред. Ю.А.Израэля и А.В.Цыбань. С-Пб.: Гидрометеиздат 2005. С. 236-267.
- Силина Н.И., Худолей В.В. Опухолеподобные аномалии у планктонных веслоногих // Гидробиол. жур. 1993. Т.23. №3. С.96-99.
- Худолей В.В., Боговский С.П. Опухоли гидробионтов и мониторинг канцерогенных загрязнений водной среды // Успехи современной биологии. 1993. Вып.3. С.466-572.
- Щука Т.А. Характеристика современного состояния зоопланктона Балтийского моря. Автореф. диссертации на соискание учен. степени канд. биол. наук. М.2002. 28с.
- Bridgeman T.V., Messick G., Vanderploeg H.A. Sudden appearance of cysts and ellobiopsid parasites on zooplankton in a Michigan lake: a potential explanation of tumor-like anomalies // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2000. Vol.57. P.1539-1544.
- Crippen R.W., Perrier J. L. The use of Neutral Red and Evans Blue for Live / Dead determination of marine plankton. // Stain Tech., 1974. V. 49, №2. P. 97-104.
- Dubovskaya O.P., Gladyshev M.I., Gubanov V.G., Makhutova O.N. Study of non-consumptive mortality of Crustacean zooplankton in a Siberian reservoir using staining for live/dead sorting and sediment traps // Hydrobiologia. 2003. 504. P. 223-227.
- Haney J.F., Hall D.J. Sugar-coated Daphnia.: Apreservation technique for Cladocera.// Limnol. and Oceanog. 1973. Vol.18, No 2. P.331-333.
- Harshbarger J.C. Invertebrate and cold-blooded vertebrate oncology. In : Spontaneous animal tumors: a survey / Edited by L.Rossi, R.Richardson, J.Harshbarger. Milano: Press Point di Abbiategrosso. 1997. P.41-53.
- HELCOM: Guidelines for the Baltic Sea Monitoring Program for the Third Stage. Part D. Biological Determinants. Baltic Sea Environ. Proc. № 27. 1988. 161 p.
- Mix M. Concerns diseases in aquatic animals and their association with environmental pollutants: A critical literature review // Mar. Environ. Res. 1986. Vol.20. №1-2. P.1-141.
- Omair M., Naylor B., Jude D.J. et al. Histology of herniations through the body wall and cuticle of zooplankton from the Laurentian Great Lakes // J. Invertebrate Pathology. 2001. Vol.77. №2. P.108-113.
- Seepersad B., Crippen R.W. Use of aniline blue for distinguishing between live and dead freshwater zooplankton.// J. Fish. Res. Board Canada. 1978. V.35., № 10. P. 1363-1366.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МОЛОДИ ПЛОТВЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *RUTILUS RUTILUS* L.

Е.А. Заботкина, Т.Б. Лапирова, Г.М. Чуйко

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

1527642 Ярославская обл., Некоузский р-н пос. Борок, Россия, zabel@ibiw.yaroslavl.ru

Загрязнение природной среды стойкими органическими загрязнителями (СОЗ), в том числе полихлорированными бифенилами (ПХБ) и хлорорганическими пестицидами (ХОП) – одна из важнейших проблем современности. Не подвергаясь в течение длительного времени разрушению, эти вещества накапливаются в почве, донных отложениях водоемов и включаются в пищевые цепи экосистем, оказывая, в конечном итоге, влияние на организм человека.

Известно, что ПХБ действуют на организм подобно гормонам, разрушая в результате эндокринную систему и супрессируя иммунологическую резистентность организма (Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология» <http://www.cbio.ru/> по материалам журнала Human Reproduction и News Medical.Net <http://www.news-medical.net/?id=13751> <http://www.eshre.com/>).

Вместе с тем, актуальным является исследование путей поступления в организм и механизмов действия ПХБ на гидробионтов. Показано, что алиментарное воздействие ПХБ на молодь радужной форели в концентрациях, соответствующих таковой в естественных водоемах (Великие озера), уже через 30 сут приводит к появлению в крови их гидроксилированных производных (Buckman et al., 2006). В максимальных количествах ПХБ накапливаются в целой тушке рыбы и кишечнике (Karjalainen et al., 2006). Ароклор усиливает пролиферативные ответы на лектины у атлантического лосося (Ivanovich et al., 2005), но вместе с тем вызывает гибель тимоцитов и угнетение иммунных

функций организма у разных видов рыб (Miller et al., 2002; Sures, Knopf, 2004). Однако механизмы, обеспечивающие устойчивость иммунной системы к действию токсических факторов, в том числе СОЗ, мало исследованы.

Целью данной работы было исследование реакции некоторых иммунофизиологических показателей молоди плотвы обыкновенной *Rutilus rutilus* L. на длительное питание кормами с разной концентрацией ПХБ.

Работу проводили на рыбах в возрасте 1+ массой 20.9 ± 2.7 г и длиной 11.6 ± 0.6 см. В двух 200-литровых аэрируемых аквариумах содержали по 20 особей с ежедневным питанием фаршем, приготовленным из мышц лещей, выловленных в Моложском (контрольная группа рыб) и Шекснинском (опытная группа рыб) плесах Рыбинского водохранилища, отличающихся разным уровнем содержания ПХБ. В начале эксперимента, через 52 и 169 сут. экспозиции отбирали пробы для анализа иммунных комплексов (ИК) и соотношения лейкоцитов во внутренних органах.

Общее содержание ПХБ в корме определяли методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения в лаборатории аналитической экотоксикологии (ИПЭЭ РАН). Содержание этих веществ составило 50.8 нг/г сырой массы в фарше из Шекснинского и 3.7 нг/г сырой массы в фарше из Моложского плеса.

Для исследования иммунных комплексов (ИК) навески тканей внутренних органов (почек, селезенки, печени) помещали в забуференный физиологический раствор. После двукратного замораживания и оттаивания пробы гомогенизировали и центрифугировали в течение 30 мин. при 10 тыс. оборотов. В полученном супернатанте определяли содержание ИК стандартным методом как в сыворотке крови, результаты представлены в условных единицах (Гриневич, Алферов, 1981).

Соотношение лейкоцитов подсчитывали на мазках-отпечатках головной и туловищной почек, селезенки и печени контрольных и опытных рыб и выражали в %. Помимо этого для оценки направления лейкопоза рассчитывали индекс сдвига лейкоцитов как соотношение суммы долей всех типов агранулоцитов и суммы долей всех гранулоцитов: $ИСЛ = \frac{\text{Гранулоциты}}{\text{Агранулоциты}}$ (Житенева и др., 2004).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Excel, результаты представляли в виде средних значений и стандартных ошибок ($\bar{x} \pm SE$). Достоверность различий оценивали по t-тесту Стьюдента при $p \leq 0.05$.

Иммунные комплексы отражают уровень регуляции антигенной нагрузки на организм. Основное внимание им уделяется в клинических исследованиях, особенно в связи с их ролью в аутоиммунных заболеваниях человека. Лишь в последние годы стали появляться работы, посвященные роли ИК в процессах поддержания гомеостаза у животных, однако, они немногочисленны и в основном касаются млекопитающих.

В ткани почек в начале эксперимента (0 сут) ИК не были обнаружены ни у подопытных, ни у контрольных рыб. Далее показатель возрастал в обеих группах, причем в контроле отмечено некоторое превышение уровня ИК по сравнению с рыбами опытной серии, однако, эта разница недостоверна (Рис. 1).

В селезенке процесс развивался в противоположном направлении, а именно, в течение периода наблюдений происходило снижение содержания ИК в органе. У подопытных рыб это снижение было не очень значительным, в то время как у контрольных к концу эксперимента показатель упал до нуля.

В печени тенденция роста уровня ИК сходна с таковой для почек, однако, в отличие от контроля, в опытной группе возрастание показателя было резко выраженным, значения его достоверно отличались как в разные сроки внутри группы, так и от контроля.

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание изменение уровня ИК в контрольной группе рыб. Наиболее чувствительными оказались ткани селезенки, затем почек, и наименьшие колебания показателя выявлены в печени. Данных по влиянию внешних факторов на содержание ИК в тканях в литературе практически нет. Исследованиями на млекопитающих показано, что у коров из зон радиоактивного загрязнения уровень ИК в сыворотке крови был значительно выше, чем у животных из других районов – в 1.9 раз и составил 192.7 у.е. (Шилова, Донник, 2005). Это может свидетельствовать о том, что этот показатель может служить индикатором не только токсического, но и других видов воздействия. Таким образом, сдвиги концентрации ИК в тканях контрольных рыб, скорее всего, отражают изменения в обменных процессах, вызванные длительным пребыванием рыб в искусственных условиях. У рыб опытной группы, получавших загрязненный корм, в почках отмечали незначительный рост показателя, тогда как в селезенке в течение всего эксперимента сохранялся высокий уровень содержания ИК, а в печени этот показатель был максимальным в последний срок отбора.

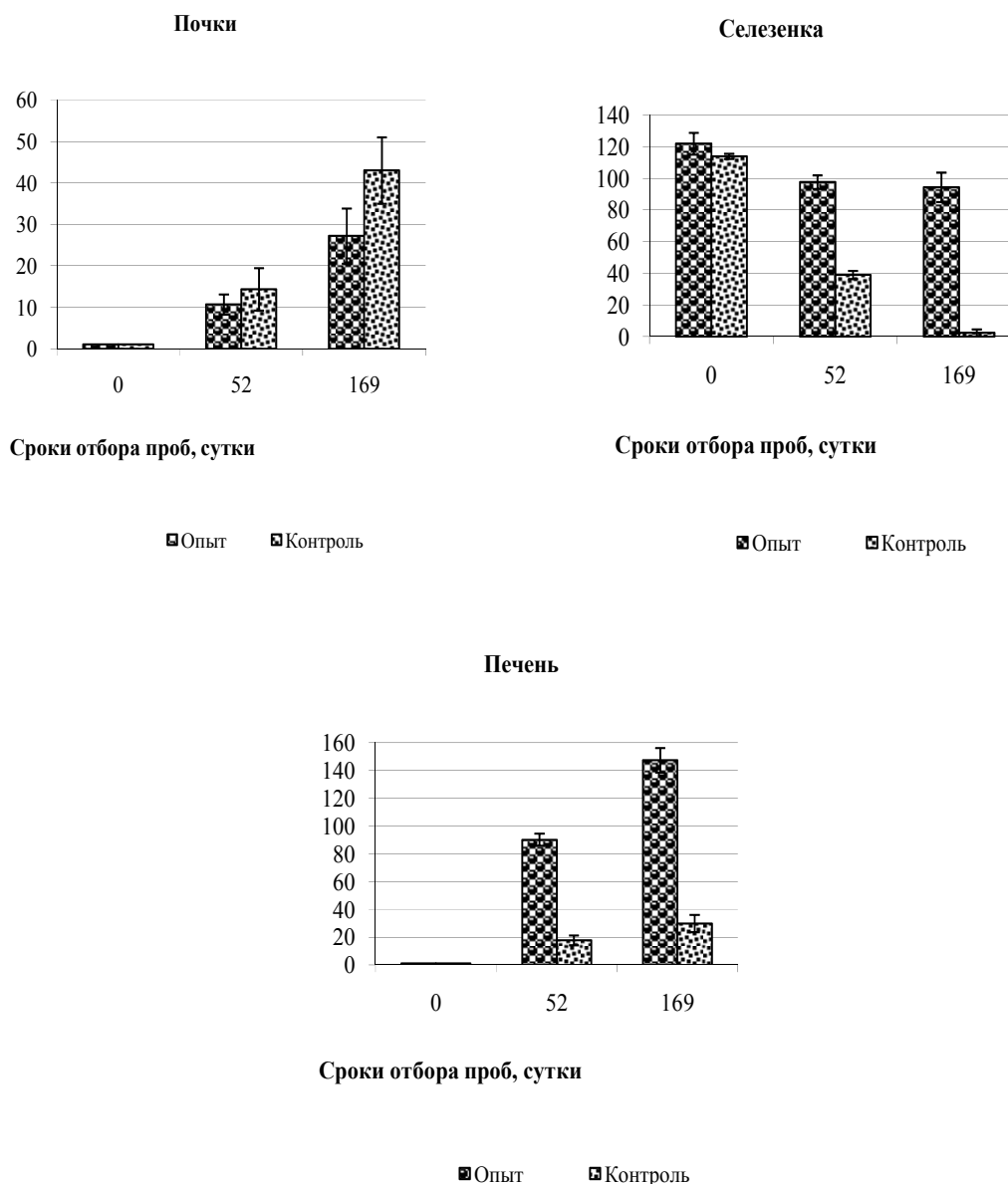


Рис. 1. Содержание иммунных комплексов в тканях внутренних органов, отн. ед.

Установлено, что уровень ЦИК связан с функциональным состоянием фагоцитарной системы. У высших позвоночных большая часть иммунных комплексов быстро удаляется из циркулирующей крови ретикулогистиоцитарной системой, объединяющей различные гетерогенные группы клеток организма, в частности купферовские клетки, которые способны к активному фагоцитозу. Комплексы небольшого размера или не способные связывать комплемент, в определенной степени удаляются селезенкой или фиксируются в почечных клубочках, стенках кровеносных сосудов или сосудистых сплетениях (Логинов, 1999). Таким образом, наши данные свидетельствуют о сходстве основных механизмов регуляции антигенного состава у рыб и млекопитающих. Высокий уровень содержания ИК в печени и селезенке подопытных рыб подтверждает приоритетное значение этих органов в процессах элиминации чужеродного материала, как это показано и для теплокровных. Наиболее выраженная реакция печени может объясняться также тем, что в ней происходит концентрация токсических веществ. Так, в опыте с налимом было показано, что при кормлении рыб кормом, содержащим ПХБ, максимальные концентрации токсиканта были выявлены в печени (Pääkkönen et al, 2005).

Таблица 1. Динамика содержания лейкоцитов во внутренних органах плотвы при питании ее кормами разного качества, %

Тип клеток Сроки отбора, сут	Лимфоциты	Макрофаги	Плазматические клетки	Гемоцитобласты	Миелоциты	Метамиелоциты	Нейтрофилы		Эозинофилы
							ПЯН	СЯН	
	Головная почка								
0	31.64±0.92	6.33±0.45	3.48±0.40	5.07±0.47	5.70±1.28	12.32±1.81	29.75±0.68	2.22±0.85	1.60±1.50
52	<u>26.67±1.27*</u>	<u>8.57±0.58</u>	<u>4.76±0.61</u>	<u>19.05±1.90*</u>	<u>8.25±1.01*</u>	<u>10.17±1.75</u>	<u>20.97±2.05*</u>	<u>1.57±2.10</u>	<u>0</u>
	31.95±0.79	5.70±1.28	3.16±0.39	6.64±1.25	6.00±0.98	12.03±0.40	29.79±3.04	1.57±1.05	1,27±0,43
169	<u>26.67±0.94*</u>	<u>3.52±0.39*</u>	<u>2.25±0.44*</u>	<u>2.55±1.05*</u>	<u>4.45±1.66</u>	<u>28.54±1.89</u>	<u>29.86±1.89</u>	<u>0</u>	<u>0.73±0.48</u>
	33.14±1.81	7.29±1.61	4.40±0.77	4.42±0.83	5.02±1.59	12.92±0.94	29.04±0.84	1.23±1.65	0.63±0.42
	Туловищная почка								
0	25.98±1.79	6.17±0.88	2.27±0.43	10.71±0.63	7.47±0.45	21.43±1.34	23.37±0.60	1.29±1.08	1.30±0.43
52	<u>26.46±0.33*</u>	<u>17.55±3.52*</u>	<u>4.45±0.81*</u>	<u>19.73±1.62*</u>	<u>7.96±0.46</u>	<u>8.27±1.67*</u>	<u>14.96±1.64*</u>	<u>0.31±0.42</u>	<u>0.32±0.43*</u>
	31.95±0.79	8.05±1.44	2.89±0.62	8.71±0.73	6.00±0.98	20.33±1.33	22.57±0.82	0.65±0.43	2.59±0.45
169	<u>21.41±1.99</u>	<u>4.07±0.49*</u>	<u>5.09±0.97</u>	<u>15.35±2.91*</u>	<u>6.36±0.99</u>	<u>29.12±0.91*</u>	<u>17.87±1.09*</u>	<u>0</u>	<u>0.73±0.48</u>
	25.99±1.75	7.07±1.22	3.52±0.37	9.59±1.11	9.26±1.92	20.21±1.01	22.75±0.42	0.96±0.02	0.63±0.42
	Селезенка								
0	76.49±1.67	5.95±0.64	0	1.65±0.44	0.66±0.44	3.97±1.35	9.95±1.40	0.67±0.44	0.65±0.87
52	<u>67.12±1.26</u>	<u>9.96±0.64*</u>	<u>0.66±0.44</u>	<u>2.32±0.43</u>	<u>2.99±0.66</u>	<u>5.32±0.91</u>	<u>11.63±0.42*</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
	73.84±1.89	4.95±1.27	0	2.33±0.90	1.99±1.34	8.63±2.25	7.28±0.85	0.33±0.44	0.65±0.87
169	<u>81.00±0.67*</u>	<u>4.67±1.56</u>	<u>0</u>	<u>1.67±0.44*</u>	<u>2.33±0.44</u>	<u>8.67±1.11</u>	<u>1.67±0.44*</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
	74.29±1.81	8.13±1.83	0	3.04±0.06	2.04±0.72	6.71±2.39	4.75±1.00	1.04±1.39	0
	Печень								
0	82.33±2.22	4.33±0.89	0	0	0	2.67±0.89	10.33±0.44	0.33±0.44	0
52	<u>74.00±0.67*</u>	<u>15.67±2.89*</u>	<u>0</u>	<u>1.33±0.44</u>	<u>1.00±1.33</u>	<u>3.67±0.44</u>	<u>4.33±0.89*</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
	82.33±1.78	6.00±0.67	0	0	0	1.00±1.33	9.33±0.44	1.00±0.67	0.33±0.44
169	<u>72.00±2.00*</u>	<u>12.67±3.78*</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0.33±0.44</u>	<u>11.00±0.67*</u>	<u>3.67±1.78*</u>	<u>0</u>	<u>0.33±0.44</u>
	82.67±3.56	4.67±1.78	0	0	0	2.67±1.78	9.33±1.44	0.67±0.89	0

Примечание: над чертой – опыт, под чертой – контроль. * указаны результаты, достоверно отличающиеся от контроля.

Отличающийся ход кривых содержания ИК в органах у подопытных и контрольных рыб свидетельствует о различной природе образующихся комплексов и, соответственно, разных местах их выведения. В то же время можно предполагать, что при длительном содержании в аквариальных условиях, образуется также некоторое количество ИК, нейтрализация которых происходит в почках.

Анализ лейкоцитарной формулы показал изменения лейкопоза во всех исследованных органах, но направление этих изменений отличалось в почках, селезенке и печени (Табл. 1). Головная и туловищная почки имели сходную тенденцию в динамике изменения соотношения лейкоцитов: относительное количество лимфоцитов и макрофагов снижалось, а метамиелоцитов повышалось. Вместе с тем, бластные клетки в этих органах по-разному отреагировали на действие ПХБ: в головной почке их доля на 52 сутки эксперимента двукратно превысила, а на 169 сут. - стала в 2 раза ниже, тогда как в туловищной - в оба срока была в 2-2.5 раза выше уровня контроля.

В селезенке доля лимфоцитов достоверно превышала контроль к концу эксперимента, а макрофагов сначала превышала контроль, а затем стала ниже контрольного уровня. Подобно макрофагам изменялась и доля палочкоядерных нейтрофилов. В печени доля лимфоцитов в опытной серии рыб была ниже, а макрофагов - выше контрольного уровня в оба срока отбора проб. Относительное количество метамиелоцитов повысилось к концу эксперимента, тогда как ПЯН – снизилось. Выявленные изменения отражают как особенности гемопоэза в данных органах, так и характер влияния ПХБ на него. Данные токсиканты вызвали изменения в соотношении большинства типов лейкоцитов. По-видимому, ПХБ стимулируют дифференцировку и созревание бластных форм клеток по соответствующим росткам кроветворения.

Таблица 2. Динамика ИСЛ в иммунокомпетентных органах плотвы

Орган	Контроль (0 сут)	Опыт	
		52 сут	169 сут
Головная почка	1,20±0,10	1,03±0,05	1,90±0,13*
Туловищная почка	1,53±0,09	0,66±0,08*	1,77±0,05*
Селезенка	0,37±0,15	0,26±0	0,15±0,02*
Печень	0,08±0,04	0,10±0,02	0,18±0,03*

Примечание: * обозначены данные, достоверно отличающиеся от контроля.

Снижением в почках числа фагоцитирующих клеток (макрофагов и нейтрофилов), ответственных за уничтожение ИК, можно объяснить возрастание числа ИК в органе к концу эксперимента. В селезенке во второй срок содержание этих типов клеток у подопытных рыб достоверно выросло, параллельно уровень ИК снизился и остался практически неизменным до конца опыта, не смотря на снижение доли фагоцитов. Увеличение числа ИК в печени происходит на фоне достоверного роста доли макрофагов. Одновременное снижение процентного содержания ПЯН в органе позволяет предположить ведущую роль этих клеток в разрушении ИК.

Анализ ИСЛ показал, что в головной почке данный показатель сначала несколько снизился, а затем достоверно возрос к концу эксперимента. В туловищной – после резкого снижения в 2.5 раза через 52 сут, к концу эксперимента немного превысил контроль. В селезенке он плавно снижался в течение всего опыта, а в печени – повышался (Табл. 2). Данный показатель свидетельствует об отклонении гематологических параметров и реакции организма на неблагоприятное воздействие.

Таким образом, полученные результаты показывают, что потребляемые с кормом ПХБ вызывают усиление образования иммунных комплексов, накопление и элиминация которых осуществляется в селезенке и, в еще большей степени, в печени. Это подтверждается нашими данными о сдвиге гемопоэза в сторону усиления производства фагоцитирующих клеток в этих органах. Вместе с тем, вероятно, имеет место гибель части фагоцитов под действием токсиканта, о чем свидетельствует снижение их относительного количества к концу эксперимента, не смотря на достоверно повышенные доли малодифференцированных (бластных) клеток. Все вышесказанное говорит об иммунотоксическом действии ПХБ для рыб.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №08-05-00805.

Список литературы

- Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных//Лабораторное дело. 1981. № 8. С. 493-496.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-на-Дону: Эверест, 2004. 312 с.
- Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. РАСХН. Сиб. Отд-ние. ИЭВСиДВ.:Новосибирск, 1999. 144 с.

Шилова Е.Н., Донник И.М. Иммунологическая адаптация организма животных в условиях неблагоприятной радиозоологической обстановки// Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: материалы Международ. науч. конф./Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2005. С. 276-277.

Buckman A.H., Wong Ch.S., Chow E.A., Brown S.B., Solomon K.R., Fisk A.T. Biotransformation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and bioformation of hydroxylated PCBs in fish // Aquat. Toxicol. 2006. V. 78, № 2. P. 176-185.

Iwanowicz L.R., Lerner D.T., Blazer V.S., McCormick S.D. Aqueous exposure to Aroclor 1254 modulates the mitogenic response of Atlantic salmon anterior kidney T-cells: Indications of short- and long-term immunomodulation // Aquat. Toxicol. 2005. V. 72, № 4. P. 305—314.

Karjalainen A., Pääkkönen J.J., Karjalainen J. Tissue-specific and whole-fish accumulation of polychlorinated biphenyls by juvenile Baltic salmon (*Salmo salar* L.) after oral gavage exposure // Boreal Environ. Res. - 2006. V. 11, № 6. P. 421—430.

Miller G.G., Sweet L.I., Adams J. V., Omann G.M., Passino-Reader D.R., Meier P.G. In vitro toxicity and interactions of environmental contaminants (Aroclor 1254 and mercury) and immunomodulatory agents (lipopolysaccharide and cortisol) on thymocytes from lake trout (*Salvelinus namaycush*)//Fish & Shellfish Immunology. 2002. V. 13. P. 11–26.

Pääkkönen J.-P.J., Rantalainen A.-L., Karels A., Nikkilä A., Karjalainen J. Bioaccumulation of PCBs in burbot (*Lota lota* L.) after delivery in natural food// Arch. Environ. Contam. and Toxicol. 2005. V. 49. № 2. C. 223—231.

Sures B., Knopf K. Individual and combined effects of cadmium and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) on the humoral immune response in european eel (*Anguilla anguilla*) experimentally infected with larvae of *Anguicollia crassus* (Nematoda)//Parasitology. 2004/ V. 128. № 4. P. 445-454.

ИОНООБМЕННЫЕ И БУФЕРНЫЕ ПРОЦЕССЫ У РЫБ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИЗМЕНЕНИЮ pH СРЕДЫ

Р.А. Запруднова, И.М. Камшилов

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

152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок, Россия, rimma@ibiw.yaroslavl.ru

В последнее время все большее значение приобретает проблема антропогенного влияния на кислотность пресных водоемов. В связи с этим проводятся интенсивные исследования механизмов адаптации гидробионтов к низким и высоким pH воды. При этом основное повреждающее действие на организм рыб низких и высоких pH воды главным образом связывается с нарушениями в жаберном эпителии, в том числе обмене ионов натрия между организмом и водой (Виноградов, 2000; Матей, 1996; Evans et. al., 2005; Fromm, 1980; Gonzalez, Wilson, 2001; Hirata et al., 2003; Wilson, 2002). Установлено, что устойчивость к низким (и высоким) pH воды связана прямой зависимостью с устойчивостью процессов обмена натрия через жабры, стабильностью проницаемости жабр для ионов в широком диапазоне изменений pH и обратной зависимостью – с чувствительностью систем ионной и кислотно-щелочной регуляции к закислению (защелачиванию) среды. Например, у окуня (*Perca fluviatilis*) и дальневосточной красноперки (*Tribolodon hakonensis*), устойчивых к низким pH, угнетение активного транспорта ионов натрия из воды и большое увеличение диффузии этих ионов происходило лишь при значениях pH, близких к 3. У рыб, обладающих умеренной устойчивостью к закислению (карповые *Cyprinidae*, корюшковые *Osmeridae*, цихловые *Cichlidae*) нарушения в ионном обмене через жабры наблюдалось в диапазоне pH, близком к 4. У рыб, слабоустойчивых к закислению, ингибирование активного транспорта ионов натрия из воды происходило при pH 5-6. Исследования на молекулярном и генетическом уровнях рыб, устойчивых к низким pH, также позволили заключить, что главную роль в предохранении от потерь ионов натрия и закисления крови играет компенсаторная система в хлоридных клетках (Evans et. al., 2005). Кроме того установлено, что у рыб устойчивых к защелачиванию воды (например, радужной форели *Salmo gairdneri*) при pH 9.5 практически не наблюдали нарушений в обмене ионов натрия через жабры (напротив, возможно усиление активного транспорта), а у неустойчивых (например, у окуня) в этих же условиях значительно увеличивались потери ионов натрия в воду. Плотва (*Rutilus rutilus*) со средней устойчивостью к защелачиванию воды, занимала промежуточное положение между указанными видами рыб и по характеру ионообменных процессов в жабрах (Wilson, 2002).

Исследование ионообменных, буферных процессов внутри организма рыб при изменении pH среды представляет не меньшую значимость, чем изучение механизмов защиты на уровне жабр от повреждающего действия низких и высоких pH воды. В настоящей работе у рыб с различной

устойчивостью к закислению и защелачиванию воды изучали состояние буферных систем по функциональным свойствам гемоглобина (сродство к кислороду, эффект Бора) и ионному окружению (концентрация натрия в эритроцитах).

Исследовали представителей 6 видов рыб Рыбинского водохранилища: щуку (*Esox lucius*), окуня (*Perca fluviatilis*), леща (*Abramis brama*), плотву (*Rutilus rutilus*), карася серебряного (*Carassius auratus*), линя (*Tinca tinca*). Щука и окунь наиболее устойчивы к закислению воды: в кислых озерах они встречаются при pH 3.5. Лещ, плотва, карась, линь в природной среде обитают при pH выше 4.2-4.4. Однако плотва считается более кислотоустойчивой среди них, а карась и линь относятся к устойчивым к защелачиванию воды: способны выдерживать pH выше 10 (Виноградов, 2000; Токсикозы рыб., 2006; European Inland., 1968 и др.). Сбор проб эритроцитов, их обработка и анализ концентрации ионов натрия и функциональных свойств гемоглобина (сродство к кислороду, эффект Бора) описаны ранее (Запруднова, Камшилов, 2008). Рыб исследовали сразу после кратковременного отлова неводом в летний период года, преобладающая часть особей была половозрелой. Результаты обрабатывались статистически, достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при $p < 0.05$.

Исследуемые виды рыб по мере повышения сродства гемоглобина к кислороду при концентрации буферного раствора 0.005М и 0.05М и pH 7.2 и 6.6 располагались в следующем порядке (тире – здесь и далее различия статистически достоверны): щука, окунь – плотва, лещ – карась, линь. При 0.05М и pH 6.6 у первых четырех видов наблюдали нарушение процессов оксигенации гемоглобина. Гемоглобин насыщался кислородом воздуха у щуки и окуня, соответственно, на 28.7 и 37,2%, а у плотвы и леща, соответственно, на 77.5 и 91.3% (рис. а). При 0.005М и pH 7.2 буферного раствора у карася и линя отмечено нарушение дезоксигенации на 5-6%.

По степени снижения величины эффекта Бора при 0.05М буферного раствора рыбы располагались в следующем порядке: щука, окунь – плотва, линь – карась, лещ (рис. б).

По мере снижения концентрации натрия в эритроцитах рыбы располагались в следующем порядке: щука, окунь – плотва – лещ – карась, линь (рис. в).

Ранее показаны совпадающие или близкие к представленным в настоящей работе концентрации натрия в эритроцитах и величины полунасыщения оксигемоглобина кислородом и эффекта Бора для леща, плотвы, щуки, окуня, карася и линя. Кроме того, у карася при pH 7.2 и 0.005М буферного раствора возможны нарушения дезоксигенации гемоглобина до 18%. (Лукияненко и др., 2000; Мартемьянов, Запруднова, 1982 и др.).

Рыбы по исследуемым характеристикам разделяются на три группы. 1) щука и окунь. Устойчивы к закислению. Максимальные эффект Бора и концентрация натрия в эритроцитах, но минимальное сродство гемоглобина к кислороду, большие нарушения оксигенации. 2) карась, линь. Устойчивы к защелачиванию. Максимальное сродство гемоглобина к кислороду (возможны нарушения процесса дезоксигенации), минимальная концентрация натрия в эритроцитах и средней величины эффект Бора. 3) лещ, плотва. К этой группе, вероятно, принадлежит основная часть пресноводных рыб, которые не обладают высокой устойчивостью ни к закислению, ни к защелачиванию воды. Для них характерны средние концентрации натрия в эритроцитах и средние величины сродства гемоглобина к кислороду (с возможными небольшими нарушениями оксигенации). Однако в пределах этой группы рыбы могут заметно различаться по кислотоустойчивости и, как следствие, по величине эффекта Бора, концентрации натрия в эритроцитах, величине нарушения оксигенации гемоглобина в кислом буферном растворе. Такие различия отмечены между плотвой и лещом.

Результаты проведенных исследований дают представление о работе двух буферных систем: 1) Na^+/H^+ обмене через мембрану эритроцитов; 2) гемоглобиновой буферной системе, т.е. способности восстановленного гемоглобина связывать ионы водорода. Наиболее интенсивным обменом ионов натрия на протоны через мембрану красных кровяных клеток, и, следовательно, наибольшей способностью к защелачиванию внутриэритроцитарной среды, обладали щука и окунь, т.е. виды, наиболее устойчивые к закислению воды. У рыб, наиболее устойчивых к защелачиванию воды (карась, линь) противодействие закислению внутриэритроцитарной среды за счет Na^+/H^+ обмена в красных кровяных клетках наименьшее. У плотвы и леща, не обладающих высокой устойчивостью ни к закислению, ни к защелачиванию воды, средней интенсивности обмен Na^+/H^+ в эритроцитах в сравнении с вышеописанными видами.

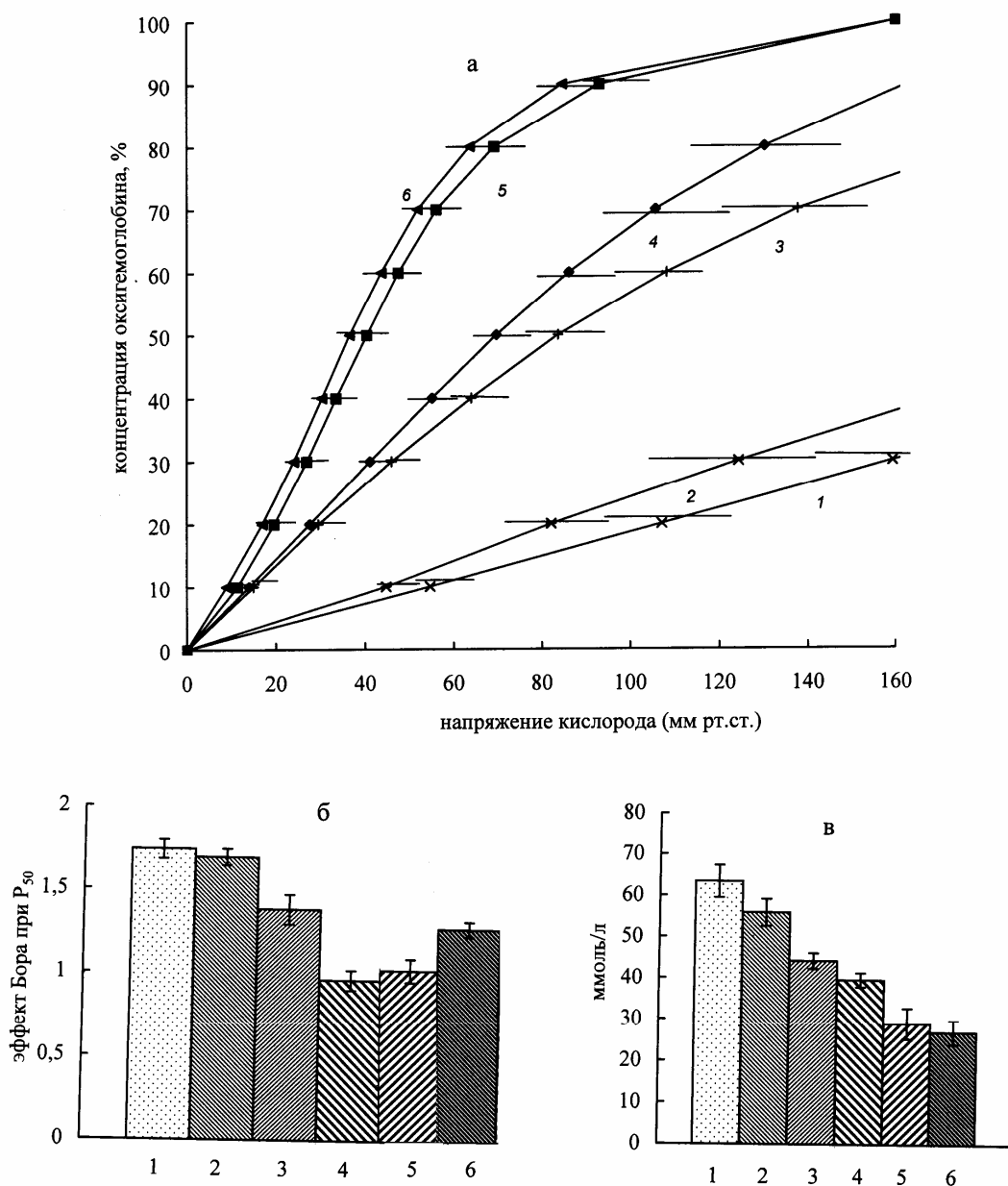


Рисунок. Функциональные свойства гемоглобина и концентрация натрия в эритроцитах у пресноводных рыб. 1,2,3,4,5,6 –соответственно, щука, окунь, плотва, лещ, карась, линь. (а) – сродство гемоглобина к кислороду при 0.05M и рН 6.6 калий-фосфатного буферного раствора; (б) – средняя величина эффекта Бора при ионной силе буферного раствора 0.05M; (в) – концентрация натрия в эритроцитах (ммоль/л)

Нарушение процесса оксигенации гемоглобинов щуки и окуня в кислом буферном растворе (рН 6.6) указывает на то, что дыхательные функции гемоглобина этих рыб вступают в противоречие со свойствами гемоглобина, как буферной системы. За счет неполной оксигенации гемоглобин предохраняет внутреннюю среду от дальнейшего закисления, связанного с присоединением кислорода. Небольшое нарушение дезоксигенации у карася и линя при рН 7.2 (в щелочной среде) и 0.005M буферного раствора может быть истолковано аналогичным образом как предохранительное от избыточного защелачивания крови (которое сопровождает процесс отдачи кислорода гемоглобином) у этих видов, устойчивых к высоким рН воды. Другими словами, гемоглобиновая система у рыб, устойчивых к низким рН воды, обладает большей чувствительностью к закислению внутриэритроцитарной среды и более тонкой регуляцией величины рН в области низких значений. Аналогично, у рыб, устойчивых к высоким рН воды, защита от их повреждающего действия

обеспечивается гемоглобиновой системой, наиболее чувствительной к защелачиванию внутриклеточной среды. У плотвы и леща, особенно у первой, возможны небольшие нарушения оксигенации гемоглобина в кислом буферном растворе. Из этого следует, что гемоглобиновая буферная система этих видов рыб, особенно плотвы, в большей степени способна предохранять кровь от закисления, чем от защелачивания.

Величина эффекта Бора, вероятно, в первую очередь отражает устойчивость рыб к низким pH среды, при этом существует прямая зависимость между этими двумя показателями. Исследуемые рыбы по мере снижения величины эффекта Бора располагались практически в той же последовательности, что по мере снижения кислотоустойчивости.

Анализ механизмов защиты от повреждающего действия низких и высоких pH воды у рыб на уровне клеток жаберного эпителия и эритроцитов позволяет говорить о различном характере действия ионообменных, буферных систем, находящихся в жабрах (т.е. наружных) и гемоглобиновой и Na^+/H^+ обмена на клеточной мембране эритроцитов (т.е. внутренних систем). Так, основная цель жаберных механизмов защиты заключается в противодействии поступлению ионов H^+ и OH^- в организм, а основная цель внутренних ионообменных и буферных систем состоит в скорейшем освобождении внутри- и внеклеточной среды организма от указанных ионов. При этом виды рыб, более устойчивые к низким и высоким значениям pH воды в сравнении с менее устойчивыми, обладают более эффективными буферными системами как на уровне жабр, так и эритроцитов. У рыб, наиболее устойчивых к низким pH воды (щуки, окуня, дальневосточной красноперки), буферные системы сильнее противодействуют закислению вне- и внутриклеточной среды. И, напротив, у рыб, наиболее устойчивых к высоким pH воды (карася, линя, радужной форели), буферные системы в большей степени противодействуют защелачиванию внутренней среды организма. Другими словами, у рыб устойчивых к закислению (или защелачиванию) воды в сравнении с менее устойчивыми жаберные системы ионной и кислотно-щелочной регуляции обладают более низкой чувствительностью к изменению pH среды, а эритроцитарные (гемоглобиновая и Na^+/H^+ обмена) системы, напротив, большей чувствительностью.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 06-04-48282)

Список литературы

- Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб. М.: Наука, 2000. 200с.
- Запруднова Р.А., Камишилов И.М. Межвидовые различия дыхательных функций эритроцитов некоторых пресноводных рыб // Вопросы ихтиолог. 2008. Т.48. № 4. С. 553-562.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Камишилов И.М. Гемоглобины рыб: спектральные характеристики и функциональные свойства. Ярославль: ВВО РЭА, 2000. 187с.
- Мартемьянов В.И., Запруднова Р.А. Динамика концентрации электролитов в плазме крови, эритроцитах и мышечной ткани пресноводных рыб при стрессе. //Биолог. науки. 1982. №. 10. С.44-49.
- Матей В.Е. Жабры пресноводных костистых рыб. С-Пб.: Наука, 1996. 204с.
- Токсикозы рыб с основами патологии. Справочная книга. СПб.:ГОСНИОРХ, 2006. 179с.
- European Inland Fisheries Abvisory Commision (EIFAC) // Techn. Paper, Rome, 1968. №4. P.1-18.
- Evans D.H., Piermarini P.M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acidbase regulation, and excretion of nitrogenous waste// Physiol.Rev. 2005. V.85.P.97-177.
- Fromm P. O. A review of some physiological and toxicological responses of freshwater fish to acid stress // Env. Biol. Fish. 1980. V. 5. №1. P. 79-93.
- Gonzalez R.J., Wilson R.W. Pattern of ion regulation in acidophilic fish native to the ion-poor, acidic Rio Negro // J Fish Biology. 2001. V.58. P. 1680-1690.
- Hirata T., Kaneko T., Nakazato T. et. al. Mechanism of acid adaptation of fish living in a pH 3.5 lake // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003. V.284. № 5. P. R1199-R1212.
- Wilson R.W. Sodium uptake kinetics and responses to high pH in fish inhabiting a seasonally alkaline lake // Inter. Congr. Biol. "Ion Regulation In Fish" Canada. 2002. P. 51-54.

ПОВЕДЕНЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ИНFUЗОРИИ *SPIROSTOMUM AMBIGUUM* НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ ИЗЛУЧЕНИЯ

Ю.В. Иголкина

Государственный технический университет атомной энергетики
249030, Обнинск, Калужской обл., Студгородок-1, ИАТЭ, каф. Биологии, Россия,
bioeco@iate.obninsk.ru

Инфузории *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. высокочувствительны к действию низкоинтенсивного СВЧ-излучения по критерию снижения спонтанной двигательной активности. Достоверный эффект наблюдается уже после облучения в течение 1 ч и сохраняется на одном и том же уровне (около 30-40% ниже контроля) при облучении в течение 1-10 ч. Облучение в течение 12 ч приводит к заметному усилению эффекта. Полученные результаты представляют интерес в связи с вопросом использования поведенческих реакций гидробионтов в качестве индикатора электромагнитного загрязнения окружающей среды.

На сегодняшний день существует много методов биотестирования, основанных на изучении особенностей реагирования гидробионтов различных экологических и систематических групп на загрязнение окружающей среды. Вопрос о роли поведенческих реакций беспозвоночных животных как индикатора качества окружающей среды широко исследуется Н.А.Тушмаловой (Тушмалова, 1986; Данильченко, Тушмалова, 1983; Лебедева и др., 2000; Егорова и др., 2004; Бахвалова и др., 2007). Ею, в частности, предложен экспресс-метод определения токсичности водных сред, основанный на изменении спонтанной двигательной активности (СДА) инфузорий спиростом *Spirostomum ambiguum* Ehrbg. (Данильченко, Тушмалова, 1983). В природных условиях метод позволил в течение часа выявлять токсичность оловоорганических соединений на уровне 5-10 ПДК для рыбохозяйственных водоемов. В дальнейшем изучение изменения СДА спиростом проводилось в ряде работ и при действии других факторов, в том числе при малых дозах агентов. Экспериментально получены синергические и антагонистические эффекты совместного действия солей тяжелых металлов (Бахвалова, Егорова, Тушмалова, 2007), негативного действия ионизирующего излучения (Сарапульцева, 2008), интегральной загрязненности водоемов Москвы органическими и химическими поллютантами (Лебедева, Тушмалова, Головина, 2000). Во всех цитируемых работах была показана высокая чувствительность метода.

Ранее нами были получены негативные биологические эффекты низкоинтенсивных СВЧ-излучений на частотах 8,8-10,3 ГГц с ППЭ=200 мкВт/см² (Егорова, Иголкина, Тушмалова, 2004). В России установлены предельно-допустимые уровни (ПДУ) СВЧ-излучения 10 мкВт/см², которые намного жестче, чем в Европе и в США. Биологические эффекты действия ЭМИ со столь низким уровнем энергии изучаются в настоящей работе впервые.

Использованные в работе инфузории *Sp.ambiguum* имеют относительно большие размеры: длина 1–3 мм, диаметр 0,3–0,5 мм, что позволяет наблюдать за ними при небольшом увеличении (x2). Они широко распространены в природных водоемах и хорошо размножаются в лабораторных условиях. Спиростом содержали в виде массовой культуры в биологических пробирках в водопроводной отстоянной не менее трех суток и отфильтрованной через обеззоленный фильтр воде при температуре 20±1°C. Пересадку контрольных и облученных спиростом для поддержания культуры в лог-фазе и их кормление пищевыми дрожжами осуществляли раз в неделю.

Спиростом для облучения брали из массовой культуры через 3 сут после кормления. Облучение проводили в пластиковых чашках Петри диаметром 5 см в слое воды 0.5 см в течение 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 и 12 ч. Контрольную культуру помещали в аналогичные условия за защитный экран для исключения воздействия на нее электромагнитного поля.

Установка для СВЧ-облучения состояла из генераторов частот 1 и 10 ГГц, рупорной антенны и экранированной камеры. Усреднённая удельная мощность облучения (плотность потока энергии) составляла 10.0±0.5 мкВт/см². Частота 10 ГГц соответствует частотному диапазону излучений радаров военно-промышленного комплекса. Частота 1 ГГц соответствует излучению установок сотовой связи. В настоящее время сотовый телефон стал неотъемлемой частью жизни человека. В связи с этим возникает достаточно большое количество споров о вреде СВЧ-излучения.

Сразу по окончании времени экспозиции производили количественную оценку изменения СДА индивидуально у каждой опытной и контрольной спиростомы. Для этого, в соответствии с имеющимися методическими разработками (Мелехова, Сарапульцева, Евсеева и др., 2008), помещали их в специальную камеру размером 8 см x 2,5 см x 0,5 см с ячейками диаметром 5 мм и глубиной 1

мм. Изменение СДА оценивали по числу пересечений спиростомой визира окуляра микроскопа МБС-10 за 1 мин.

Опыт проведен на 20 спиростомах в контроле и на 20 спиростомах при каждой частоте и времени облучения в трех повторностях. Результаты обработаны с помощью статистической программы Microsoft®Excel'2003 SR-2 Origin® по критерию Стьюдента.

Сначала рассмотрим изменения СДА после облучения на частоте 10 ГГц. В табл.1 приведены результаты, полученные после облучения в течение 1 ч.

Таблица 1. Средние показатели СДА в контроле и после СВЧ-облучения на частоте 10 ГГц в течение 1 ч в трех сериях опытов

№ серии	Контроль, $M \pm m$	Опыт, $M_I \pm m_I$	%, $\frac{M_I}{M} \cdot 100$
1	2.4 ± 0.3	2.1 ± 0.4	$87.5 \pm 7.3^*$
2	1.8 ± 0.3	1.4 ± 0.3	$77.8 \pm 9.3^*$
3	2.5 ± 0.3	1.6 ± 0.3	$64.0 \pm 10.7^*$
Среднее	2.2 ± 0.3	1.7 ± 0.3	$76.4 \pm 5.4^*$

$M \pm m$ – средние значения величин с квадратичной ошибкой, при $n=20$

* $p < 0.05$

Видно, что, не смотря на индивидуальные колебания, среднее значение в опыте (1.7 ± 0.3) достоверно ($p < 0.05$) ниже, чем в контроле (2.2 ± 0.3). На основании данных, представленных в таблице, можно заключить, что различия с контролем хорошо воспроизводятся во всех сериях опыта.

В последующих экспериментах исследовали зависимость обнаруженного эффекта от времени СВЧ-облучения. На рис.1 приведены результаты изменения СДА у спиростом сразу после облучения с частотой 10 ГГц в течение более длительного времени.

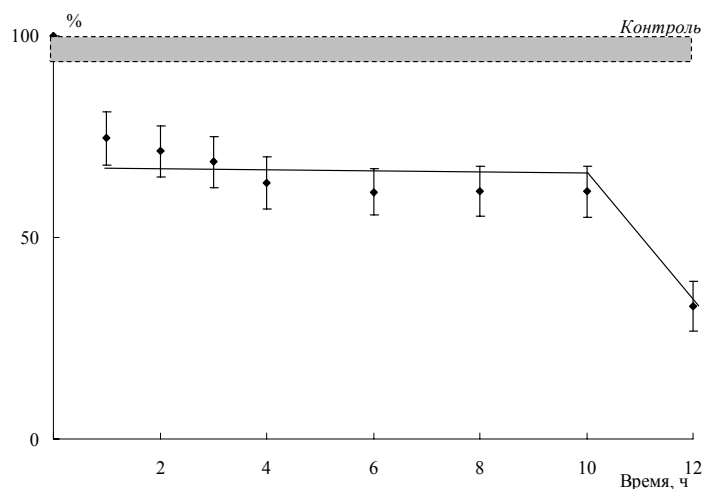


Рис. 1. Зависимость СДА спиростом (в % относительно контроля) от времени воздействия в диапазоне 1–12 ч сразу после воздействия ЭМИ на частоте 10 ГГц

Видно, что при увеличении времени облучения до 2–10 ч отличия опыта от контроля достаточно отчетливы и примерно одинаковы. Эффект, вызываемый облучением в течение 1 ч, заметно не увеличивается даже при возрастании времени воздействия в 10 раз. Лишь после 12 ч облучения наблюдали тенденцию к усилению эффекта.

Таким образом, нами обнаружены: 1) эффект угнетения физиологического состояния беспозвоночного гидробионта после слабых воздействий ЭМИ, 2) независимость проявления эффекта от времени воздействия на одной частоте в широком временном интервале. Последнее не укладывается в общее представление о действии ЭМИ на живые организмы. Этот интересный вопрос требует дальнейших исследований, прежде всего в установлении наименьшего времени, при котором происходит нарушение СДА у спиростом и изучении характера временной зависимости в этой области. А теперь рассмотрим изменения СДА после облучения на частоте 1 ГГц. В табл.2 представлены значения этого показателя в абсолютных величинах в контроле и после облучения в течение 1 ч в трех сериях опыта.

Таблица 2. Средние показатели СДА в контроле и после СВЧ-облучения на частоте 1 ГГц в течение 1 ч в трех сериях опытов

№ серии	Контроль, $M \pm m$	Опыт, $M_1 \pm m_1$	%, $\frac{M_1}{M} \cdot 100$
1	1.8±0.4	1.0±0.4	55.6±11.1*
2	2.5±0.3	1.8±0.3	72.0±10.0*
3	2.1±0.3	1.5±0.3	71.4±10.1*
Среднее	2.1±0.3	1.4±0.3	66.3±5.1*

$M \pm m$ – средние значения величин с квадратичной ошибкой, при $n=20$

* $p < 0.05$

Видно, что и при частоте 1 ГГц уже после 1 ч облучения наблюдается достоверное снижение СДА спиростом, хорошо воспроизводящееся во всех опытах. Воспроизведение разницы с контролем в широком временном интервале позволяет предположить о массовом характере наблюдаемого явления. Эти результаты, необычные для радиобиологии, вполне соответствуют, однако, литературным данным, полученным на спиростомах и простейших других видов, а также клетках млекопитающих (Бычковская, 1986; Бычковская, Федорцева, Антонов и др., 2006; Сарапульцева, 2008) после γ -облучения в малых дозах, что убеждает в реальности реакций такого рода

На рис.2 представлены средние значения изменения СДА у спиростом сразу после облучения ЭМИ в течение 1–12 ч.

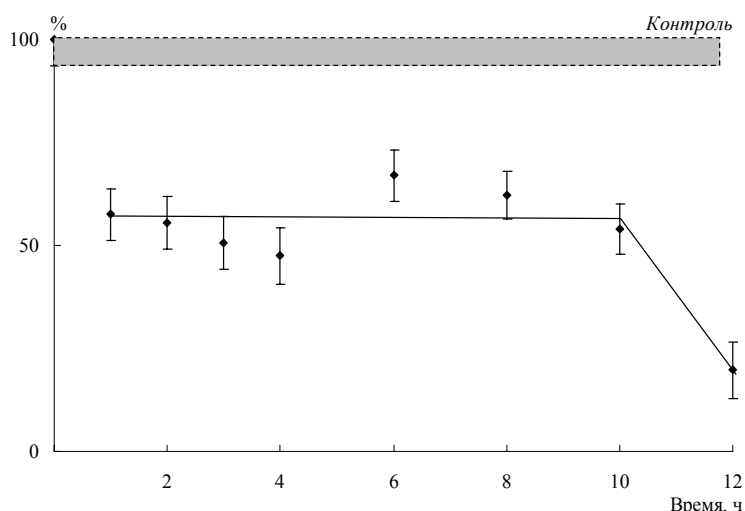


Рис. 2. Зависимость СДА спиростом (в % относительно контроля) от времени воздействия в диапазоне 1–12 ч сразу после воздействия ЭМИ на частоте 1 ГГц

Видно, что имеется достоверное ($p < 0.05$) снижение СДА, которое примерно одинаково на всех временных точках, кроме 12 ч экспозиции, когда начинают проявляться значительные нарушения СДА.

При сравнении данных, полученных при оценке изменения СДА после облучения на частоте 1 ГГц и 10 ГГц, обращает на себя внимание поразительное единообразие картины во всех случаях. Уже через 1 ч СВЧ-облучения наблюдается явное угнетение функции движения инфузорий, степень которого не возрастает даже при увеличении времени облучения до 10 ч включительно. Обращает на себя внимание также то, что негативные эффекты на частоте 10 ГГц несколько менее выражены (по средним величинам), чем на частоте 1 ГГц. Так среднее отклонение СДА от контроля в независимом от времени интервале на частоте 10 ГГц составляет $(66.4 \pm 5.4)\%$, а на частоте 1 ГГц $(56.3 \pm 5.1)\%$. Это связано, скорее всего, с тем, что у нашего объекта на частоте 10 ГГц могут проявляться более сильно выраженные летальные эффекты, которые маскируют изучаемые изменения. В тоже время значительные нарушения СДА возникают при СВЧ-облучении в течение 12 ч на обеих частотах.

Совокупность полученных данных призывает к дальнейшим исследованиям эффекта, прежде всего к установлению наименьшего времени СВЧ-облучения, вызывающего описанное повреждение. Это с нашей точки зрения не только обогатит представления о биологическом действии низкоинтенсивных СВЧ малой мощности, но и откроет некоторые новые подходы к нормированию вредного действия ЭМИ на биоту.

Следует подчеркнуть практическое значение полученных данных. Из проведенного исследования вытекает, что уже весьма малые уровни электромагнитного облучения вызывают повреждения у использованного в работе представителя биоты.

Полученные результаты открывают возможность определять малые уровни электромагнитного загрязнения природной среды примененным методом биотестирования.

Список литературы

- Бахвалова Е.В., Егорова Е.И., Тушмалова Н.А. Поведение инфузории спиростомы как индикатор наличия тяжелых металлов в водной среде // Биология внутренних вод, 2007. – №2. – С.100-104.
- Бычковская И.Б. Проблема отдаленной радиационной гибели клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 160 с.
- Бычковская И.Б., Федорцева Р.Ф., Антонов П.В. и др. Особые клеточные эффекты и соматические последствия облучения в малых дозах. – СПб: СПМКС, 2006. – 150с. (<http://irbb.ucoz.ru>)
- Егорова Е.И., Тушмалова Н.А., Иголкина Ю.В. Влияние СВЧ-излучения нетепловой мощности на спонтанную двигательную активность донервных эукариот (на примере *Spirostomum ambiguum*) // Биомед. технологии и радиоэлектроника, 2004. – №5-6. – С. 58-61.
- Данильченко О.П., Тушмалова Н.А. Экспресс-метод определения токсичности водной среды по функциональному состоянию инфузорий спиростом / Теоретические вопросы биотестирования. – Волгоград, 1983. – С.130-132.
- Лебедева Н.Е., Тушмалова Н.А., Головкина Т.В. Индикация уровня биогенных и химических примесей в природных водоемах, примыкающих к МКАД с помощью количественной оценки функционального состояния гидробионтов / Междунар. конференция «Экополис 2000». – М.: МГУ, 2000. – С. 99-100.
- Мелехова О.П., Сарапульцева Е.И., Евсеева Т.И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. Учебное пособие / Под ред. О.П.Мелеховой и Е.И.Сарапульцевой. – М.: Академия, 2008. – С.216-220.
- Сарапульцева Е.И. Спонтанная двигательная активность инфузорий *Spirostomum ambiguum* после γ -облучения в широком диапазоне доз как информативный метод биотестирования // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т.48. №3. С.346-348.
- Тушмалова Н.А. Функциональные механизмы приобретенного поведения у низших беспозвоночных. – М.: МГУ, 1986. – 107 с.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛОДИ ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus* ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Ю.Г. Изюмов, Ю.В. Чеботарёва

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

152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, Борок, Россия, izum@ibiw.yaroslavl.ru

Ранее было показано, что инкубация икры плотвы *Rutilus rutilus* в растворах фосфорорганического пестицида хлорофоса или химического мутагена N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (MNNG) приводит к изменению числа позвонков и возникновению их аномалий (Касьянов и др., 2001; Таликина и др., 2005). В настоящем исследовании мы использовали те же химические агенты, но понизили концентрации растворов хлорофоса до уровня, не снижающего выживаемость подопытного материала.

Икра плотвы течение 54 ч (до этапа подвижного эмбриона) развивалась в кристаллизаторах с растворами хлорофоса (концентрации 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} и 10^{-2} мг/л) или MNNG с концентрацией 0.3 мг/л. Контролем служила икра, развивавшаяся в речной воде. После рассасывания желточного мешка личинок выпустили в пруды, где они развивались в течение 3.5 месяцев. У сеголеток считали число позвонков в туловищном (*vert.a.*), переходном (*vert.i.*) и хвостовом (*vert.c.*) отделах, а также их сумму (*vert.*), включая веберовы и преуральные. Методика препарирования осевого скелета плотвы подробно описаны в работе Яковлева с соавторами (1981).

Для оценки внутригрупповой изменчивости использовали показатель внутрипопуляционного разнообразия Шеннона, вычисляемый по спектрам частот вариантов строения позвоночника (позвонковых фенотипов), представляющих собой сочетание числа позвонков в *vert.a.*, *vert.i.* и *vert.c.* у данной особи.

У плотвы из всех экспериментальных выборок было отмечено увеличение числа позвонков в позвоночнике или его отделах (табл. 1). В единственной выборке сеголеток (полученных из икры, развивавшейся в растворе хлорофоса с концентрацией 10^{-3}) общее число позвонков не отличалось от наблюдавшегося в контроле, но было обнаружено различие по числу позвонков в переходном отделе.

Максимальные отличия от контроля отмечены у рыб после воздействия на ранние стадии развития хлорофоса с концентрацией 10^{-6} мг/л и MNNG.

Таблица 1. Число позвонков ($M \pm m$) в позвоночнике и его отделах у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus*

Вариант	n, экз.	vert.a.	vert.i.	vert.c.	vert.
Контроль	80	16.13 ± 0.070	2.91 ± 0.051	15.08 ± 0.050	41.11 ± 0.080
Хлорофос, мг/л:					
10^{-6}	79	$16.48 \pm 0.109^*$	$3.13 \pm 0.071^*$	$15.33 \pm 0.093^*$	$41.94 \pm 0.143^*$
10^{-5}	78	16.15 ± 0.098	$3.18 \pm 0.072^*$	15.13 ± 0.095	$41.46 \pm 0.137^*$
10^{-4}	80	16.20 ± 0.091	$3.25 \pm 0.079^*$	15.28 ± 0.080	$41.73 \pm 0.122^*$
10^{-3}	81	16.07 ± 0.094	$3.14 \pm 0.063^*$	15.09 ± 0.079	41.30 ± 0.105
10^{-2}	80	16.31 ± 0.097	3.10 ± 0.070	$15.56 \pm 0.099^*$	$41.98 \pm 0.131^*$
MNNG, 0.3 мг/л	79	$16.60 \pm 0.120^*$	$3.15 \pm 0.085^*$	15.28 ± 0.084	$42.03 \pm 0.127^*$

Примечание. $M \pm m$ – среднее значение и его ошибка;

* – значение достоверно отличается от контроля ($p < 0.05$).

Во всех исследованных группах сеголеток плотвы встречались особи с разными нарушениями в строении осевого скелета. Чтобы выяснить, связано ли число позвонков с наличием аномалий в позвоночнике сеголеток, в пределах контрольной и экспериментальных выборок было проведено сравнение этих показателей у рыб с аномалиями позвонков и без них (табл. 2). Увеличение числа позвонков в позвоночнике у сеголеток с аномалиями (по сравнению с рыбами без аномалий) было обнаружено во всех случаях, когда икра подвергалась воздействию хлорофоса. Наибольший вклад в эти изменения вносит увеличение числа позвонков в переходном отделе, достоверные различия между рыбами с аномалиями и без них (в экспериментальных вариантах) по числу позвонков в туловищном и хвостовом отделах отмечались в единичных случаях.

Таблица 2. Число позвонков ($M \pm m$) в позвоночнике и его отделах у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* с аномалиями позвоночника (под чертой) и без них (над чертой)

Вариант	n, экз.	vert.a.	vert.i.	vert.c.	vert.
Контроль	<u>65</u>	<u>16.15 ± 0.073</u>	<u>2.91 ± 0.057</u>	<u>15.12 ± 0.051^1</u>	<u>41.19 ± 0.085</u>
	15	16.00 ± 0.195	2.93 ± 0.118	14.87 ± 0.133^1	40.80 ± 0.200
Хлорофос, мг/л					
10^{-6}	<u>17</u>	<u>16.00 ± 0.171^1</u>	<u>3.00 ± 0.121</u>	<u>15.00 ± 0.121</u>	<u>41.00 ± 0.121^1</u>
	62	$16.61 \pm 0.127^{1,2}$	3.16 ± 0.084	15.42 ± 0.112^2	$42.19 \pm 0.166^{1,2}$
10^{-5}	<u>42</u>	<u>16.14 ± 0.087</u>	<u>2.93 ± 0.086^1</u>	<u>14.98 ± 0.087</u>	<u>41.05 ± 0.090^1</u>
	36	16.17 ± 0.188	$3.47 \pm 0.101^{1,2}$	15.31 ± 0.177	$41.94 \pm 0.258^{1,2}$
10^{-4}	<u>21</u>	<u>16.14 ± 0.159</u>	<u>3.00 ± 0.098</u>	<u>$14.86 \pm 0.125^{1,2}$</u>	<u>41.00 ± 0.169^1</u>
	59	16.22 ± 0.111	3.34 ± 0.099^2	$15.42 \pm 0.091^{1,2}$	$41.98 \pm 0.140^{1,2}$
10^{-3}	<u>46</u>	<u>16.04 ± 0.069</u>	<u>2.96 ± 0.069^1</u>	<u>15.04 ± 0.082</u>	<u>41.04 ± 0.088^1</u>
	35	16.11 ± 0.200	$3.37 \pm 0.101^{1,2}$	15.14 ± 0.149	$41.63 \pm 0.201^{1,2}$
10^{-2}	<u>23</u>	<u>16.61 ± 0.151^2</u>	<u>2.87 ± 0.114^1</u>	<u>15.22 ± 0.088</u>	<u>$41.70 \pm 0.132^{1,2}$</u>
	57	16.19 ± 0.119	3.19 ± 0.084^1	15.70 ± 0.130^2	$42.09 \pm 0.174^{1,2}$
MNNG, 0.3 мг/л	<u>8</u>	<u>16.50 ± 0.189</u>	<u>2.63 ± 0.183^1</u>	<u>15.25 ± 0.164</u>	<u>41.38 ± 0.263</u>
	71	16.61 ± 0.132^2	3.21 ± 0.090^1	15.28 ± 0.092	42.10 ± 0.136^2

Примечание. Различия достоверны при $p < 0.05$: ¹ – между рыбами с аномалиями и без из одного варианта; ² – между контрольными и экспериментальными выборками (сравнивались отдельно рыбы с аномалиями, отдельно – без).

В контрольной выборке также обнаружено различие по числу позвонков в хвостовом отделе, при этом, в отличие от экспериментальных рыб, этот показатель был меньше у сеголеток с аномалиями. Интересно, что у контрольных рыб аномалии позвонков в хвостовом отделе практически не встречались. Полученные данные говорят о том, что, скорее всего, аномальное развитие части позвонков влияет не на длину определенного отдела позвоночника, а на позвоночник в целом.

Сравнение групп сеголеток с аномалиями позвоночника и без них из разных экспериментальных выборок с соответствующими контрольными группами выявило различия в основном между рыбами с фенотипическими аномалиями позвоночника (табл. 2). Однако сеголетки, выращенные из икры, которая развивалась в растворе хлорофоса с концентрацией 10^{-2} мг/л, отличались от контроля большим числом позвонков при сравнении рыб как с аномалиями, так и без них. Сеголетки из всех экспериментальных вариантов отличались также большим разнообразием числа позвонков по сравнению с контролем (табл. 3).

В контроле отмечены 4 варианта числа позвонков, в экспериментальных выборках – от 5 до 7. В контроле преобладают рыбы с 41 позвонком (63.75%), доля рыб с 42 позвонками меньше (26.25%). Близкое распределение по числу позвонков в вариантах с двумя концентрациями хлорофоса – 10^{-5} и 10^{-3} , но в обеих выборках встречаются рыбы с числом позвонков больше 42, отсутствующие в контроле. Среди сеголеток, на ранних стадиях развития находившихся под воздействием хлорофоса с концентрацией 10^{-6} , также доминирует группа рыб с 41 позвонком, но в этой выборке приблизительно равное соотношение рыб с 42 и 43 позвонками, появились и особи с большим числом позвонков. В 3 экспериментальных вариантах (хлорофос 10^{-4} и 10^{-2} и MNNG) модальной оказалась группа рыб с 42 позвонками. В этой же таблице приведено распределение числа позвонков в объединённой выборке, представляющей вид *Rutilus rutilus* в европейской части ареала. Видно, что в экспериментальных вариантах распределение числа позвонков может быть шире видового в правой части распределения. Одновременно с этим установлена положительная корреляция ($r = 0.47$) между числом позвонков и долей аномальных позвонков. Вероятно, увеличение числа позвонков в опытных вариантах идёт, в основном, за счёт аномального развития.

Таблица 3. Число позвонковых фенотипов и распределение числа позвонков (%) у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus*

Вариант	n, экз.	Число фенотипов	Число позвонков								
			38	39	40	41	42	43	44	45	46
Контроль	80	14		1.2	8.8	63.8	26.2				
Хлорофос, мг/л											
10^{-6}	79	30			8.9	32.9	22.8	24.0	8.9	1.3	1.2
10^{-5}	78	30	1.3		11.5	51.3	21.8	3.8	9.0		1.3
10^{-4}	80	25		1.2	8.8	28.8	42.5	13.7	2.5	2.5	
10^{-3}	81	27			14.8	53.1	23.5	3.7	4.9		
10^{-2}	80	31			7.5	22.5	42.5	15.0	10.0	1.2	1.2
MNNG, 0.3 мг/л	79	31	1.3		3.8	20.2	40.5	24.1	7.6	2.4	
Вид <i>Rutilus rutilus</i> в ареале	1400	40	2.8	29.3	51.3	15.1	1.4				

Разнообразие фенотипов оценивали путем подсчёта разных комбинаций сочетания позвонков в туловищном, переходном и хвостовом отделах. Во всех экспериментальных вариантах число позвонковых фенотипов почти в 2 раза выше, чем в контроле (табл. 3). Соответственно выше показатели разнообразия Шеннона для этого признака. Показатель разнообразия положительно коррелирует с наличием аномалий позвонков у рыб (рисунок). Это также подтверждает высказанное выше положение о повышении разнообразия за счёт увеличения числа аномалий. Результаты нашей работы показывают, что различия между контрольными и экспериментальными сеголетками в основном выражаются в увеличении числа позвонков у рыб с аномалиями позвоночника. В природных водоёмах возможна различная реакция плотвы на токсический стресс. Для так называемых «индустриальных рас» плотвы (популяций из техногенно загрязнённых природных водоёмов) характерно уменьшение числа позвонков (Яковлев, 1992; Изюмов и др., 1998; Котеков, 2002). В закисленных водоёмах может встречаться плотва с увеличенным числом позвонков (Касьянов и др., 2001). Направление ответа популяции может быть связано с селективной смертностью рыб с большим или, наоборот, меньшим числом позвонков, с генетическими особенностями популяции, а также с особенностями абиотических факторов в конкретном водоёме.

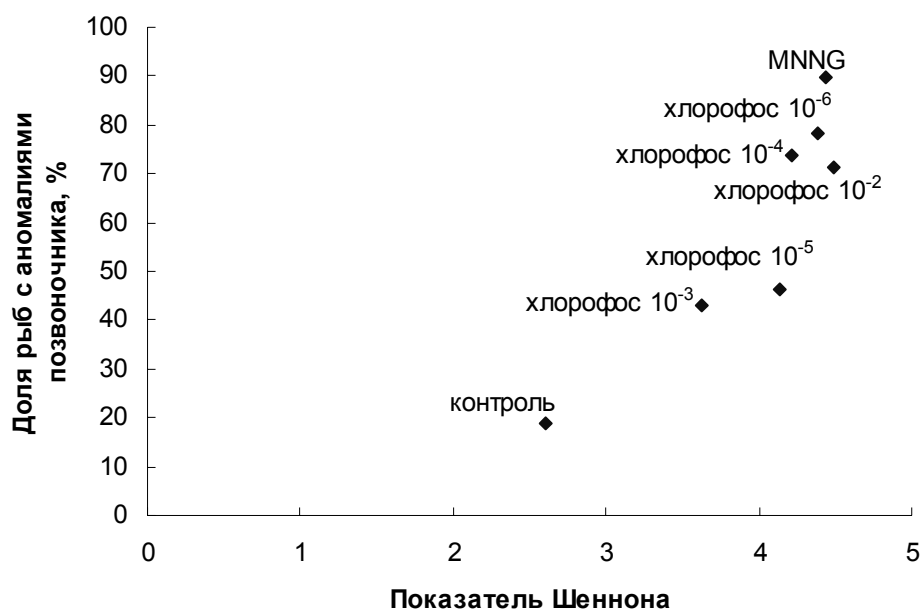


Рисунок. Связь между показателем Шеннона и долей рыб с аномалиями позвоночника в выборках.

Результаты нашей работы показывают, что воздействие токсикантов в малых и сверхмалых концентрациях на ранний онтогенез плотвы вызывает повышение разнообразия позвоночных фенотипов в выборках молоди (табл. 3). Этот признак коррелирует с частотой аномалий и числом позвонков у сеголеток из разных групп. Результаты работы в целом говорят о значительном патоморфологическом эффекте малых и крайне малых доз хлорофоса, действие которых сравнимо с действием такого сильного мутагена, как MNNG.

Список литературы

- Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г., Касьянов А.Н. и др. 1998. Антропогенная микроэволюция плотвы *Rutilus rutilus* Шекнинского плеса Рыбинского водохранилища // Вопр. ихтиологии. Т. 38. № 5. С. 704-708.
- Касьянов А.Н., Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г. и др. 2001. Изменчивость признаков осевого скелета у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсических веществ в период раннего индивидуального развития // Вопр. ихтиологии. Т. 41. № 4. С. 495-503.
- Котегов Б.Г. 2002. «Индустриальная раса» плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) из Чешошурского пруда г. Ижевска // Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия. Борок: ИБВВ РАН. С. 128-129.
- Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. 2005. Отдаленные ответы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* на действие низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития // Вопр. ихтиологии. Т. 45. № 4. С. 548-553.
- Яковлев В.Н. 1992. «Индустриальная раса» плотвы *Rutilus rutilus* // Зоол. журн. Т. 71. Вып. 6. С. 81-85.
- Яковлев В.Н., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н. 1981. Фенетический метод исследований популяций карповых рыб // Биол. науки. № 2. С. 98-101.

ОБ АДАПТАЦИИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* К СТРЕПТОМИЦИНУ

В.И. Ипатова, Е.Е. Коломенская

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет

Воробьевы горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119992, Россия, viipatova@hotmail.com, kolom.skaya@mail.ru

Антибиотики встречаются в окружающей среде во многих водоемах мира в связи с интенсивным развитием фармацевтической продукции и широким их применением в медицине, ветеринарии, животноводстве и рыбоводстве (Fent, 2006).

Характер действия антибиотиков может быть бактерицидным (полное разрушение клетки инфекционного агента) и бактериостатическим (прекращение деления клеток). Стрептомицин, образуемый лучистыми грибами актиномицетами рода *Actinomyces* (*Streptomyces*) - *Streptomyces griseus*, *Str. bikiniensis*, *Str. olivaceus* и другими, является антибиотиком бактерицидного типа

широкого спектра антибактериального действия. В бактериальной клетке стрептомицин, связываясь с рибосомами, нарушает считывание генетического кода, подавляет биосинтез белка и, кроме того, может нарушать последовательность аминокислот в белке, вызывая образование дефектных белков (Навашин, Фомина, 1982). Первичный механизм его действия окончательно не установлен.

Водные организмы являются для лекарственных препаратов организмами-мишенями, т.к. многие из них подвергаются их действию в течение всей своей жизни. Однако целенаправленные экотоксикологические исследования этих препаратов отсутствуют. Для некоторых из них исследованы эффекты на водные организмы только в острых опытах. Однако потенциальный экотоксикологический эффект остаточных количеств этих препаратов на дикую природу неизвестен.

Большинство имеющихся работ посвящено резистентности микроорганизмов и цианобактерий к лекарственным препаратам. Устойчивость бактерии *Staphylococcus aureus* к сульфаниламиду, возникала в результате отбора мутантных форм, как главного механизма, лежащего в основе приобретения резистентности (Oakberg, Luria 1947). Получены резистентные штаммы *Anacystis nidulans* к высоким концентрациям сульфаниламидов путем нескольких пересевов в среды с увеличивающимися концентрациями этих препаратов (Kumar, 1965). Обнаружена и перекрестная устойчивость к некоторым этим препаратам. Описан эффект стрептомицина, пенициллина, селената натрия, хлорамфеникола на цианобактерии (Kumar, 1964) а также получены резистентные штаммы *A. nidulans* к стрептомицину, пенициллину, селенату натрия и радиации. Путем последовательных пересевов в среды с увеличивающимися концентрациями стрептомицина возможно увеличение резистентности к этому антибиотику в несколько тысяч раз.

Очень мало работ посвящено их влиянию на водоросли. Показана резистентность к сульфаниламиду у криптофитовой водоросли *Chilomonas paramecium* в результате последовательных пересевов в среды с этим препаратом (Hall, 1961). Причем, устойчивость к нему носила стабильный характер и сохранялась даже после 255 пересевов в чистой среде. Хотя автор не делал заключение о механизмах появления такой резистентности, его результаты свидетельствуют скорее о мутациях, нежели о физиологической адаптации. У водоросли *Chlamydomonas reinhardi* резистентность к стрептомицину достигается за счет ядерных мутаций, возникающих спонтанно в его отсутствие, а стрептомицин только отбирает эти мутации. В тоже время стрептомицин у этого вида может вызывать появление и неядерных мутаций (Gillham, Lewine, 1962).

У бактерий доля антибиотико-резистентных мутантов обычно повышается после обработки мутагенными агентами (Northrop, Cavallero, 1961). Диэтилсульфат и гидроксилламин индуцируют мутации у некоторых микроорганизмов и высших растений. Однако, у *A. nidulans* диэтилсульфат не индуцировал стрептомицин-резистентных мутантов. А после ультрафиолетового облучения *A. nidulans* становилась более резистентной к стрептомицину и пенициллину, чем необлученный штамм (Kumar, 1963).

Мы изучали адаптацию пресноводной микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. в присутствии стрептомицина. Главные цели этой работы: оценить эффект адаптации культуры к стрептомицину при различных режимах интоксикации, определить природу и происхождение стрептомицин-резистентных клеток и оценить скорость спонтанной мутации от стрептомицин-чувствительности к стрептомицин-резистентности.

Альгологически чистую культуру зеленой хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. (strain S-3) выращивали на среде Успенского №1 (состав, г/л: 0.025 KNO₃, 0.025 MgSO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.025 Ca(NO₃)₂, 0.0345 K₂CO₃, 0.002 Fe₂(SO₄)₃; pH 7.0-7.3) в люминостате при периодическом освещении лампами дневного света (12:12 ч). В качестве токсиканта использовали стрептомицина сульфат.

Мы оценивали рост и адаптацию водорослей при различных ростовых режимах. Культуру адаптировали методом последовательных пересевов (пассажей) в токсические концентрации стрептомицина. Адаптация культуры к стрептомицину была оценена при трех различных условиях: а) культивирование без токсиканта; б) предварительное культивирование при различных концентрациях 0.001, 5, 10 мг/л стрептомицина; в) пересев в токсические концентрации 5 и 10 мг/л стрептомицина после того, как клетки предварительно экспонировали при 0.001, 5, 10 мг/л стрептомицина в течение 30 суток.

Эффект адаптации оценивали по длительности лаг-фазы, времени генерации (время удвоения) на стадии логарифмического роста, плотности популяции на стационарной фазе роста, удельной скорости роста. Время генерации рассчитывали по формуле: $g = (t_2 - t_1) \times [\ln(2)/\ln(q_2/q_1)]$, где q_2 – численность на момент времени t_2 , q_1 – численность на момент времени t_1 . Удельную скорость роста (V) рассчитывали по формуле: $\log_{10} N/N_0 = V \times t$, где N_0 – исходная числ., N – конечная численность на 30 сут опыта (для $V_{\text{кон}}$) или максимальная численность на конец логарифмической фазы роста (для

V_{\max}), t – срок в сутках. Конечная численность взята на один и тот же срок 30 сут для сравнения роста до и после пересева.

Оценку токсического действия производили по достоверности различий опытных значений от контрольных с использованием критерия достоверности t_d . Контролями служили рост культуры в чистой среде и рост во время предварительного культивирования со стрептомицином.

Мы провели модифицированный флуктуационный тест Лурия-Дельбрюк (анализ трансформации чувствительность – резистентность к стрептомицину) на жидкой среде (Luria, Delbrück, 1943; Lipez-Rodas et al., 2001), используя стрептомицин как селективный агент, чтобы различить резистентные клетки, которые появляются в результате редких спонтанных преселективных мутаций (еще до контакта с токсикантом) от тех клеток, которые появляются в результате “приобретенной” пост-селективной адаптации в ответ на присутствие стрептомицина (в течение токсической экспозиции), а также чтобы оценить встречаемость и скорость появления резистентных клеток.

Были проведены 2 различные серии экспериментов для этого вида водорослей. Первая серия опытов (set 1) была выполнена в 50 параллельных повторностях с исходной численностью $N_0 = 200$ клеток. После достижения культуры численности $N_t = 10^5$ клеток, она была обработана стрептомицином в высоко токсичной концентрации 16 мг/л. Во второй серии экспериментов (set 2) 30 аликвот (повторностей) с числом клеток 10^5 из той же самой исходной родительской популяции были отдельно перенесены в колбы с 16 мг/л стрептомицина. После добавления токсиканта в течение 3 недель подсчитывали число резистентных клеток в каждой повторности и в каждой серии экспериментов.

Доля культур в set 1, в которых не было мутантных клеток при токсической экспозиции в присутствии стрептомицина, служила параметром (P_0 эстиматор Лурия-Дельбрюк), использованным для расчета скорости мутаций (m). $P_0 = e^{-m(N_t - N_0)}$, откуда $m = -\text{Log}_e P_0 / (N_t - N_0)$.

Адаптация или акклимация к повышенным концентрациям токсиканта имеет место, когда токсический эффект при последовательных пересевах в среды с токсикантом становится меньше. Если водоросли были ослаблены во время предварительного роста в среде с токсикантом, то токсический эффект может усиливаться после пересева.

Изучение адаптации водорослей к стрептомицину методом пассажей показало, что после предварительного выдерживания водорослей в присутствии токсиканта и последующих пересевов в среду с токсикантом токсический эффект в большинстве случаев был выражен сильнее (табл.).

Таблица. Влияние стрептомицина на *S. quadricauda* при последовательных пересевах.

Условия добавления антибиотика	Конц., мг/л	Число клеток ($N \times 10^4$ кл/мл) на 4-5 сутки	Время генерации на стадии логарифмического роста (g)	Число клеток ($N \times 10^4$ кл/мл) на стационарной фазе	Удельная скорость роста $\times 10^{-2}$	
					V_{\max}	$V_{\text{кон}}$
Во время предварительного роста	К	51.33	4.7	341.7	5.5	5.5
	0.001	47	4.6	299	5.0	5.0
	5	41.67	24.7	53.67	2.9	1.99
	10	33.67	культура не росла	24.67	3.6	1.6
После пересева по схеме	К	65.67	4.9	530	5.1	5.1
	0.001-5	44.67	16.9	47.67	3.5	1.3
	5-5	14.67	культура не росла	13.67	-0.4	-0.4
	5-10	15.33	культура не росла	12.67	-0.4	-0.6
	10-10	17	культура не росла	15.33	0	0

Мы не обнаружили эффекта адаптации популяции клеток после предварительной экспозиции в присутствии 5 мг/л и 10 мг/л и пересева в среду с 5 мг/л и 10 мг/л стрептомицина (по схеме: 5-5, 5-10, 10-10 мг/л). По всем исследованным показателям рост после пересева был хуже, чем до пересева: культура не росла совсем или даже ее численность уменьшалась со временем по сравнению с исходной на момент пересева.

Небольшой эффект адаптации отмечен для случая 0.001-5 мг/л, когда культура после пересева в среду с 5 мг/л росла немного лучше, чем до пересева при 5 мг/л. При этом рост после пересева был лучше по показателям численности на 4-5 сутки опыта, времени генерации на стадии логарифмической фазы роста и удельной скорости роста (табл.).

Длительность лаг-фазы была наименее чувствительным индексом токсичности стрептомицина для *S. quadricauda*, чем время генерации, удельная скорость роста или плотность популяции на

стационарной фазе. Она менялась мало до и после пересева и варьировала во всех опытах в пределах 1-2 суток. Мы не обнаружили перекрестной адаптации к стрептомицину и хрому после того, как водоросли были дважды пересеваны в среду с 1 мг/л хрома, а затем в среду с 10 мг/л стрептомицина. При этом рост такой культуры в присутствии 10 мг/л стрептомицина мало отличался от роста культуры, предварительно не выдержанной в среде с хромом.

В опыте со стрептомицином в концентрации 1 мг/л мы варьировали исходную плотность популяции – 200, 500 тыс., 1 и 2 млн. кл/мл, при этом доза токсиканта на клетку составляла $5 \cdot 10^{-9}$; $2 \cdot 10^{-9}$; $1 \cdot 10^{-9}$ и $5 \cdot 10^{-10}$ мг/кл, соответственно. Параллельно был поставлен контроль с такими же исходными плотностями, но без добавления токсиканта. По результатам хронического 21-суточного эксперимента обнаружено, что самая высокая и сходная токсичность антибиотика наблюдалась при плотности 200 и 500 тыс. кл/мл. Далее, с увеличением плотности популяции до 1 млн. кл/мл она снижалась, а при начальной плотности 2 млн. кл/мл токсичность практически не проявлялась, поскольку рост водоросли был на уровне чистого контроля. Таким образом, токсичность 1 мг/л антибиотика сильно уменьшается с увеличением начальной плотности клеток от 1 до 2 млн. кл/мл.

Как было показано ранее (Прохоцкая и др. 2003; Prokhotskaya et al., 2006), при последовательной трехкратной интоксикации в присутствии высоко токсичной концентрации 3.5 мг/л хрома в течение 90 суток, в популяции *S. quadricauda* сохранялось 5-6% резистентных клеток от начальной численности. При этом имел место отбор резистентных клеток в исходно гетерогенной популяции клеток водорослей.

Чтобы объяснить полученные нами данные по адаптации *S. quadricauda* к стрептомицину, мы проанализировали встречаемость резистентных к стрептомицину клеток в культуре стрептомицин-чувствительных клеток дикого типа *S. quadricauda*. Для этой цели мы провели модифицированный флуктуационный тест Лурия-Дельбрюк, используя микроводоросли как экспериментальные тест-организмы, чтобы отличить стрептомицин-резистентные клетки, появляющиеся в результате редких спонтанных преадаптивных мутаций, возникающих случайно во время репликации до контакта со стрептомицином, от резистентных клеток, возникающих в результате физиологической или специфически приобретенной пост-селективной адаптации в ответ на присутствие стрептомицина.

При экспозиции культур в присутствии 16 мг/л стрептомицина рост водорослей был ингибирован. Хром убивал чувствительные клетки дикого типа, но позволял расти резистентным клеткам. Культуры выживали благодаря росту вариантов, которые были резистентны к стрептомицину. В set 1 только некоторые культуры восстанавливались после токсической экспозиции, благодаря росту резистентных клеток. Высокая флуктуация в set 1 (по сравнению с незначительной вариацией в set 2) указывает на то, что высокая варiances, найденная для культур в set 1, вызвана другим процессом, нежели ошибкой отбора клеток (выборки). Если имеют место редкие спонтанные мутации, то отношение варiances/среднее в set 1 обычно во много раз выше, чем в set 2. В последнем случае оно близко к 1.

Данные флуктуационного теста были использованы для расчета скорости спонтанных мутаций на клеточное деление, используя долю культур, в которых не было мутантов совсем. Оцененная таким образом мутационная скорость (μ) составляла $4.1 \cdot 10^{-7}$ мутантов на клеточное деление.

Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами других работ по адаптации водорослей к антибиотикам, гербицидам, тяжелым металлам, веществам военного использования и другим. Скорость спонтанных мутаций к различным токсикантам у разных водорослей и цианобактерий варьирует от 10^{-5} до 10^{-7} мутаций на клеточное деление (Lopez-Rodas, 2007). Оцененная нами скорость спонтанных мутаций $4.1 \cdot 10^{-7}$ мутантов на клетку была того же порядка значений для резистентности цианобактерии *Microcystis aeruginosa* к гербициду глифосату (Lopez-Rodas, 2007), микроводоросли *Spirogira insignis* к серным водам (Flores-Moya et al., 2005), на 1 порядок ниже значений, полученных нами для резистентности *S. quadricauda* к хрому (Ipatova et al., 2007), а также *Chlamydomonas reinhardtii* к стрептомицину (Gillham, Lewine, 1962) и цианобактерии *Pseudoanabaena planctonica* к эритромицину (Lopez-Rodas, 2001). К сожалению, молекулярные основы резистентности мутантов остаются неизвестными.

Отсутствие перекрестной адаптации к стрептомицину и хрому только подтверждает, что спонтанные мутации, которые обеспечивают резистентность к одному из них, другие, нежели для другого загрязнителя. Присутствие резистентных к стрептомицину клеток в популяции водорослей (в его отсутствии) регулируется путем периодического появления мутантов и их элиминации вследствие отбора, создавая равновесную частоту - 4 резистентные клетки на 10^7 клеточных делений у исследованного нами вида.

Культура *S. quadricauda* была использована как модель для исследования адаптации водорослей к стрептомицину при различных условиях и режимах интоксикации. Рассчитанная нами

скорость появления резистентных к стрептомицину мутантов является относительно низкой ($\sim 10^{-7}$ мутантов на клеточное деление). Такая скорость может гарантировать выживание микроводорослей при токсических уровнях стрептомицина при условии, если размер популяции будет достаточно большим. Мы показали, что с увеличением начальной плотности популяции, начиная с 10^6 кл/мл, токсичность антибиотика падает, а устойчивость популяции растет. С одной стороны, это может быть связано с уменьшением дозы токсиканта (количества токсиканта, приходящегося на одну клетку), а с другой - с увеличением числа резистентных клеток в исходно гетерогенной популяции. Резистентные клетки появляются случайно путем редких спонтанных мутаций во время репликации клеток еще до контакта с антибиотиком. Резистентные мутанты сохраняются в отсутствие токсиканта как результат баланса между новыми резистентными клетками, возникающими в результате спонтанных мутаций, и резистентными клетками, элиминированными естественным отбором, так что примерно 4 резистентных к стрептомицину мутанта на 10 миллионов клеток постоянно присутствуют в популяции исследованных микроводорослей в отсутствие стрептомицина. В определенных пределах организмы могут выживать в стрессовых условиях загрязнения окружающей среды как результат двух различных процессов: физиологической адаптации (акклимации), являющейся модификацией генной экспрессии, и адаптации путем естественного отбора, если мутации обеспечивают соответствующую генетическую вариабельность. Физиологическая адаптация ограничена условиями, в которых организмы обычно встречаются в естественной среде, а генетическая адаптация позволяет преодолевать экстремальные условия окружающей среды, при которых только редкие спонтанные преадаптивные мутации могут гарантировать выживание популяций микроводорослей, если размер популяции достаточно большой.

Список литературы

- Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: Медицина, 1982. 496 с.
- Прохоцкая В.Ю., Ипатов (Артюхова) В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф. Оценка степени адаптации лабораторной популяции микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. к действию бихромата калия // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. 2003. № 3. С. 37-42.
- Ipatova V. I., Prokhotskaya V. Yu., Dmitrieva A. G. Structural Changes and Adaptation of Algal Population under Different Regimens of Toxic Exposure // Proc. Seventh Int. Conf. on Complex Systems. Boston, 2007. <http://necsi.org/events/iccs7/viewpaper.php?id=32>
- Fent K., Weston A.A., Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals // Aquatic toxicology. 2006. V. 76. P. 122-159.
- Flores-Moya A., Costas E., Baces-Espaca E. a. o. Adaptation of *Spirogyra insignis* (Chlorophyta) to an extreme natural environment (sulphureous waters) through preselective mutations // New Phytol. 2005. V. 165. P. 655-661.
- Gillham N.W., Lewine R.P. Studies on the origin of streptomycin resistant mutants in *Chlamydomonas reinhardtii* // Genetics. 1962. V. 47. P. 1463-1474.
- Hall R.P. Duration and reversibility of sulfonamide-resistance in *Chilomonas paramecium* // J. Protozool. 1961. V. 4. P. 42-48.
- Kumar H.D. Streptomycin- and penicillin-induced inhibition of growth and pigment production in blue-green algae and production of strains of *Anacystis nidulans* resistant to the antibiotics // J. Exptl. Botany. 1964. V. 15. P. 232-250.
- Kumar H.D. Effect of certain toxic chemicals and mutagens on the growth of the blue-green alga *Anacystis nidulans*. Can. J. of Botany. 1965. V. 43. N 12. P. 1523-1532.
- Lypez-Rodas V., Agrelo M., Carrillo E. a. o. Resistance of microalgae to modern water contaminants as the result of rare spontaneous mutations // Eur. J. Phycol. 2001. V. 36. P. 179-190.
- Lypez-Rodas V., Flores-Moya A., Maneiro E. a. o. Resistance to glyphosate in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as result of pre-selective mutations // Evol. Ecol. 2007. V. 21. P. 535-548.
- Luria S.E., Delbrück M. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance // Genetics. 1943. V. 28. P. 491-511.
- Northrop J.H., Cavallero F. Mutagens and infectious nucleic acids // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1961. V. 47. P. 1602-1606.
- Oakberg E.F., Luria S.E. Mutations to sulfonamide-resistance in *Staphylococcus aureus* // Genetics. 1947. V. 32. P. 249-261.
- Prokhotskaya V.Yu., Ipatova V.I., Dmitrieva A.G. Intrapopulation Changes of Algae under Toxic Exposure // Proc. Sixth Int. Conf. on Complex Systems. Boston, 2006. <http://necsi.org/events/iccs6/viewpaper.php?id=50>.

АДАПТАЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

В.И. Ипатова, В.Ю. Прохоцкая

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет

Воробьевы горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119992, Россия, viipatova@hotmail.com, plera@mail.ru

Некоторые виды и экотипы водорослей могут жить в присутствии токсических концентраций металлов, которые являются летальными для других видов или популяций. Многие авторы называют эту способность как резистентность или толерантность. Толерантность организма рассматривается, как наследственно обусловленная способность справляться с избыточным количеством металла, выработанная в процессе естественного или искусственного отбора при токсическом уровне экспозиции (Ernst et al., 1992). Однако механизмы толерантности к тяжелым металлам у водорослей полностью еще не выяснены. Водоросли могут выживать в среде, загрязненной тяжелыми металлами, посредством внутренних и/или внешних механизмов детоксикации (Pawlik-Scowronska, Scowronski, 2001), выработанных в процессе эволюции для приспособления к повышенным концентрациям металлов.

Повышенная продукция морскими водорослями внеклеточных хелаторов в ответ на присутствие тяжелых металлов (Croot et al., 2000), которые уменьшают их биодоступность в окружающей среде, иммобилизация металла путем связывания на клеточной поверхности или с помощью слизи (Brown et al., 1988) – примеры внешних механизмов толерантности, которые приводят к уменьшению попадания металлов внутрь клеток.

Одним из наиболее важных внутриклеточных механизмов детоксикации металлов у растений и морских и пресноводных водорослей является комплексообразование с небелковыми тиоловыми соединениями, такими как редуцированный глутатион и фитохелатины (Gekeler et al., 1988), что гарантирует их высокую толерантность. Накопление тяжелых металлов в полифосфатных тельцах, которые обеспечивают место для хранения необходимых металлов, также рассматривается как внутриклеточный механизм детоксикации металлов.

Внутриклеточная концентрация контролируется рядом механизмов, включающих связывание металла на клеточной поверхности, различных путей и скоростей поглощения и выведения его при различных условиях токсической нагрузки в среде. Выведение металла из клеток (Gaither, Eide, 2001) зависит, как от концентрации металла в среде, так и внутри клеток. Стратегии выделения лигандов из клетки или самого металла являются оперативными, но недостаточными, чтобы лимитировать его накопление клетками.

Главная цель этих внешних и внутренних стратегий, которые могут действовать отдельно или вместе – защитить чувствительные мишени клетки (ДНК, белки) от воздействия металлов.

Показана также и сопряженная толерантность водорослей к различным металлам. Так, Ст-толерантный штамм *Scenedesmus acutus*, который ранее никогда не контактировал с Cd, был одновременно толерантен к Cd, а также Cu и Zn, по сравнению со штаммом дикого типа (Toricelli et al., 2004), при этом такая толерантность была наследственной.

Водоросли р. *Scenedesmus* обычно встречаются в пресноводных водоемах, сточных водах и водах, загрязненных тяжелыми металлами. Лабораторные популяции микроводоросли *S. quadricauda* широко используются как чувствительный тест-объект для оценки фитотоксичности химических веществ и сточных вод. Популяции клеток микроводорослей являются сложными гетерогенными системами с чувствительными и резистентными клетками. Ранее сообщалось, что водоросли из загрязненных мест, адаптированы к высоким концентрациям тяжелых металлов, в то время как водоросли чистых мест обитаний чувствительны к ним (Knauer et al., 1999). Сравнительно недавно была продемонстрирована быстрая адаптация микроводорослей к загрязнителям водной среды (Costas, 2001, Lypetz-Rodas, 2001). К сожалению, эволюция последствий катастрофических изменений окружающей среды для микроводорослей недостаточно понята. В определенных пределах организмы могут выживать в стрессовых условиях загрязнения окружающей среды как результат двух различных процессов: физиологической адаптации (акклимации), являющейся модификацией генной экспрессии, и адаптации путем естественного отбора, если мутации обеспечивают соответствующую генетическую вариабельность (Belfiore, Anderson 2001). Физиологическая адаптация ограничена условиями, в которых организмы обычно встречаются в естественной среде, а генетическая адаптация позволяет преодолевать экстремальные условия окружающей среды.

Мы изучали адаптацию пресноводной зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. и морской диатомовой микроводоросли *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle в присутствии хрома. С помощью экспериментальной модели проанализировано выживание водорослей в экстремальных условиях окружающей среды.

Главные цели этой работы: определить природу и происхождение хром-резистентных клеток и оценить скорость мутации от хром-чувствительности к хром-резистентности.

Альгологически чистую культуру зеленой хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. (strain S-3) выращивали на среде Успенского №1 (состав, г/л: 0.025 KNO₃, 0.025 MgSO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.025 Ca(NO₃)₂, 0.0345 K₂CO₃, 0.002 Fe₂(SO₄)₃; pH 7.0-7.3) в конических колбах в люминостате при периодическом освещении лампами дневного света (12:12 ч). Альгологически чистую культуру диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle выращивали на среде Гольдберга-Кабановой (состав, г/л: 0.2024 KNO₃, 0.007105 Na₂HPO₄, мг/л: 0.1979 MnCl₂, 0.2379 CoCl₂, 0.2703 FeCl₃). В качестве токсиканта использовали международный стандартный токсикант бихромат калия.

Мы провели модифицированный флуктуационный тест Лурия-Дельбрюк (анализ трансформации чувствительность – резистентность к хрому) на жидкой среде (Luria, Delbrück, 1943; Lypez-Rodas et al., 2001), используя хром как селективный агент, чтобы различить резистентные клетки, которые появляются в результате редких спонтанных пре-селективных мутаций (еще до контакта с токсикантом) от тех клеток, которые появляются в результате пост-селективной адаптации (в течение токсической экспозиции), чтобы выбрать из двух гипотез: (1) адаптации особей (клеток) путем физиологического ответа или прямой и специфически возникшей адаптации (адаптивные мутации) в ответ на добавку хрома и (2) адаптации популяции к хрому с помощью отбора спонтанных мутаций, а также чтобы оценить встречаемость и скорость появления резистентных клеток.

Были проведены 2 различные серии экспериментов для каждого вида водорослей. Первая серия опытов (set 1) была выполнена в 52 (*S. quadricauda*) and 49 (*T. weissflogii*) параллельных повторностях с исходной численностью $N_0 = 200$ клеток. После достижения культурами численности $N_t = 2.8 \cdot 10^4$ (*S. quadricauda*) и $N_t = 10^5$ (*T. weissflogii*) клеток, они были обработаны хромом в концентрации 2.5 (*S. quadricauda*) и 1.5 (*T. weissflogii*) мг/л. Во второй серии экспериментов (set 2) 30 аликвот (повторностей) с числом клеток 10^4 (*S. quadricauda*) и 10^5 (*T. weissflogii*) из той же самой исходной родительской популяции были отдельно перенесены в колбы с 2.5 (*S. quadricauda*) and 1.5 (*T. weissflogii*) мг/л хрома. После добавления токсиканта в течение 14-60 суток подсчитывали число резистентных клеток в каждой повторности и в каждой серии экспериментов.

Доля культур в set 1, в которых не было мутантных клеток после токсической экспозиции в присутствии хрома, служила параметром (P_0 эстиматор), использованным для расчета скорости мутаций (μ). $P_0 = e^{-\mu(N_t - N_0)}$, откуда $\mu = -\text{Log}_e P_0 / (N_t - N_0)$.

Мы определили ранее (Прохоцкая и др. 2003; Prokhotskaya et al., 2006) число резистентных клеток в гетерогенной популяции *S. quadricauda* при последовательной трехкратной интоксикации в присутствии высоко токсичной концентрации 3.5 мг/л хрома в течение 90 суток. Несмотря на длительную экспозицию, некоторые клетки сохранялись живыми. Их доля составляла 5-6% от начальной численности. При 3.5 мг/л хрома имел место отбор резистентных клеток в исходно гетерогенной популяции клеток водорослей.

В настоящем исследовании мы проанализировали встречаемость резистентных к хрому клеток в культурах хром-чувствительных клеток дикого типа *S. quadricauda* и *T. weissflogii*. Флуктуационный тест и анализ, который является комбинированным экспериментальным и статистическим методом, позволяет различить хром-резистентные клетки, появляющиеся в результате редких спонтанных пре-селективных мутаций, возникающих случайно во время репликации до контакта с хромом, от резистентных клеток, возникающих другим путем (физиологическая адаптации или пост-селективные адаптивные мутации) в ответ на присутствие хрома. Адаптивные мутации и другие связанные феномены пока известны только для бактерий и дрожжей, которые обладают способностью регулировать их мутационную скорость в ответ на условия среды.

Если резистентные клетки появляются путем редких спонтанных мутаций, тогда в set 1 должна быть высокая варiances (флуктуация) в их числе среди параллельных культур, которые имеют определенную вероятность появления резистентных вариантов с каждым клеточным делением. Если резистентные клетки появляются в ответ на селективные условия, тогда их распределение на культуру отражает низкую, но равную вероятность их появления с незначительной вариацией, вызванной только случайной выборкой. Если имеют место редкие спонтанные мутации, то отношение варiances/среднее в set 1 обычно во много раз выше, чем в set 2. В последнем случае оно близко к 1 в соответствии с распределением Пуассона. При экспозиции культур в присутствии 2.5 мг/л (*S. quadricauda*) и 1.5 мг/л (*T. weissflogii*) хрома рост водорослей был ингибирован. Хром убивал чувствительные клетки дикого типа, но позволял расти резистентным клеткам. Культуры выживали благодаря росту вариантов, которые были резистентны к хрому. В set 1 только некоторые культуры восстанавливались после токсической экспозиции, благодаря росту резистентных клеток. Высокая

флуктуация в set 1 (по сравнению с незначительной вариацией в set 2) была найдена для обоих видов (табл. 1, 2), которая указывает, что высокая вариация в set 1 вызвана другим процессом, нежели ошибкой отбора клеток (выборки).

Таблица 1. Флуктуационный анализ резистентных вариантов в культуре *S. quadricauda*

	Set 1	Set 2
Число повторностей	52	30
Число культур, содержащих следующее число резистентных кл/мл:		
0	45	0
$0-2 \times 10^4$	2	0
$2 \times 10^4-10^5$	5	30
$>10^5$	0	0
Варианса/среднее (из числа резистентных клеток на повторность)	61.5	3.2
μ (мутантов на клеточное деление)	5.2×10^{-6}	

Таблица 2. Флуктуационный анализ резистентных вариантов в культуре *T. weissflogii*

	Set 1	Set 2
Число повторностей	49	30
Число культур, содержащих следующее число резистентных кл/мл:		
0	36	0
1-1300	4	0
1300-5000	9	30
>5000	0	0
Варианса/среднее (из числа резистентных клеток на повторность)	16.8	0.95
μ (мутантов на клеточное деление)	3.1×10^{-6}	

Данные флуктуационного теста были использованы для расчета скорости спонтанных мутаций на клеточное деление, используя долю культур, в которых не было мутантов совсем. Оцененная таким образом мутационная скорость (μ) составляла $5.2 \cdot 10^{-6}$ и $3.1 \cdot 10^{-6}$ мутантов на клеточное деление для *S. quadricauda* и *T. weissflogii*, соответственно.

В повторном эксперименте длительностью два месяца с момента добавления 2.5 мг/л хрома в set 1 эта скорость для *S. quadricauda* была уточнена и определена как $0.8 \cdot 10^{-6}$.

Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами других работ по адаптации водорослей к антропогенным загрязнителям водной среды, таким как антибиотики, гербициды, вещества военного использования и другим (Costas et al., 2001; Lypez-Rodas et al., 2001; Baos et al., 2002; Garcha-Villada et al., 2002, 2004; Flores-Moya et al., 2005). Оцененная нами скорость спонтанных мутаций $(0.8-5.2) \cdot 10^{-6}$ мутантов на клетку для *S. quadricauda* и $3.1 \cdot 10^{-6}$ для *T. weissflogii* была того же порядка (или на один порядок ниже или выше) значений, найденных другими авторами для резистентности ряда видов водорослей и цианобактерий к различным токсикантам. Присутствие резистентных клеток в популяции водорослей регулируется путем периодического появления мутантов и их элиминации вследствие отбора, создавая равновесную частоту - 3 резистентные клетки на 10^6 клеточных делений у исследованных нами видов. Такая фракция резистентных мутантов, по-видимому, достаточна, чтобы гарантировать адаптацию популяций водорослей к катастрофическому загрязнению водной среды, поскольку природные популяции водорослей состоят из относительно большого числа клеток. Тем не менее, мутации обычно подразумевают энергетическую плату, которая может влиять на выживание адаптированных популяций (Coustau et al., 2000). Так, изолированные, резистентные мутанты в отсутствии токсиканта в среде, имели пониженную скорость роста, нежели чувствительные клетки (Lypez-Rodas et al., 2007). Это энергетическая плата за резистентность. Таким образом, резистентные клетки водорослей могут выживать и развиваться в загрязненных водных экосистемах, но их вклад в первичную продукцию будет значительно ниже, по сравнению с чистыми экосистемами с чувствительными клетками водорослей.

Настоящее исследование является простой моделью адаптации водорослей к стрессовым факторам окружающей среды. Рассчитанная нами скорость появления резистентных мутантов ($\sim 10^{-6}$ мутантов на клеточное деление) и относительно быстрая скорость роста водорослей, по-видимому,

достаточны, чтобы гарантировать адаптацию микроводорослей к загрязнению водной среды. Резистентные клетки появляются случайно путем редких спонтанных мутаций во время репликации клеток еще до контакта с токсическим веществом. Резистентные мутанты сохраняются в отсутствие загрязнителя как результат баланса между новыми резистентными клетками, возникающими в результате спонтанных мутаций, и резистентными клетками, элиминированными естественным отбором, так что примерно 3 резистентных к хрому мутанта на миллион клеток постоянно присутствуют в популяции исследованных микроводорослей в отсутствие хрома. В определенных пределах виды микроводорослей выживают в слабо загрязненной среде в результате физиологической адаптации. При низких уровнях экспозиции металл-индуцированные эффекты могут быть скомпенсированы. Однако с увеличением концентрации загрязнителя физиологической адаптации оказывается недостаточно, и в этом случае генетическая вариабельность природной популяции может гарантировать выживание по крайней мере некоторым генотипам. Новые аллели, возникающие путем редких спонтанных мутаций в течение репликации при неселективных условиях, могут играть принципиальную роль в выживании микроводорослей в загрязненных условиях. Мутации являются фундаментальным источником генетической вариабельности, поскольку только мутации дают возможность появления новых адаптивных аллелей. Когда природные популяции впервые сталкиваются с новыми ксенобиотиками, внезапный токсический сброс их в окружающую среду может быть летальным для популяций. В такой ситуации только редкие спонтанные преадаптивные мутации могут гарантировать выживание популяций микроводорослей, если размер популяции достаточно большой.

Список литературы

- Прохоцкая В.Ю., Ипатова (Артюхова) В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф. Оценка степени адаптации лабораторной популяции микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. к действию бихромата калия // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. 2003. № 3. С. 37-42.
- Baas R., García-Villada L., Agrelo M. a. o. Short-term adaptation of microalgae in highly stressful environments: an experimental model analysing the resistance of *Scenedesmus intermedius* (Chlorophyceae) to the heavy metals mixture from the Aznalcollar mine spill // Eur. J. Phycol. 2002. V. 37. P. 593-600.
- Belfiore N.M., Anderson S.L. Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms: a review // Mutat. Res. 2001. V. 489. P. 97-122.
- Brown L.N., Robinson M.G., Hall B.D. Mechanisms for copper tolerance in *Amphora coffeaeformis*-Internal and external Binding // Mar. Biol. 1988. V. 97. P. 581-586.
- Costas E., Carrillo E., Ferrero L.M. a. o. Mutation of algae from sensitivity to resistance against environmental selective agents: the ecological genetics of *Dictyosphaerium chlorelloides* (Chlorophyceae) under lethal doses of 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea herbicide // Phycologia. 2001. V.40. P. 391-398.
- Coustau C., Chevillon C., Ffrench-Constant R. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? // Trends Ecol. Evol. 2000. V. 15. P. 378-383.
- Croot P.L., Mofett J.W., Brand L.E. Production of extracellular Cu complexing ligands by eucariotic phytoplankton in response to Cu stress // Limnol. Oceanogr. 2000. V. 45. P. 619-627.
- Ernst W.H.O., Verkleij A.C., Schat H. Metal tolerance in plants // Acta Bot. Neerl. 1992. V. 41. P. 229-248.
- Flores-Moya A., Costas E., Baces-Espaca E. a. o. Adaptation of *Spirogyra insignis* (Chlorophyta) to an extreme natural environment (sulphureous waters) through preselective mutations // New Phytol. 2005. V. 165. P. 655-661.
- Gaither L.A., Eide J. Eukaryotic zinc transporters and their regulation // BioMetals. 2001. V. 14. P. 251-270.
- García-Villada L., Lypéz-Rodas V., Baces-Espaca E. a. o. Evolution of microalgae in highly stressing environments: an experimental model analyzing the rapid adaptation of *Dictyosphaerium chlorelloides* (Chlorophyceae) from sensitivity to resistance against 2,4,6-trinitrotoluene by rare preselective mutations // J. Phycol. 2002. V. 38. P. 1074-1081.
- García-Villada L., Rico M., Altamirano M. a. o. Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*: characterization and future implications in the use of copper sulphate as an algicide // Water Res. 2004. V. 38. P. 2207-2213.
- Gekeler W., Grill E., Winnacker E.L., Zenk M.H. Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes // Archs. Microbiol. 1988. V. 150. P. 197-202.
- Knauer K., Behra R., Hemond H. Toxicity of inorganic and methylated arsenic to algal communities from lakes along an arsenic contamination gradient // Aquat. Toxicol. 1999. V. 46. P. 221-230.
- Lypéz-Rodas V., Agrelo M., Carrillo E. a. o. Resistance of microalgae to modern water contaminants as the result of rare spontaneous mutations // Eur. J. Phycol. 2001. V. 36. P. 179-190.
- Lypéz-Rodas V., Flores-Moya A., Maneiro E. a. o. Resistance to glyphosate in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* as result of pre-selective mutations // Evol. Ecol. 2007. V. 21. P. 535-548.
- Luria S.E., Delbrück M. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance // Genetics. 1943. V. 28. P. 491-511.
- Pawlik-Skowronska B., Skowronski T. Freshwater algae // Metals in the Environment. New York, Marcel Dekker. 2001. P. 59-94.
- Prokhot'skaya V.Yu., Ipatova V.I., Dmitrieva A.G. Intrapopulation Changes of Algae under Toxic Exposure // Proc. Int. Conf. on Complex Systems 2006. <http://necsi.org/events/iccs6/viewpaper.php?id=50>.

ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПХБ ПРИ ИХ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ С КОРМОМ НА МОЛОДЬ ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS* L. В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Т.Б. Камшилова, Г.М. Чуйко

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок Ярославской обл.

E-mail: ktb@ibiw.yaroslavl.ru

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) относятся к хлорорганическим соединениям, являются суперэкоотоксикантами, распространяются далеко за пределы своего первоначального местонахождения и на уровне микропримесей оказывают негативное влияние, связанное с повреждением мембран клеток и нарушением всех видов обмена в организме человека и животных. В силу своей низкой растворимости в воде и высокой липофильности ПХБ поступают и накапливаются в тканях и органах водных животных, включая рыб, главным образом трофическим путем. По мере включения ПХБ в биологические пищевые цепи происходит прогрессивная потеря низкохлорированных компонентов, благодаря их селективной биотрансформации. Поэтому в организме животных накапливаются наиболее токсичные высокохлорированные ПХБ (Borlakoglu, Naegele, 1991; Авхименко, 2000; Клюев, Бродский, 2000).

Накапливаясь в рыбах, как в одном из высших звеньев трофических сетей водных экосистем, ПХБ оказывают негативное влияние на их морфо-функциональное состояние. Установлено, что при питании рыб кормом, содержащем ПХБ, наблюдается снижение показателей линейно-массового роста, жизнеспособности развивающейся молоди (Black et al., 1998; Oern et al., 1998; Matta, 2000). В экспериментальных работах доказано эмбриотоксическое, иммуносупрессивное, тератогенное, мутагенное и генотоксическое действие ПХБ на рыб (Ankley et al., 1989; Black et al., 1998). Одним из методов, определяющих мутагенные и генотоксические свойства различных факторов, воздействующих на организм животных, является микроядерный тест (Захидов и др., 1986; Al-Sabti, Metcalfe, 1995). Показано, что при инъекции половозрелым самцам плотвы *Rutilus rutilus* (L.) одного из коммерческих препаратов ПХБ, Арохлора 1254, в дозах 10, 50 и 100 мг/кг у рыб отмечается увеличение количества микроядер в эритроцитах. У потомства, полученного от этих самцов, наблюдается не только повышенное содержание микроядер, но и увеличение доли аномальных митозов в сперматогониях (Изюмов и др., 2003).

Цель работы – используя микроядерный тест, исследовать генотоксическое и мутагенное действие ПХБ при их поступлении в организм рыб с кормом в хроническом эксперименте.

Исследования проводились на молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.), полученной в лабораторных условиях путем искусственного оплодотворения производителей, выловленных из природы. До начала эксперимента мальков выращивали в прудах с естественным кормом на экспериментально-прудовой базе ИБВВ РАН с мая 2006 г по сентябрь 2007 г.

В эксперименте использовали рыб в возрасте 1+ со средней массой 20.9 ± 2.7 г и длиной 11.6 ± 0.6 см. В двух 200-литровых аквариумах с принудительно аэрируемой отстоянной артезианской водой содержали по 20 особей. Рыб ежедневно кормили фаршем с общим суммарным содержанием ПХБ (степень хлорирования 3-7) 3.7 и 50.8 нг/г сырой массы с рационом 10% от общей массы рыб в эксперименте. Фарш готовили из мышц лещей, выловленных соответственно в Моложском (контроль) и Шекснинском (опыт) плесах Рыбинского водохранилища. Ранее было установлено, что эти два плеса значительно отличаются по степени загрязнения ПХБ различных компонентов экосистемы, включая рыб (Козловская, Герман, 1997). Общее содержание ПХБ в корме определяли методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения в лаборатории аналитической экотоксикологии (ИПЭЭ РАН). До начала эксперимента всех рыб в течение 10 дней адаптировали к лабораторным условиям и кормили контрольным фаршем. По истечении адаптивного периода и с началом эксперимента контрольных и опытных рыб переводили соответственно на питание фаршем с низким и высоким содержанием ПХБ. Мазки периферической крови отбирались методом каудозектомии в начале эксперимента (0 сут), через 52 и 169 суток. Приготовленные мазки фиксировали, окрашивали по Романовскому-Гимза и просматривали под иммерсионным объективом. Подсчитывали частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами (Захидов и др., 1986) и количество

амитозных клеток (Иванова, 1983), а также число рыб с этими цитоморфологическими отклонениями. Подсчет микроядер проводили на 1000 эритроцитов и выражали в промилле. Число амитотически делящихся эритроцитов оценивали на 500 клетках и выражали в процентах. Данные представлены в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm m_x$). Достоверность различий оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест, $p=0.05$). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 7.0.

Данные подсчетов частоты встречаемости клеток с микроядрами и амитотически делящихся эритроцитов в периферической крови рыб приведены в таблице.

Таблица. Цитоморфологические показатели периферической крови годовиков плотвы ($\bar{x} \pm m_x$)

Экспозиция, сутки	Общее число рыб	Число рыб с микроядрами	Микроядра, (%)	Число рыб с амитозами	Амитоз, (%)
0	4	3	1.3 ± 0.5^1	1	0.4
52	$\frac{5}{5}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{3.6 \pm 0.7^1}{13.2 \pm 3.6^2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{0.4}{0.30 \pm 0.24^1}$
169	$\frac{3}{5}$	$\frac{3}{5}$	$\frac{3.0 \pm 0.6^1}{6.8 \pm 2.2^1}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{0.2}{0.36 \pm 0.16^1}$

Над чертой – контроль, под чертой – опыт; одинаковые цифры надстрочного индекса указывают на отсутствие достоверных отличий между средними (ANOVA, LSD-тест, $p=0.05$).

Микроядра в эритроцитах крови имели все исследованные рыбы за исключением одной в начале эксперимента. У контрольных рыб средняя доля клеток с микроядрами варьировала незначительно от 1.3 до 3.6‰ и достоверно не различалась в течение всего эксперимента. Это хорошо согласуется с данными, полученными ранее. Показано, что в норме частота встречаемости микроядер в эритроцитах у плотвы варьирует в зависимости от возраста от 0.9 до 3.11‰, увеличиваясь у взрослых рыб (Изюмов и др., 2003). У опытных рыб доля индуцированных микроядер в эритроцитах хотя и была заметно выше в течение всего опыта, однако достоверные отличия от контрольной группы зафиксированы только на 52 сутки эксперимента: 13.2 и 3.6 ‰, соответственно. Скорее всего, отсутствие достоверных различий при высоких средних значениях этого показателя на 169 сутки эксперимента объясняется высоким уровнем вариабельности данного показателя, особенно у опытных рыб. Что в свою очередь может быть связано с индивидуальными особенностями питания рыб и накопления ими ПХБ. Микроядра в эритроцитах формируются, как известно, в поздней телофазе из ацентрических фрагментов хромосом (Al-Sabti, Metcalfe, 1995). Выявленное повышение их доли у опытных рыб указывает на цитогенетические нарушения и свидетельствует о проявлении мутагенного эффекта ПХБ в соматических клетках плотвы. Ранее в экспериментах на плотве увеличение частоты встречаемости микроядер в эритроцитах продемонстрировано при инъекции одного из коммерческих препаратов ПХБ, Арохлора 1254, в дозах 10, 50 и 100 мг/кг веса. Дозозависимого эффекта не отмечено. Доза в 1 мг/кг эффекта не имела (Изюмов и др., 2003).

Амитотически делящиеся эритроциты в течение эксперимента наблюдались не у всех исследованных рыб. В контроле клетки с амитозами выявлены лишь у единичных экземпляров, тогда как в опыте – у большего количества рыб. Причем их число возрастало с увеличением времени экспозиции и к концу эксперимента все опытные рыбы имели амитозные клетки. Однако достоверных различий в частоте встречаемости амитотически делящихся эритроцитов как между контрольной и опытной группами рыб, так и внутри каждой группы выявить не удалось. Известно, что во многих случаях амитоз сопутствует компенсаторным процессам, протекающим в тканях: например, при функциональных перегрузках, голодании, после отравления или денервации. Амитоз эритроцитов указывает на развитие дегенеративных процессов в организме рыб, обусловленных разными причинами, в том числе и химическими токсикозами (Чеботарева и др. 2003, Таликина и др. 2004). Показано, что при токсическом процессе происходит увеличение концентрации гемоглобина в крови рыб (Моисеенко, 1998). Есть мнение, что повышение частоты амитотического деления эритроцитов у серебряного караса в нужный момент приводит к увеличению их количества, и, как следствие, к увеличению общего объема гемоглобина (Иванова, 1983). Такая реакция эритроцитов может иметь компенсаторный характер и служить элементом адаптации организма к гипоксии, возникающей при различных типах токсикозов. Хотя в экспериментах с кормлением рыб фаршем, содержащим ПХБ, достоверное повышение средней доли амитотически делящихся эритроцитов у

плотвы не выявлено, увеличение числа рыб, у которых этот эффект наблюдался, свидетельствует о наличии эффекта ПХБ. Возможно, что при продлении эксперимента выраженность эффекта будет более значительной и различия станут достоверными.

Таким образом, увеличение частоты встречаемости микроядер и повышение численности рыб с амитозами в эритроцитах периферической крови свидетельствуют о цитогенетических нарушениях у плотвы, получавшей с кормом ПХБ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-05-00805.

Список литературы

- Авхименко М.М. Медицинские и экологические последствия загрязнения окружающей среды полихлорированными бифенилами // В кн. Арский Ю.М. (ред.). Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века. Инф. вып. - № 5 -М.: ВИНТИ, 2000. - С. 14-31.
- Захидов С.Т., Позняков С.П., Урываева И.В., Хамидов Д.Х. Метод учета микроядер в изучении мутагенных свойств пестицидов// Узбек. биол. ж. - 1986. - № 4. - С.54-57.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. - 184с.
- Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г., Чеботарева Ю.В., Чуйко Г.М. Влияние Арохлора 1254 на эмбриональную гибель, количество микроядер и митоз в родительском и первом поколениях плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Биол. внутр. вод. - 2003. - №4. - С. 85-91.
- Клюев Н.А., Бродский Е.С. Определение полихлорированных бифенилов в окружающей среде и биоте // В кн. Арский Ю.М. (ред.). Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века. Инф. вып. № 5 М.: ВИНТИ, 2000. - С. 31-63.
- Козловская В.И., Герман А.В. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. -1997. - № 5. - С. 563-570.
- Моисеенко Т.И. Гематологические показатели рыб в оценке их токсикозов // Вопросы ихтиологии. - 1998. - Т. 38. - №3. - С. 371-380.
- Таликина М.Г., Комов В.Т., Чеботарева Ю.В., Гремячих В.А. Комплексная оценка длительного воздействия ртути на молодь плотвы *Rutilus rutilus* в экспериментальных условиях // Вопр. ихтиол. - 2004. - Т. 44. - №6. - С. 847-853.
- Чеботарева Ю.В., Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г. Некоторые особенности картины крови сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсикантов на спермии производителей // Вопр. ихтиол. - 2003. - Т. 43. - №5. - С. 711-714.
- Al-Sabti K., Metcalfe C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water // Mutat. Res. - 1995.- V.343.- P. 121 -135.
- Ankley G.T., Tillitt D.E., Gooch J.W., Giesy J. Hepatic enzyme systems as biochemical indicators of the effects of contaminants on reproduction of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Comp. Biochem. Physiol.- 1989. -V. 94C.- № 1.- P. 235-242.
- Black D.E., Gutjarh-Gobell R., Pruell R.J. et al. Effects of a mixture of non-ortho- and mono-ortho-polychlorinated biphenyls on reproduction in *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus) // Environ. Toxicol. Chem. -1998. -V. 17.- № 7.- P. 1396-1404.
- Borlakoglu J.T., Heagele K. D. Comparative aspects on the bioaccumulation, metabolism and toxicity with PCBs // Comp. Biochem. Physiol. - 1991. - V. 100C. - №3. - P. 327-338.
- Matta M.B. Reproductive and Early Life Stage Effects of Bioaccumulative Contaminants: PCBs and Mercury //Dissertation Abstracts International Part B: Science and Engineering.- 2000.- V. 60.- № 8.- P. 3636.
- Oern S., Andersson P.L., Foerlin L. et al. The Impact on Reproduction of an Orally Administered Mixture of Selected PCBs in Zebrafish (*Danio rerio*) // Arch. Environ. Contam. Toxicol. -1998.-V. 35.- № 52.- P. 52-57.

ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ СЫРОЙ КАСПИЙСКОЙ НЕФТИ И ДИЭТАНОЛАМИНА НА ОРГАНИЗМ МОЛОДИ СЕВРЮГИ

Н.В.Козлова

ФГОУ ВПО «АГТУ»

414025, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, Россия, natali19_12@mail.ru

В настоящее время Каспийское море является местом интенсивных разведки и разработки многочисленных нефтяных месторождений. По оценкам Международного института стратегических исследований в Лондоне, потенциальные запасы нефти Каспия составляют 31.8 млрд.т. (Кенджигалиев, Канбетов, 2007). При этом нефтяные компании для минимизации поступления загрязняющих веществ в морскую среду используют щадящие рецептуры буровых растворов и принцип «нулевого сброса», но нельзя не учитывать многочисленные случаи аварийных ситуаций,

связанных как с кратковременным (залповым) выбросом сырой нефти, так и с ее транспортировкой. С эколого-токсикологической позиций даже небольшие концентрации нефти представляют угрозу морской биоте. В связи с этим представляется необходимым сбор информации о влиянии нефти на гидробионтов на разных стадиях развития, в первую очередь, на ценные промысловые виды рыб (Велибекова, Рустамов, 2007).

Целью исследования явилось изучение воздействия сырой каспийской нефти, а также комплекса нефти и диэтанолamina (ДЭА) на организм молоди севрюги. Степень влияния химических веществ на рыб оценивали по некоторым физиолого - биохимическим и морфологическим показателям.

Материалом для исследования послужила молодь севрюги (*Acipenser stellatus*) возрастом 45 суток. Эксперименты по изучению степени воздействия химических веществ на рыб проводили по общепринятым методам исследований (Строганов, 1971, Лесников, 1971, Лукьяненко и др., 1989).

Контрольный материал содержался в чистой отстоянной воде без добавления токсикантов. Опыты проводили в 70-ти литровых емкостях при плотности посадки 20 экз. на 1 аквариум, при постоянной аэрации воды, температуре +23⁰С и кормлении рыб живыми и искусственными кормами. Время экспозиции составило 10 суток. В процессе эксперимента вели регулярные наблюдения за подопытным материалом. С этой целью исследовали двигательную активность, реакцию на раздражители, частоту дыхания, размерно-весовые показатели, время и процент гибели. Эксперимент проводили в двух повторностях. При появлении нарушений активности жизнедеятельности севрюги определяли содержание гемоглобина в периферической крови рыб гемиглобинцианидным методом, общий белок в сыворотке крови и мышцах — биуретовым методом. Морфоструктуру биожидкости мышц исследовали методом краевой дегидратации (Каниева, Аюпова, 2004). Наблюдаемые текстуры оценивали в соответствии с методическими рекомендациями МЗ РФ № 96/165 «Формообразование кристаллических структур биологических жидкостей при различных видах патологии» (Шатохина, Шабалин, 1997). Материал статистически обработан по общепринятым методикам.

Влияние химических веществ испытывали в сериях опытов. Была выбрана следующая шкала концентраций: I - 1 мг/л нефти; II - 1 мг/л нефти+1 мг/л ДЭА; III - 10 мг/л нефти; IV - 10 мг/л нефти+10 мг/л ДЭА; V - 100 мг/л нефти; VI - 100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА. Сырая нефть использовалась с Хвалынского месторождения Каспийского моря, ДЭА - с Астраханского газоперерабатывающего завода (АГПЗ).

Выбор испытываемых концентраций токсикантов, во много раз превышающих ПДК нефтепродуктов (ГОСТ 38.0137-85 – 0.05 мг/л), обусловлен рядом причин. Река Волга определяет ведущую роль России в обеспечении транспортных связей стран, тяготеющих к Волго-Каспийскому региону, в том числе по ней проходит транспортировка углеводородного сырья с месторождений Каспийского моря. Как известно, именно транспортировка нефти сопряжена с риском аварий танкеров и залповым выбросом сырой нефти в водную среду. В случае аварийного разлива нефти, транспортируемой по р.Волге, в реку попадут ее максимальные концентрации. Как известно, высокой экологической опасностью характеризуются продукты трансформации нефти в природной среде в процессе их дальнейшего комбинированного взаимодействия с другими токсикантами (Абдурахманов, Ахмедова, 2005). Другим органическим токсикантом, поступление которого в рыбохозяйственные водоемы не исключено в результате технологических и аварийных утечек АГПЗ является ДЭА, обладающий токсическими свойствами для рыб (Каниева, Тихомиров, 2002). ПДК_{р.х.} ДЭА составляет 0.01 мг/л (Филенко, 1988).

Результаты эксперимента показали, что в первые минуты в растворах нефти и ДЭА рыба проявляла большее, чем в контроле беспокойство, интенсивно двигалась в толще воды, совершая броски. Через 2 часа возбуждение опытных рыб снизилось, но реакции на раздражители (свет, стук, прикосновение) были значительно выше контроля. Частота дыхания нарастала по мере увеличения концентраций химических веществ и превышала до 80 уд./мин. таковые показатели в контроле. Уже на 2-е сутки в концентрациях 100 мг/л нефти, 100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА отмечали погибшие экземпляры. Реакция на раздражители с увеличением концентрации токсикантов и времени пребывания в них мальков постепенно ослабевала, и к концу пятых суток в растворах 100 мг/л нефти и 100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА интенсивность дыхания молоди севрюги значительно снизилась на 28 и 55 уд./мин соответственно первого дня эксперимента. Эти процессы сопровождалось снижением интенсивности питания рыб и заглатыванием атмосферного воздуха с поверхности аквариума. В других концентрациях токсикантов поведение и частота дыхания рыб практически не изменялись. На 10-е сутки во всех вариантах опыта наблюдали резкое снижение дыхания на 22-82 уд./мин. относительно начала эксперимента, потерю равновесия, что в итоге привело к гибели молоди севрюги (табл.1).

Таблица 1. Морфометрические показатели и выживаемость молоди севрюги к концу эксперимента

Вариант опыта	Показатели		
	Длина тела, см.	Масса, г.	Выживаемость, %
Контроль	7.64±0.2112	1.16±0.1833	95.0
1 мг/л нефти	7.48±0.1855	0.96±0.1661	83.0
1 мг/л нефти+1 мг/л ДЭА	7.42±0.1497	0.84±0.0748	60.0
10 мг/л нефти	7.36±0.0600	0.78±0.0860	56.0
10 мг/л нефти+10 мг/л ДЭА	7.36±0.0400	0.82±0.0583	61.0
100 мг/л нефти	7.34±0.0245	0.70±0.0632	51.0
100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА	7.3±0.0948	0.64±0.06	48.0

Погибшие особи находились на поверхности аквариумов с широко раскрытым ртом и жаберными крышками, что свидетельствовало о симптомах асфиксии. Покровы тела были ослизнены, в области жаберных крышек и на голове зафиксированы кровоизлияния. Анализ опытного материала к концу эксперимента, показал, что по сравнению с контролем, у опытных особей наблюдалось отставание в массе и длине тела (табл. 1).

Анализ данных, полученных при исследовании концентрации гемоглобина крови, общего сывороточного и мышечного белков, а также морфоструктуры биожидкости мышц выявил наличие отклонений у опытных рыб по всем показателям под влиянием токсикантов. Из литературных данных известно, что сырая каспийская нефть приводит к выраженным функциональным и патологическим изменениям физиолого-биохимических показателей кровеносной системы рыб (Курбанова и др., 2002, Палатников и др., 2005).

Результаты наших исследований показали, что количество гемоглобина у севрюги, содержащихся в растворах сырой нефти 1 мг/л, 10 мг/л и 100 мг/л снизилось на 20.94%; 28.44% и 35.06% соответственно, относительно контроля (табл.2). Анализ комплексного воздействия нефти и ДЭА в аналогичных концентрациях показал снижение количества гемоглобина в крови молоди на 27.76%; 28.47%; 43.53% соответственно по отношению к контролю. Статистический анализ позволил выявить достоверные различия ($p < 0.05$) между контролем и опытными вариантами. Совместное действие токсикантов на севрюгу вызвало значительное снижение среднего уровня гемоглобина в минимальной концентрации (1 мг/л нефти+1 мг/л ДЭА) – на 8.63%, и в максимальной (100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА) – на 13.04% относительно варианта опыта с чистой нефтью той же дозы. При сравнении влияния 10 мг/л сырой нефти и 10 мг/л нефти+10 мг/л ДЭА на рыб содержание гемоглобина в крови практически не изменялось.

Белки выполняют многочисленные функции в организме рыб, являясь главной составной частью всех клеток и межклеточных структур. В работах многих исследователей показано, что токсиканты вызывают снижение количества белков в органах и тканях рыб, а значительные их потери в организме приводят к снижению жизнестойкости и могут сопровождаться гибелью гидробионтов (Лукьяненко, 1983; Металлов и др., 1990; Каниева, Воробьев, 2006).

Результаты наших исследований показали, что под воздействием токсикантов общий белок в сыворотке крови севрюги понижался относительно контроля. С увеличением концентрации нефти (1;10;100 мг/л) обнаружено его снижение на 12.6%; 27.59%; 52.05% соответственно по отношению к контрольным особям. Комплексное влияние на молодь нефти и ДЭА в вышеуказанных концентрациях приводило также к уменьшению общего белка на 39.27%; 38.79%; 58.14% по сравнению с контрольным вариантом. При этом во всех вариантах опыта по отношению к контролю различия статистически достоверны ($p < 0.05$). При сравнении влияния растворов нефти и комплексов нефти с ДЭА в одинаковых концентрациях более угнетающее воздействие на организм севрюги оказывают последние, о чем свидетельствует снижение уровня белка в сыворотке крови (табл.2).

Установлена положительная корреляция между изменением количества гемоглобина в крови и общего белка в сыворотке крови у молоди севрюги, как в контроле, так и под влиянием токсикантов в концентрациях 1 мг/л нефти; 1 мг/л нефти+1 мг/л ДЭА; 10 мг/л нефти+10 мг/л ДЭА; 100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА

Таблица 2. Изменение физиолого-биохимических показателей крови молоди севрюги под воздействием токсикантов

Вариант опыта	Гемоглобин, г/л	Общий белок в сыворотке крови, г/л	Коэффициент корреляции (r)
Контроль	34.00±0.2887	33.64±0.2603	0.9979
1 мг/л нефти	26.88±1.6628*	29.40±0.5653*	0.9799
1 мг/л нефти+1 мг/л ДЭА	24.56±2.4269*	20.43±0.3306*	0.6356
10 мг/л нефти	24.33±2.4993*	24.36±1.0893*	-0.8136
10 мг/л нефти+10 мг/л ДЭА	24.32±2.7897*	20.59±1.4936*	0.5353
100 мг/л нефти	22.08±0.5542*	16.13±1.6198*	-0.2655
100 мг/л нефти+100 мг/л ДЭА	19.2±1.6628*	14.08±0.9831*	0.7869

Примечание: *величины, достоверно отличающиеся от соответствующих значений в контроле ($p < 0.05$)

Биохимические методы исследования мышечных белков широко используются при изучении проблем познания путей адаптации организмов по всему разнообразию условий окружающей среды. При работе с довольно лабильными биохимическими показателями необходимо представлять себе степень их изменчивости, чтобы на основании полученных результатов делать заключения (Кузьмин, 1994).

В результате влияния различных концентраций химических веществ на молодь севрюги содержание общего белка в мышцах рыб уменьшалось от 29.87% до 51.29% по отношению к контролю ($p < 0.05$). При этом значительные изменения зафиксированы у молоди, подвергшейся влиянию нефти (рис.1).

Известно, что изменения количества общего белка в организме рыб непосредственно связаны с отклонениями морфоструктур биологической жидкости в их органах и тканях (Каниева, Воробьев, 2006).

Морфологическая картина биожидкости мышц контрольных особей молоди севрюги представлена нитевидными, пластинчатыми и полиморфными (крупными и мелкими) структурами. Цветные текстуры не зарегистрированы (рис.1).

Результаты исследований морфоструктуры мышечной ткани рыб, подвергшейся воздействию, как сырой каспийской нефти, так и комплексу нефти и ДЭА, выявили снижение анизотропных и повышение изотропных структур. Наблюдали нитевидные, полиморфные, игольчатые, пластинчатые текстуры и сферолиты. При этом отмечена тенденция проявления цветности в биожидкости мышц рыб, подвергшихся влиянию сырой каспийской нефти, и аморфизации текстур под влиянием комплекса нефти и ДЭА. Анализ морфоструктуры мышц показал, что с увеличением концентрации сырой каспийской нефти повышался процент цветных текстур в биожидкости, и лишь при 10 мг/л наблюдалась обратная картина, что возможно, свидетельствует о механизмах адаптации организма к токсиканту.

Отмечена отрицательная корреляция между уровнем цветных кристаллов и общим уровнем белка в мышечной ткани, что соответственно составило: -0.4977; -0.9857 и - 0.8494 под влиянием нефти 1 мг/л; 10 мг/л; 100 мг/л. Подытоживая данные корреляционного анализа, можно предположить, что снижение общего белка приводит к увеличению цветности в мышцах молоди севрюги, что свидетельствует о декомпенсированном состоянии гомеостаза организма под влиянием каспийской нефти.

Таким образом, воздействие нефти и комплекса нефти с ДЭА в изученных концентрациях вызывает существенные изменения физиолого-биохимических и морфологических показателей организма молоди севрюги. Характер этих изменений по исследуемым показателям неоднозначен, вызывает значительный расход всех компенсаторных резервов и возможностей организма в условиях интоксикации, что является одной из причин замедления роста и развития, а в конечном итоге приводящей к гибели рыб.

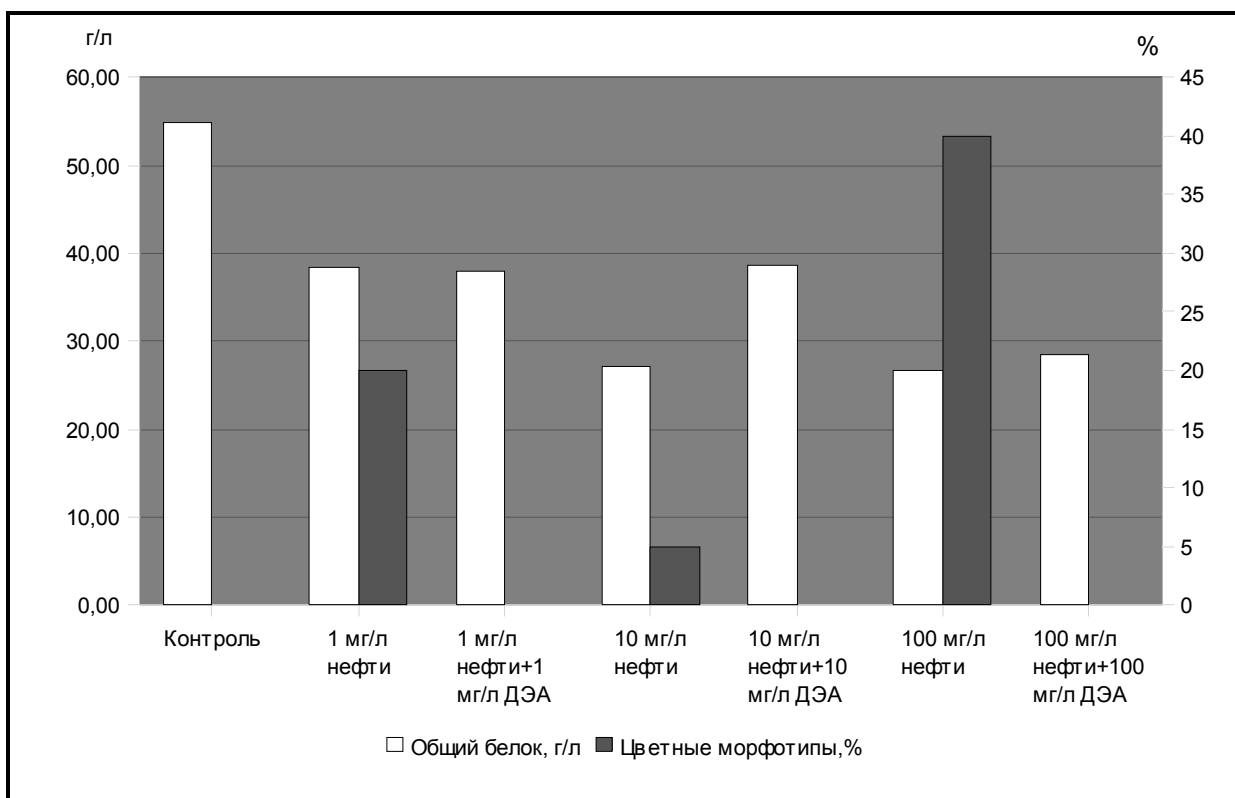


Рис. 1. Изменение количества общего белка и цветных структур биожидкости мышечной ткани молоди севрюги под влиянием токсикантов

Поступление токсикантов в случае аварийных ситуациях в Волгу в исследуемых концентрациях может существенно снизить интенсивность естественного воспроизводства и запасы данного вида в Волго-Каспийском бассейне. Во избежание этого необходимо усилить контроль за сточными водами АГПЗ и транспортировкой углеводородного сырья в бассейне р. Волги.

Список литературы

- А.с. 2258926. Способ оценки токсического действия химических веществ на органы и ткани рыб. Н.А. Каниева, А.К. Аюпова // Изобретение. – 2004. – 5 с.
- Абдурахманов Г.М., Ахмедова Г.А. Влияние загрязнения на биологическое разнообразие Волго-Каспийского бассейна // Материалы докладов Международно-практической конференции «Проблемы сохранения Каспия в условиях нефтегазовых месторождений», 16-18 февраля 2005. – Астрахань: КаспНИРХ, 2005. – С.11-13.
- Велибекова С.Р., Рустамов Э.К. Токсическое воздействие сырой нефти на печеночную ткань куринского осетра // Материалы докладов II Международно-практической конференции «Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений», 28-30 августа 2007. – Астрахань: КаспНИРХ, 2007.- С. 30-31.
- Каниева Н.А., Воробьев В.И. Влияние каспийской нефти на рыб. – Астрахань: АГТУ, 2006. – 180 с.
- Каниева Н.А., Тихомиров А.М. Влияние диэтанолamina и токсикопротекторных свойств эпина на поведенческие и морфологические показатели личинок севрюги. // Вопросы рыболовства. – Т.3. №3 (11).- 2002.- С. 522-533.
- Кенджигалиев А.К., Канбетов А.Ш. Влияние пневмоисточников на состояние донных отложений и водную среду // Материалы докладов II Международно-практической конференции «Проблемы сохранения экосистемы Каспийского моря в условиях освоения нефтегазовых месторождений», 28-30 августа 2007. – Астрахань: КаспНИРХ, 2007.- С.53-56.
- Кузьмин Е.В. Сравнительный анализ фракционного состава саркоплазматических мышечных белков различных представителей семейства осетровых // Вопросы ихтиологии. – 1994. – Т.34. – №4. – С. 548–556.
- Курбанова, Г.С., Костров Б.П., Курапов А.А., Горбунова Н.В. Влияние нефти, газоконденсата и отходов бурения на показатели крови рыб // Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты за 2002 г. - Астрахань:КаспНИРХ, 2002. – С. 109-113.
- Лесников Л.А. Методика оценки влияния воды из природных водоемов на *Daphnia magna* // Методики

- биологических исследований по водной токсикологии. – М.: Наука, 1971. – С. 157–168.
- Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – С.320.
- Лукьяненко В.И.; Карпович Т. А. Биотестирование на рыбах // Методическая рекомендация. – Рыбинск, 1989. – С.96.
- Металлов Г.Ф., Гераскин П.П., Шелухин Г.К., Аксенов В.П. Физиолого–биохимическая оценка состояния русского осетра в современных условиях Волго–Каспия. – В кн.: Физиолого-биохимический статус волго-каспийских осетровых в норме и при расслоении мышечной ткани (кумулятивный политоксикоз). – Рыбинск, 1990. – С. 181–187.
- Палатников Г.М., Гасанзаде А.А., Касимов Р.Ю. Токсическое влияние сырой нефти на молодь персидского осетра. // Материалы докладов Международно-практической конференции «Проблемы сохранения Каспия в условиях нефтегазовых месторождений», 16-18 февраля 2005. – Астрахань: КаспНИРХ, 2005. – С. 195-197.
- Строганов Н.С. Методика определения токсичности водной среды. – М.: Наука, 1971. – с.14-60.
- Филленко О.Ф. Водная токсикология. - М.: Черноголовка, 1988. - с.154.
- Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Клиническая кристаллография: становление, проблемы, перспективы // Кристаллографические методы исследования в медицине: Сб. науч. тр.- М., 1997.- с.23-25.

БИОИНДИКАЦИЯ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМА В-11 ТЕЧЕНСКОГО КАСКАДА ВОДОЕМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.) И ОКУНЯ (*PERCA FLUFIAFILIS* L.)

И.А. Коломиец¹, Л.В. Дерябина¹, Г.А. Тряпицына¹, С.С. Андреев¹, О.Н. Александрова², Е.А. Пряхин¹

¹ФГУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины»

г. Челябинск, Россия, kolomiets_irin@rambler.ru

²ГОУ ВПО «Уральский государственный университет»

г. Екатеринбург, Россия

Перед предприятием ФГУП «ПО «Маяк» (Челябинская область) с момента создания в конце 40-х гг. ставились беспрецедентно сложные научно-технические и производственные задачи по созданию компонентов ядерного оружия. В течение десятилетий достижение военно-политических целей отодвигало на второй план задачи охраны окружающей среды.

На предприятии существует восемь водоемов-хранилищ, которые эксплуатируются в настоящее время. Основные из них это – водоемы В-3, В-4, В-10, В-11 (Теченский каскад водоемов), водоем В-17 (Старое Болото) и водоем В-9 (оз. Карачай).

Искусственные водоемы В-3, В-4, В-10 и В-11, образующие Теченский каскад водоемов были созданы путем перекрытия русла р. Теча земляными плотинами. Водоемы В-3 (Кокшаровский пруд) и В-4 (Метлинский пруд) существовали до образования «ПО «Маяк», водоемы В-10 и В-11 были созданы в верховьях р. Теча в 50–60-х гг. с целью локализации и хранения больших объемов жидких радиоактивных отходов [5]. Водоем В-11 является замыкающим в системе Теченского каскада водоемов и эксплуатируется в бессточном режиме. Информация, полученная в ходе комплексного мониторинга данной водной экосистемы, представляется важной для разработки стратегии безопасной эксплуатации Теченского каскада водоемов. Экосистемы этих водоемов в течение более чем 40 лет подвергаются радиационному воздействию. Несмотря на столь длительный срок, состояние биоты этих водоемов изучено недостаточно. В частности, проводилось ограниченное количество работ по оценке генотоксических эффектов у гидробионтов.

Биоиндикация представляет собой систему оценки степени загрязнения водоемов. Основой задачей биоиндикации является разработка методов и критериев, которые могли бы адекватно отражать уровень антропогенных воздействий с учетом комплексного характера загрязнения и диагностировать ранние нарушения в наиболее чувствительных компонентах биотических сообществ. Для эффективной организации экологического мониторинга радиоактивно загрязненных водных экосистем в систему мониторинга должна быть включена биологическая индикация с использованием биомаркеров [6, 7]. Долю клеток с хромосомными перестройками часто используют в качестве количественной характеристики генотоксического действия радиационного фактора [8]. Наиболее радиочувствительными организмами в водных экосистемах являются рыбы.

Целью нашего исследования являлось проведение сравнительного анализа частоты микроядер в периферической крови у рыб, на протяжении нескольких поколений живущих в условиях радиационного загрязнения водоема, и у рыб из водоема сравнения.

Объектом исследования служили рыбы водоема В-11 – плотва (*Rutilus rutilus L.*) и окунь (*Perca fluviatilis L.*) – распространенные виды пресноводных рыб умеренных и субарктических широт водоемов Европы и Азии [1]. В качестве контроля использовали рыб этих же видов, выловленных в Шершневском водохранилище, которое представляет собой искусственный водоем на р. Миасс, предназначенный для водоснабжения г. Челябинска, и не испытывает существенного техногенного загрязнения.

Отлов рыбы осуществляли постоянным набором ставных жаберных сетей с размером ячеи 30 и 40 мм. После отлова рыбу сортировали по видам и раскладывали на поддонах. Взвешивание рыбы производили на электронных весах с точностью до 1 г. Каждую рыбу помещали на измерительную доску и фотографировали. После этого отбирали кровь из хвостовой вены живых рыб и делали мазки. Затем рыбу засаливали, упаковывали в герметичные полиэтиленовые пакеты и помещали в оцинкованные бачки, после чего транспортировали в лабораторию для анализа.

Радиохимический анализ проб воды и донных отложений проводился Отделом Внешней среды ФГУН УНПЦ РМ. Пробоподготовку проводили согласно методическим рекомендациям по санитарному контролю за содержанием радиоактивных веществ в объектах внешней среды [4].

Концентрация ^{137}Cs в различных компонентах экосистемы водоема В-11 определялась гамма-спектрометрическим методом на установке с полупроводниковым детектором ДГДК-80В-3 и компьютеризированным анализатором типа LP-4900В фирмы Nokia. Погрешность измерений не превышала 20%. Концентрация ^{90}Sr в пробах определялась посредством радиохимического выделения ^{90}Y с последующим измерением его активности на малофоновой β -метрической установке типа УМФ-1500 и УМФ-2000 и пламенно-фотометрическим контролем выхода носителя стронция. Погрешность измерения ^{90}Sr составляла 20% при активности $<0,7\text{Бк/г}$, и 10% при больших активностях.

Расчет мощности поглощенных доз для рыбы, обусловленных внешним и внутренним облучением проводили с помощью программного пакета RESRAD-BIOTA v.1.21 [9]. Расчет поглощенных внутренних доз проводился по удельной активности радионуклидов в тканях. Пищевые цепочки при расчете доз не учитывались. Рассматривалось 2 варианта исходных данных:

Вариант 1 – геометрия при расчете доз внутреннего и внешнего облучения принималась одинаковой (принимали, что средняя удельная активность ^{90}Sr в тканях составляет 10000 Бк/кг, а ^{137}Cs – 500 Бк/кг);

Вариант 2 – геометрия при расчете доз внутреннего и внешнего облучения принималась различной (только кости) (принимали, что средняя удельная активность ^{90}Sr в костях составляет 100000 Бк/кг, а ^{137}Cs – 500 Бк/кг).

Исходные данные для расчета доз облучения рыбы представлены в таблице 1.

Таблица 1. Содержание радионуклидов в воде и донных отложениях водоема В-11

Радионуклид	Вода, Бк/л	Донные отложения, Бк/кг
^{90}Sr	1400	300000
^{137}Cs	1	64000

Расчет велся для рыбы с формой эллипсоида вращения и характерными размерами $10 \times 2 \times 2$ см, массой 20 г. Предполагалось, что такая рыба проводит 20% времени вблизи дна и 100% в воде.

Для оценки экологического состояния водоема В-11 был выбран такой метод биоиндикации как учет эритроцитов с микроядрами в периферической крови индикаторных видов рыб. Микроядра в клетках являются маркером генотоксического действия и представляют собой округлые образования, окрашенные аналогично ядерному материалу или чуть более интенсивно (Рисунок 1).

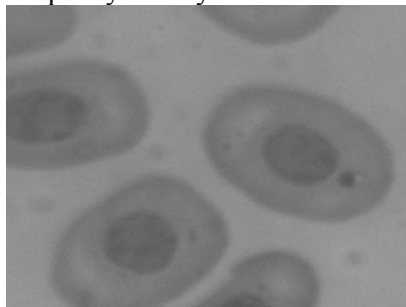


Рис. 1. Микроядро в эритроците периферической крови плотвы

Статистическая обработка полученных результатов проводилась непараметрическим методом анализа данных. Использовался U -критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически

значимыми при вероятности нулевой гипотезы $P < 0,05$ [2]. Проведенные расчеты показали, что мощность поглощенной дозы для рыб водоема В-11 находится в пределах от 0,4 до 1,4 мГр/сут (Таблица 2).

Таблица 2. Результаты расчета мощности поглощенной дозы для рыб, Гр/сут

Вариант 1				
Радионуклид	От воды	От донных отложений	От радионуклидов в организме	Сумма
^{137}Cs	7.65E-09	9.80E-05	1.78E-06	9.97E-05
^{90}Sr	2.27E-06	9.75E-05	1.40E-04	2.39E-04
Сумма	2.28E-06	1.95E-04	1.41E-04	3.39E-04
Вариант 2				
Радионуклид	От воды	От донных отложений	От радионуклидов в организме	Сумма
^{137}Cs	7.65E-09	9.80E-05	1.62E-06	9.96E-05
^{90}Sr	2.27E-06	9.75E-05	1.15E-03	1.25E-03
Сумма	2.28E-06	1.95E-04	1.15E-03	1.35E-03

При проведении цитогенетических исследований были получены следующие результаты. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови у рыб Шершневого водохранилища составила 1.78 ± 0.19 ‰, при этом у плотвы этот показатель был равен 1.49 ± 0.30 ‰, у окуней – 2.58 ± 0.38 ‰ (Рисунок 2).

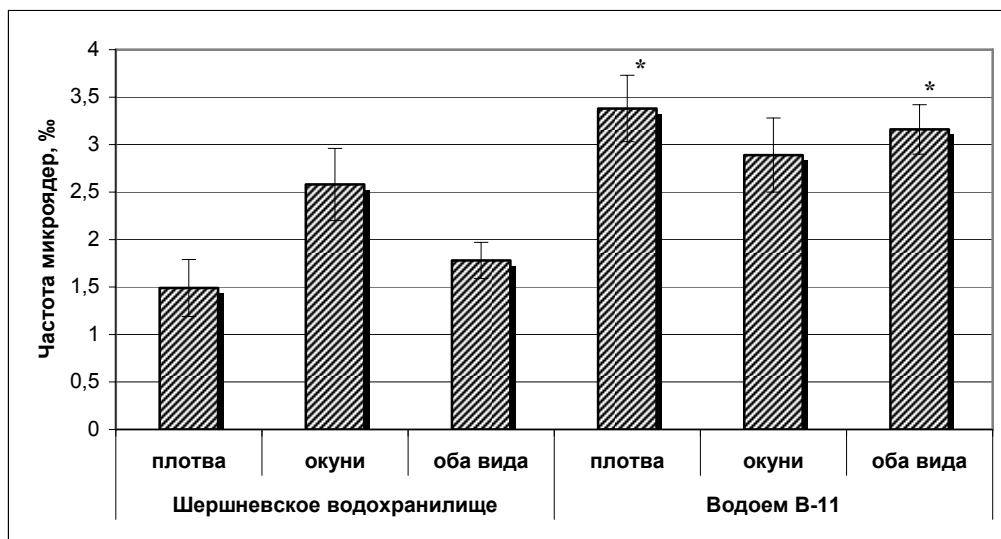


Рис. 2. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови у рыб Шершневого водохранилища и водоема В-11.

Примечание - * - достоверные отличия от контрольного уровня, $P < 0,05$

Согласно критерию Манна-Уитни, частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови рыб из водоема В-11 была достоверно выше, чем у рыб из Шершневого водохранилища, и составляла 3.16 ± 0.26 ‰. В эритроцитах периферической крови плотвы водоема В-11 частота микроядер была равна 3.38 ± 0.35 ‰; окуней – 2.89 ± 0.39 ‰. Сравнение данного показателя у представителей одного и того же вида из различных водохранилищ, показало, что уровень эритроцитов с микроядрами в крови плотвы и окуня из водоема В-11 выше, чем соответственно у плотвы и окуня из Шершневого водохранилища, однако статистической значимости эти различия достигали только у плотвы.

Таким образом, в данном исследовании выявлено, что частота микроядер в эритроцитах периферической крови у исследуемых рыб из водоема В-11 почти вдвое выше, чем у рыб из Шершневого водохранилища. Этот факт, позволяет заключить, что в водоеме В-11 Теченского каскада водоемов присутствует генотоксический фактор, оказывающий влияние на биоту экосистемы, экосистему в целом и на гидробионтов в частности [8]. Кроме того, по результатам собственных исследований и литературным данным [3], можно заключить, что плотва является более радиочувствительной по сравнению с окунем и может быть использована в качестве референтного организма при оценке генотоксического действия радиации на гидробионтов.

По результатам исследований были сделаны следующие **выводы**:

1. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы из радиоактивно загрязненного водоема В-11 Теченского каскада водоемов достоверно превышает частоту эритроцитов с микроядрами в периферической крови плотвы из водоема сравнения - Шершневого водохранилища;
2. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови окуней из водоема В-11 достоверно не отличается от частоты эритроцитов с микроядрами в периферической крови окуней из Шершневого водохранилища;
3. Плотва является более радиочувствительным видом по сравнению с окунем и может быть использована в качестве референтного организма при оценке генотоксического действия радиации на гидробионтов.

Авторы работы выражают глубокую благодарность С.И. Ровному, Ю.Г. Мокрову, П.М. Стукалову, В.И. Рерих, А.Г. Медведеву, А.В. Гаврилову за помощь в организации и проведении экспедиций на водоем В-11.

Список литературы

- Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России. М.: Наука, 1998. – 220с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика М., Практика, 1998. – 459 с.
- Изучение рыб из накопительного водохранилища сточных вод (река Теча) при помощи микроядерного теста. Методические рекомендации по санитарному контролю за содержанием радиоактивных веществ в объектах внешней среды. М., 1980. – 336 с.
- Челябинская область: ликвидация последствий радиационных аварий. Челябинск: Юж.-Урал. кн. изд-во, 2006. – 344 с.
- Arkhipchuk, V.V., Garanko, N.N. Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fish fin cells // Laboratory of Biomarkers and Biotesting, Institute of Colloid Chemistry and Water Chemistry, Kiev, Ukraine. arvic@nbi.com.ua Ecotoxicol Environ Saf. 2005 Sep;62 (1):42-52.
- Smagin A.I., Lugas'kova N.V., Men'shikh T.B. Study of fish from the Techa river waste storage reservoir with micronuclei testing method // Изв. Челяб. науч. центра. - 2005. - № 1. - С. 102-106.
- Udroiu, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università La Sapienza, 00161 Rome, Italy. 2006 Aug 23;79(2):201-4. Epub 2006 Jul 18.
- Liyan, ZHU., Ying, H., Guangxing, L. Using DNA damage to monitor water environment // Chinese Journal of Oceanology and Limnology - 2005. Vol. 23. № 3. - P. 340-348.
- RESRAD-BIOTA: A Tool for Implementing a Graded Approach to Biota Dose Evaluation. USER'S GUIDE, VERSION 1 // ISCORS TECHNICAL REPORT 2004-02. Interagency Steering Committee on Radiation Standards. – 2004. – 50 p.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ РЫБ АЗОВСКОГО БАССЕЙНА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Г.Г. Корниенко, С.Г. Сергеева, Т.В. Ложичевская, Л.П. Ружинская, Л.В. Колесникова, О.А. Рудницкая

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (АзНИИРХ)
Ростов-на-Дону, Россия, 344007, ул.Береговая, 21/2, Россия, ogbm_korn@rostov.ru*

Исследования физиологического состояния основных промысловых объектов (пиленгас, лещ, судак, сельдь) и оказавшихся в последние годы на грани исчезновения осетровых рыб показали, что условия обитания и, в частности, трофическая обеспеченность Азово-Черноморского бассейна позволяют популяциям этих рыб поддерживать высокий репродуктивный потенциал. Основными факторами снижения рыбопродуктивности Азовского моря остаются чрезмерное браконьерское изъятие и подрыв фонда производителей, низкое воспроизводство и незначительное пополнение моря молодь рыб, загрязнения водной среды.

Исследования проводили методами физиологического, гистологического, биохимического и генетического анализов. Условия нагула, трофической обеспеченности, осуществления физиологических циклов рыб, возможной нехватки и истощения энергетических ресурсов организма для выполнения жизненно важных процессов жизнедеятельности и воспроизводства оценивали по содержанию в тканях рыб липидов, белка, важного для репродукции холестерина и половых гормонов и ряду других показателей. Возможное влияние загрязнения среды обитания определяли по неспецифическим реакциям гематологических параметров, иммунитета (содержание ЦИК, иммуноглобулинов), гистологическим изменениям в печени и репродуктивных органах,

биохимическим показателям печени, характеризующим состояние систем детоксикации – общему содержанию цитохромов P – 450, P – 420 и b5 в микросомах, активности глутатион-S-трансферазы (ГТФ), а также антиоксидантной защиты – активности каталазы, каротиноидов, токоферола (витамин E) и ретинола (витамин A) (Методы рыбохозяйственных..., 2005; Физиолого-биохимические и генетические..., 2005). Обследовали следующие объекты ихтиофауны: русского осетра, судака, тарань, черноморско-азовскую проходную сельдь, леща, пиленгаса. Материал собирали в научных морских рейсах в Азовском море и из уловов промысловых орудий лова в прибрежных районах Темрюкского и Ясенского заливов, Ейского и Бейсугского лиманов. Полученные материалы обработаны статистически. Анализ результатов проводился в сравнении с данными прошлых лет.

Сезонная динамика физиологических показателей в 2007 г. у осетровых, судака, пиленгаса свидетельствовали о нормальном ходе созревания и подготовленности рыб к нересту, однако большинство показателей обмена ниже среднегодовых значений, что связано с особенностями экологических условий в период нагула.

Мониторинг функционального состояния осетра, отловленного преимущественно в Темрюкском заливе, одном из основных районов обитания рыб промысловой меры, не выявил патологических изменений в репродуктивной системе. Содержание общего белка сыворотки крови составило у молоди осетра 3.25 г%, у осетра промыслового размера 4.51 г%, уровень иммуноглобулиновой фракции белков достиг 10.6 и 13.0 у. е., концентрация холестерина составила 108 и 114 мг%, липидов 424 и 490 мг% соответственно. Уровни биохимических параметров крови осетра в современный период ниже, чем в предыдущие годы на 20 – 30 % и находятся на уровне среднемноголетних данных 80-х – 90-х годов. Содержание белка и жира в мышечной ткани рыб остается стабильным в течение многих лет. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), определяющая уровень нейтрализации антигенов, также ниже, чем в прошлые годы. У половины молодых рыб отмечена низкая интенсивность эритропоэза, свидетельствующая о нарушении процесса кроветворения. В лейкоцитарной формуле 70 % рыб, как и в прошлые годы, отмечено снижение количества лимфоцитов до 50 – 68 % (норма 75 – 80 %) и обнаружены единичные моноциты, диагностирующие воспалительный процесс в организме. У всех рыб, особенно у молоди, увеличено количество нейтрофилов, обладающих фагоцитарной функцией. Количество эозинофилов находилось в пределах нормы. У 45 % осетров изменения морфологической структуры печени и селезенки относятся к стадии адаптации. У 45 % осетров состояние печени и селезенки оценивается как предпатологическое. У 10 % осетров (самки промыслового размера) выявлена патология печени и селезенки средней степени (четыре балла по пятибалльной шкале).

Уровни практически всех репродуктивных биомаркеров в печени, гонадах, мышцах и сыворотке крови осетра значительно снижены. Наблюдаемая активация глутатион трансферазы указывает на развитие окислительного стресса в организме в результате негативного воздействия загрязняющих веществ. В случае улучшения экологической ситуации изменения биохимического статуса могут быть обратимыми, поскольку для осетровых характерен длительный цикл развития половых желез. Если воздействие неблагоприятных факторов среды усилится или они будут носить хронический характер, изменения в организме приведут к срыву программы размножения, снижению продуктивности этого ценного промыслового объекта.

Высокая эвригалинность, адаптационная пластичность и увеличение численности пиленгаса в Азово-Черноморском бассейне способствовали освоению этим видом новых ареалов с широким диапазоном солёности. В последние годы возросло значение прибрежных районов восточной части Азовского моря и прилегающих водоемов с относительно низкой солёностью в нагуле и размножении этого вида. В мае гонады производителей обоего пола, отловленных в восточной части моря и Ясенском заливе, находились преимущественно в IV стадии зрелости, некоторые особи перешли в текучее состояние. Концентрация белка в сыворотке крови пиленгаса составила 4.5 г%, холестерина 371 мг%. Указанные показатели были снижены на 18 – 20 % по сравнению с показателями у пиленгаса (с аналогичным функциональным состоянием гонад), отловленного в начале июня 2001 – 2005 гг. в разных районах Азовского моря. Это обусловлено, по-видимому, более коротким периодом нагула и созревания рыб в 2007 году. Уровень иммуноглобулиновой фракции белка, выполняющей защитные функции, составил 2.2 у.е. и не отличался от показателей прошлых лет. Содержание белка в печени и мышцах производителей было достаточно высоким – 13.6 и 15.4 %. Количество белка в зрелой икре находилось на оптимальном уровне – 22.2 %. Изменения в печени и селезенке производителей, как и в прошлые годы, носили адаптационный или предпатологический характер. Лейкоцитарная формула и интенсивность эритропоэза у рыб находились в пределах нормы. У 20 % производителей отмечены отдельные виды морфопатологии эритроцитов.

У 20% старшевозрастных самок пиленгаса 8 – 9-летнего возраста выявлена тотальная резорбция зрелой икры, задержка в развитии трофоплазматических ооцитов, снижение уровня сывороточного холестерина, увеличение жирности гонад. Резкое повышение температуры воды в мае, особенно в мелководной зоне, стимулировало интенсивное созревание пиленгаса. У 20 % самок в возрасте 6 лет гонадосоматический индекс составил всего 1.7 %. Ооциты находились в I и II стадиях зрелости, патологии в развитии ооцитов не отмечено. Уровни биохимических параметров крови снижены в среднем на 30 %, содержание жира в мышцах снижено в 3 – 4 раза по сравнению с показателями зрелых рыб. Эти данные свидетельствуют о пропуске нереста у части рыб репродуктивного возраста (6 – 9 лет) с низкими запасами резервных веществ.

Таким образом, производители пиленгаса весной 2007 г. в восточной части моря и Ясенском заливе характеризовались относительно благополучным функциональным состоянием и имели высокий репродуктивный потенциал.

В 2006 – 2007 гг. выявлены самые низкие за период наблюдений, начиная с 2001 г., значения содержания репродуктивных биомаркеров токоферола в печени и ретинола в мышцах пиленгаса (50.08 ± 5.75 и 0.19 ± 0.03 мкг/г сырой ткани соответственно). Однако уровень токоферола в печени у пиленгаса по-прежнему остается самым высоким среди других видов рыб, что обеспечивает устойчивость репродуктивной системы к воздействию на особей пиленгаса загрязняющих веществ, содержащихся в детрите и поступающих в море. Повышенные показатели активности фермента II фазы детоксикации глутатионтрансферазы (238.59 ± 52.91 мкМоль глу/мг белка×мин.) в осенний период 2006 г. свидетельствуют о том, что у пиленгаса проявляется эффект воздействия экотоксикантов.

Весной 2007 г. у 25% судака отмечено значительное снижение уровня холестерина (до 60 %) и липидов (до 40 %) в сыворотке крови и других структурных компонентов по сравнению с предзимовальным периодом, что связано с созреванием половых продуктов в условиях аномально высокой температуры и отсутствия ледостава. Содержание холестерина достигало 0.5 г% - 0.7, липидов – 1.8 – 1.9 г%, количество жира в печени составило 22 – 31 %, белка в мышцах 100 мг/г и белка в печени 122 мг/г, что ниже средних значений в предшествующие годы на 25 – 30 %. Аномально высокие зимние температуры привели и к изменениям показателей крови судака, о чем свидетельствовало нестабильное состояние крови. Лейкоцитарная формула у судака в пределах нормы, но показатели снижены по сравнению с многолетними значениями. Особенно это заметно у самцов: у них завышено количество моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов при снижении числа лимфоцитов. Интенсивность эритропоэза очень низкая. Ортохромные клетки составили 100 %, среди которых отмечены микроциты и пойкилоциты. У всех рыб без исключения эритроциты гетерохромны. У отдельных экземпляров наблюдалось отслоение цитоплазмы, шистоцитоз, кариорексис и нарушение осмотической резистентности. 30 % самок и 25 % самцов имели в крови трипаносомы. Возможно, все указанные изменения в эритроцитах вызваны присутствием в крови паразитов. Однако эозинофилы, повышенное количество которых свидетельствует об аллергической реакции организма, частности и на паразитов, в лейкоцитарной формуле отсутствуют. Состояние печени и селезенки свидетельствовало о достаточно сильном воздействии двух факторов – температуры и токсического агента, что вызвало отчетливое стрессорное состояние почти половины обследованных особей. У 50 % производителей судака морфологические изменения в печени оценивались в два балла (по пятибалльной шкале) и свидетельствовали о наличии адаптационных процессов, гепатоциты их содержали мелкие вакуоли, сосуды без изменений. В состоянии предпатологии (три балла) находились 35 % рыб, у которых отмечалось утолщение стенок сосудов и локальная дистрофия гепатоцитов. Патология, оцененная в четыре балла, обнаружена у 15 % рыб. Гепатоциты содержали крупные вакуоли, вокруг сосудов инфильтраты. У трети рыб выявлялись ложные дольки в печени. Селезенка у 40 % производителей судака находилась в стадии патологии (четыре балла). У 60 % рыб стенки сосудов селезенки были расширены и насыщены пигментом - это признаки предпатологии (три балла).

Выявлено, что у судака во всех тканях уровни репродуктивных биомаркеров оставались стабильными в течение двух лет исследования и соответствовали уровням, выявленным в других районах в период с 2001 по 2006 гг. Активность ГТФ находилась на низком уровне (18.24 ± 1.77 мкМоль глу/мг белка×мин.), характерном для хищных рыб. Это говорит об отсутствии влияния загрязнения и об относительно благоприятной экологической ситуации в районах, где производился сбор материала. Незначительное снижение (в 1.2 - 1.5 раза по сравнению с осенне-зимним периодом 2005 г) ряда репродуктивных биомаркеров, таких как витамины Е и А в печени (5.51 ± 0.21 и 2.32 ± 0.32 мкг/г сырой ткани соответственно) и токоферол в гонадах (24.38 ± 1.25 мкг/г сырой ткани), выявлено у судака, отловленного в морском рейсе в октябре-ноябре 2006 г. Аналогичные изменения

по сравнению с 2005 г. обнаружены в тканях судака, выловленного в прибрежной зоне вблизи г. Темрюк в 2007 г., однако уровень ретинола в печени этого вида снижен существенно (в 4.3 раза к уровню 2005 г. и в 2.8 раза к уровню 2006 г.). В районе г. Темрюк на особей судака оказывают воздействие негативные факторы среды, что впоследствии может сказаться на его продуктивности.

Условия обитания леща в 2006 – 2007 гг. были удовлетворительными, показатели физиологического состояния находились в пределах значений, соответствующих нижней границе нормы. Отклонения от нормального морфологического строения в гонадах наблюдались только среди молодых ооцитов (II стадия зрелости), что выявлено у 50 % рыб. Нарушения представляли собой деформацию оболочек и вакуолизацию цитоплазмы, (показатели начальных процессов резорбции). У самцов отклонений в развитии гонад не отмечено. У 12.5 % рыб имелись предпатологические изменения структуры тканей печени, свидетельствующие о наличии адаптационных процессов.

Сниженное содержание липидов и холестерина в крови свидетельствовало об ограниченности внутренних ресурсов организма рыб, видимо связанных с недостаточностью или ограниченным спектром питания, что не позволяет обеспечить нормальное созревание поздних генераций икры. Это подтверждается развитием процессов резорбции в ооцитах молодой генерации и снижением продуктивности части популяции донского леща в последующие сроки нереста.

У тарани отмечены пониженные уровни лабильных компонентов крови - белка и холестерина - по сравнению со среднемноголетними показателями для этого периода года, что обусловлено влиянием теплой зимы без ледостава и, как следствие, растянутым нерестовым ходом тарани. Содержание белка составило 5.3 г%, холестерина 285 мг%. Иммуноглобулиновая фракция белка составила 6.0 у.е. Содержание белка в мышцах также несколько ниже среднемноголетних значений и составило 140 мг/г. Несмотря на высокие траты лабильных запасных веществ, содержание белка печени (147 мг/г) и гонадах (220 мг/г) находилось на высоком уровне, что свидетельствовало о зрелости гонад и хорошей подготовленности производителей тарани к нересту. Количество жира в мышцах (7.2 %) и гонадах самок (12.2 %) близко к оптимальному уровню. В весенний период у тарани, отловленной в Таганрогском заливе, отмечено повышение циркулирующих иммунных комплексов (до 90 у.е.), что свидетельствовало о значительном воздействии негативных факторов (возможно, залповое поступление загрязняющих веществ). Данная реакция организма рыб сопровождалась патологическими изменениями крови. Отмечено усиление моноцитоза и гранулоцитоза, что является распространенным и неспецифическим ответом организма на ряд неблагоприятных факторов среды обитания, включая и интоксикацию. Гистологический анализ печени и селезенки тарани выявил, что 25 % рыб находятся в состоянии патологии.

Анализ сельди показал хорошую нагуленность и подготовку к нересту. Коэффициент упитанности самок составил 1.65, самцов – 1.49. Содержание белка в сыворотке крови было оптимальным и колебалось от 8 до 12 г%, в тканях – 130 – 200 мг/г. Гематологический анализ не выявил серьезных патологий в клетках крови. У 35 % обследованных особей сельди имелись незначительные отклонения в морфологии печени и селезенки. Полученные показатели физиологического состояния сельди в 2007 г. сравнении с результатами 2003 – 2006 гг. близки по своим значениям и находятся в оптимальных границах. Состояние особей исследованных выборок нерестовой части популяции черноморско-азовской проходной сельди в период нагула и нереста можно оценить как хорошее, что должно обеспечить ее высокий репродуктивный потенциал и увеличение численности.

Выполненные в 2006 - 2007 гг. исследования по оценке физиологического состояния азовских промысловых рыб Азово-Черноморского бассейна, показали, что в современных условиях наблюдается сбалансированность трат веществ на рост, миграционную активность и размножение рыб с процессами их поступления и накопления запасных форм. Однако у изученных видов отмечаются единичные особи с различной степенью выраженности разноуровневых изменений в состоянии органов, их структуры, клеточного и биохимического состава, что является отклонением от нормы и указывает на наличие негативного воздействия со стороны факторов среды обитания. Наличие таких особей в популяциях в современный период позволяет говорить об относительно слабой степени воздействия современного уровня загрязнения на физиологическое состояние ценных промысловых рыб.

Список литературы

Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований в Азово-Черноморском бассейне.- Краснодар: ООО «Просвещение-Юг». - 2005. - 352 с.
Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна/ Методическое руководство. - Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. - 100 с.

ВЛИЯНИЕ ФУЛЬВОКИСЛОТ НА АТФ-АЗНУЮ АКТИВНОСТЬ У ХЛОРЕЛЛЫ (*CHLORELLA VULGARIS* BEIJER)

К. В. Костюк¹, О. В. Василенко¹, Т. А. Васильчук², В. В. Грубинко¹

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь, 46027, Украина, kostyuk.katya@gmail.com

²Институт гидробиологии НАН Украины
просп. Героев Сталинграда, 12, Киев, 04210, Украина

Широкое использование в течение последних десятилетий органических удобрений, усиление деструкционных процессов в водных экосистемах и, как следствие, их вторичное загрязнение продуктами разложения органических веществ, возрастание выбросов органических веществ коммунального происхождения и со сточными водами привело к ускорению их круговорота в экосистемах, загрязнению гидросферы и превращению этих веществ в негативный экологический фактор (Федоров, 1980).

Гуминовые и фульвокислоты, объединяемые под названием гумусовые вещества, нередко составляют значительную долю органического вещества природных вод и представляют собой сложные смеси биохимически устойчивых высокомолекулярных соединений (Осадчая, 1999). Главным источником поступления гумусовых веществ в природные воды являются почвы и торфяники, из которых они вымываются дождевыми и болотными водами (Гришина, 1986). Значительная часть фульвокислот вносится в водоемы вместе с пылью и образуется непосредственно в водоеме в процессе трансформации органического вещества биоты (Тейт, 1991).

Гумусовые вещества в поверхностных водах находятся в растворенном, взвешенном и коллоидном состояниях, соотношения между которыми определяются химическим составом вод, pH, биологической ситуацией в водоеме и другими факторами (Осадчая, 2001). Наличие в структуре фульво- и гуминовых кислот карбоксильных и фенолгидроксильных групп, а также аминок групп способствует образованию прочных комплексных соединений гумусовых веществ с металлами. Некоторая часть гумусовых веществ находится в виде малодиссоциированных солей - гуматов и фульватов. В кислых водах возможно существование свободных форм гуминовых и фульвокислот (Орлов, 1993).

Гумусовые вещества значительно влияют на органолептические свойства воды, оказывают влияние на состояние и устойчивость карбонатной системы, ионные и фазовые равновесия и распределение миграционных форм микроэлементов (Горевая, 1995). Повышенное содержание гумусовых веществ может оказывать отрицательное влияние на развитие водных растительных и животных организмов в результате резкого снижения концентрации растворенного кислорода в водоеме, расходуемого на их окисление (Осадчая, 2001).

Фульвокислоты являются частью гумусовых веществ и представляют собой соединения типа оксикарбоновых кислот с меньшим относительным содержанием углерода и более выраженными кислотными свойствами. Хорошая растворимость фульвокислот по сравнению с гуминовыми кислотами является причиной их более высоких концентраций и распространения в поверхностных водах. Содержание фульвокислот, как правило, превышает содержание гуминовых кислот в 10 и более раз (Орлов, 1990).

Известно, что клеточные мембраны первыми испытывают влияние токсических веществ. При этом изменяется их текучесть, плотность, а следовательно проницаемость и деполаризация (Кравцов, 1993). Наглядным показателем функциональной целостности и эффективности клеточных мембран являются АТФ-азы, которые принимают участие в реализации мембранных транспортных процессов и обеспечении их энергией. Касательно вопроса о влиянии на мембранные АТФ-азы такой физиологически активной составляющей водоемов как фульвокислоты, нами таких данных не обнаружено. Вместе с тем известно, что такие органические вещества как ароматические углеводороды, которые входят в состав нефти и нефтепродуктов, могут проникать через клеточные мембраны, изменяя при этом их состав и свойства (Миронова, 1988).

В связи с этим, целью настоящей работы было исследование активности АТФ-аз (общей и Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТФ-азы) у хлореллы при действии повышенных концентраций фульвокислот в среде обитания водорослей.

Объектом исследования была культура зеленых водорослей хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer), которую выращивали в условиях накопительной культуры в люминестате при освещении лампами дневного света (интенсивность 2500 лк) и температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Как питательную среду использовали раствор Фитцджеральда в модификации Цендера и Горема (№ 11) (Топачевский, 1975). В

экспериментальных условиях к культуре водорослей добавляли растворы фульвокислот в концентрациях, соответствующих 3 и 8 ПДК (30.0 мг/л и 80.0 мг/л соответственно). Контролем служила культура, которая росла на среде без добавления фульвокислот. Период инкубации клеток водорослей в экспериментальной среде составлял 1, 3, 7 и 14 суток. Остальные параметры среды находились в пределах нормы для культивирования водорослей: pH – 7.7(в контроле), до 8.2 (в культуре опытных образцов); содержание кислорода – 5.2 мг/л (в контроле), могло снижаться до 3.7 в культуре в культуре опытных образцов.

Для изучения активности мембранных АТФ-аз готовили гомогенаты клеток (клетки отделяли от среды с помощью мембранных фильтров Сынпор № 4) на 0.005 трис — HCl буфере, pH 7.6, в соотношении 1:5 (сырая биомасса:объем буфера) в механическом гомогенизаторе, 7000 об/мин. Для получения ферментной вытяжки гомогената клеток центрифугировали со скоростью 5000 об/мин. в течение 15 мин. Использовали надосадочную суспензию. Все процедуры осуществляли при 4С°.

Реакционная смесь для определения активности АТФ-аз по нарастанию неорганического фосфата (Dang (Данг), 2000) содержала: 0.5 мл 40 mM трис-HCl-буфера, 0.1 мл 5 mM АТФ, 0.1 мл 20 mM KCl (для Ca²⁺, Mg²⁺-АТФ-азы – 0.1 мл 100 mM KCl), 0.1мл 100 mM NaCl (для Ca²⁺, Mg²⁺-АТФ-азы – без NaCl, но с оубаином в количестве 0.1 мл), 0.1 мл 5 mM MgCl₂ и 0.2 мл гомогената. Время инкубации составляло 40 мин. Для остановки реакции добавляли 0.4 мл 10% - го раствора ТХУК и центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин. После этого к центрифугату добавляли 1.5 мл 1M ацетатного буфера, 0.2 мл 25% раствора молибдата аммония и 0.2 мл 2% раствора аскорбиновой кислоты и выдерживали 20 мин., после чего фотометрировали при 700 нм. Активность фермента выражали в мкмоль Рн/мг белка* час.

Содержание белков определяли по Лоури и соавт. (Lowry (Лоури), 1951).

Экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики (Лакин, 1990).

Гумусовые вещества в водной среде слабо минерализируются планктоном (Волобуев, 1963), поэтому их последующая трансформация преимущественно определяется процессами их адсорбции (Федоров, 1980). Адсорбционными и поглощающими свойствами, как известно, обладают и клеточные мембраны одноклеточных водорослей. Как показали исследования, это отражается на активности мембранных АТФ-аз, которая зависела от концентрации фульвокислот и от времени их действия.

Установлено, что активность общей АТФ-азы при действии фульвокислот в концентрациях 3 и 8 ПДК существенно возрастает по сравнению с показателями в контроле в течение первых суток инкубации клеток (рис. 1). На третьи сутки наблюдали уменьшение активности фермента при обеих исследуемых концентрациях. Следует заметить, что при концентрации фульвокислот 8 ПДК она была немногим больше, чем при 3 ПДК и в дальнейшем, в течение двух последних суток исследования эта тенденция сохраняется. На седьмые сутки при концентрации фульвокислот 3 ПДК наблюдали максимальную активность общей АТФ-азы (для 8 ПДК пик активности зафиксирован на первые сутки). На четырнадцатые сутки активность фермента снижается, хотя все же находится на достаточно высоком уровне по сравнению с показателем в контроле.

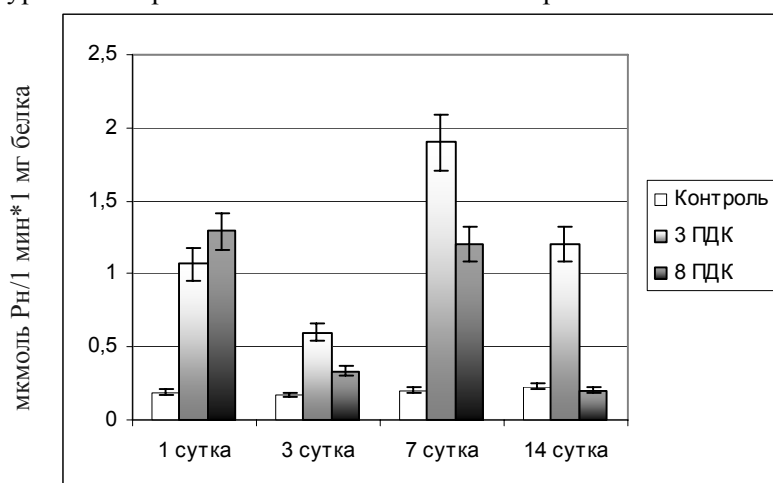


Рис. 1. Влияние фульвокислот на активность общей АТФ-азы у хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijer) (M±m; n=5)

Механизм влияния фульвокислот на мембранные ферменты может быть связан как с прямым действием на их молекулы, так и изменением физико-химического окружения ферментов в мембране и примембранном пространстве. Например, наличие в структуре фульво- и гуминовых кислот

карбоксильных и фенолгидроксильных групп, аминогрупп способствует образованию стойких комплексных соединений кислот с металлами (Орлов, 1985), в том числе, входящими в состав АТФ-аз. Связывая ионы металлов, фульвокислоты могут активировать АТФ-азы (Горевая, 1995). С первого взгляда такая активация может показаться положительной, однако она может привести к энергетическому истощению клетки, а в конечном итоге и к ее гибели.

Более детальный анализ показывает, что в течение первых суток имеет место значительная активация фермента при концентрации 8 ПДК и менее значительная для 3 ПДК. На третьи сутки АТФ-азная активность уменьшается по сравнению с первыми сутками действия фульвокислот при всех исследуемых концентрациях. Однако, уже на седьмые сутки наблюдается повторное возрастание активности фермента, особенно при концентрации фульвокислот 3 ПДК. На 14-тые сутки активность фермента опять снижается, а при концентрации 8 ПДК АТФ-азная активность находится ниже показателей контроля. Это может быть связано, во-первых, с энергетическим истощением клетки; а, во-вторых, с возможной перестройкой структуры клеточной мембраны, включая ее липидные и белковые компоненты.

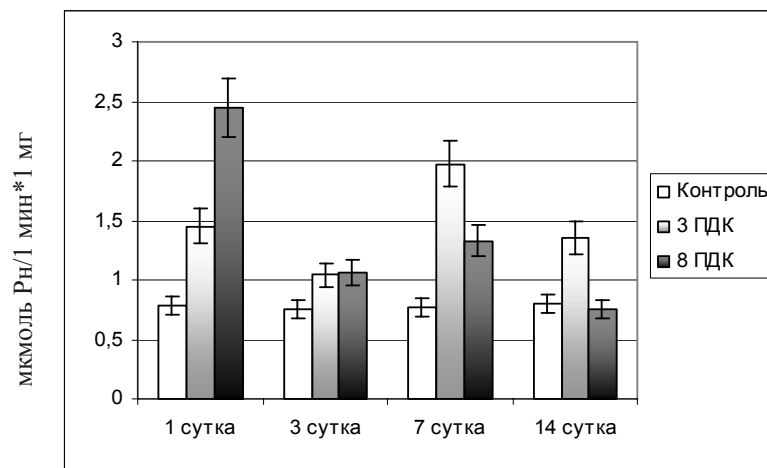


Рис. 2. Влияние фульвокислот на активность Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азы у хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijer) ($M \pm m$; $n=5$)

Что касается Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азы, то, как и общая АТФ-аза, она активируется при концентрации фульвокислот 3 ПДК в течение всего исследуемого периода, а при концентрации 8 ПДК активность фермента возрастает в течение 1-7 суток и снижается к уровню контроля на 14 сутки (рис. 2). Максимальная активность фермента обнаружена на первые сутки при концентрации 8 ПДК и на седьмые сутки при концентрации 3 ПДК (как и для общей АТФ-азы). На первые сутки активность фермента существенно возрастает при концентрации 8 ПДК. На третьи сутки действия активность уменьшается сравнительно с первыми сутками. На седьмые сутки наблюдается возрастание Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азной активности. На 14-ту сутки активность относительно предыдущего периода снова уменьшается.

Полученные данные свидетельствуют о сигмоидальном характере изменений общей и Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-аз, поскольку коротковременное действие вызывает первичную активацию ферментов (пик активности), которая падает ниже начального уровня при среднепродолжительном влиянии и несколько увеличивается (возобновляется) до уровня контроля или даже выше контрольных показателей при долговременном влиянии вещества (Грубинко, 2002). Первый пик активности ферментов при действии токсикантов связывают с формированием первичного ответа клеток на специфический (часто токсический) фактор, после чего истощение (метаболическое и энергетическое) системы приводит к снижению уровня активности защитных или регуляторных ферментных систем. В дальнейшем в случае невозможности адаптивной перестройки метаболизма клетки могут погибнуть, а в случае формирования адаптаций их метаболический статус или возобновляется до начального уровня, или даже повышается. Такая закономерность обнаружена в ряде случаев действия разных токсикантов на многих гидробионтов (Грубинко, 1997, 2005). Реакция АТФ-аз хлореллы на действие фульвокислот полностью соответствует указанному механизму, что свидетельствует о возможности адаптации водоросли к исследованным уровням фульвокислот в водной среде. Учитывая, что их экспериментальные концентрации близки к возможным природным, предполагаем устойчивость хлореллы в водоемах при повышении в них содержания гуминовых веществ. Фульвокислоты в целом активируют АТФ-азы мембран хлореллы. Временная и концентрационная динамика активности фермента имеет сигмоидальный характер с минимумами и

максимумами активности, что может быть результатом прямого действия фульвокислот на ферменты путем комплексообразования с входящими в их состав ионами металлов (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), а также изменением в процессе действия структуры мембраны и примембранного пространства. Вероятно, что активация и последующее снижение активности АТФ-аз при действии фульвокислот также связаны с энергетическим истощением клетки, что может в дальнейшем привести к ее гибели. Исходя из полученных данных, предполагаем, что хлорелла владеет сложными механизмами защиты от действия веществ экзогенного происхождения, связанных с перестройкой молекул ферментов, мембраны в целом, а также изменением функционирования ионных каналов, что требует более детальных исследований.

Список литературы

- Биологические аспекты нефтяного загрязнения морской среды / Под ред. О. Г. Миронова. – К.: Наук. думка, 1988. – 246 с.
- Волобуев В.Р. Экология почв (очерки). – Баку: Изд. АН Азерб. ССР, 1963. – 260 с.
- Горевая А.И., Орлов Д.С., Щербенко О.В. Гуминовые вещества. – К.: Наук. думка, 1995. – 304 с.
- Гришина Л.А. Гумосообразование и гумусное состояние почв. – М.: МГУ, 1986. – 244 с.
- Грубинко В.В. Концепция адаптации в контексте современной экологической ситуации // “Проблемы экології культури и духоунасці”. Минск: ISK. – 1997. – С. 23-28.
- Грубінко В.В. Інтегральна оцінка токсичного ураження у біологічних системах (Интегральная оценка токсического влияния в биологических системах)// Наук. записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. Спец. випуск „Гідроєкологія”(Науч. зап. Терн. пед. ун-та. Спец. випуск. «Гидроэкология»). – 2005.– № 3(26).– С. 111–114.
- Кравцов А.В., Алексеенко И.Р. Поверхностно-активные вещества как инструменты исследования биомембран. – К.: Наук. думка. 1993. – 262 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1990. – 352 с.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике/Под ред. А.В. Топачевского. – К.: Наук. думка, 1975. – 247с.
- Орлов Д.С. Химия почв. – М.: МГУ, 1985. – 376 с.
- Орлов Д.С. Гуминовые вещества в биосфере.– М.: Наука, 1993.– 300 с.
- Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. – М.: МГУ, 1990. – 325с.
- Осадчая Н.В., Осадчий В.И. Гумусовые вещества в воде днепровских водохранилищ // Труды УкрНИГМИ. – 1999. – Вып. 247. – С. 189-201.
- Осадчая Н.В., Осадчий В.И. Оценка выноса растворенных органических веществ гумусовой природы со стоком р. Припять // Труды УкрНИГМИ. – 2001. – Вып. 249. – С. 161 – 177.
- Тейт Р.Т. Органическое вещество почвы. – М.: Мир, 1991. – 400 с.
- Федоров В.Д., Гильманов Т.Г. Экология. – М.: Изд-во. Моск ун-та, 1980. – 464 с.
- Dang Z., Lock R.A.C., Flik G. Na^+/K^+ -ATP-ase Immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper // J. Exp. Biol. – 2000. – Vol. 203. – P. 379 – 387.
- Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265 – 275.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА НА НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАРПА

Ю.Н.Красюк

Институт гидробиологии НАН Украины

04210 Киев-210, просп. Героев Сталинграда, 12, Украина, j-kрасyuk@ukr.net

Увеличение антропогенного влияния на водные экосистемы обострило проблему выживания гидробионтов в неблагоприятных гидрохимических условиях. Среди значительного количества токсикантов, влияющих на жизнедеятельность рыб, наиболее распространенными являются азотсодержащие соединения, обладающие широким спектром токсического действия. Основным источником их поступления в водоемы являются сточные воды промышленных и сельскохозяйственных предприятий. Увеличение концентрации аммиака, аммонийного и нитритного азота в прудовых хозяйствах происходит также вследствие нарушения условий внесения кормов, удобрений, увеличения плотности посадки рыб и т.п., что вызывает изменение их физиологического состояния, следовательно, негативно влияет на процессы их роста, развития и размножения (Головина, 1989; Israeli-Weinstein, 1998).

Катаболизм азотистых соединений (аминокислот, пуринов, пиримидинов и т.п.) зачастую приводит к образованию аммиака – хорошо растворимого токсичного продукта, который легко диффундирует из организма в окружающую среду в виде NH_4^+ , в основном, через хлоридные клетки эпителия жабр. Такое выведение токсиканта позволило рыбам выработать ряд приспособлений к изменяющимся условиям среды, а в целом повысить резистентность организма. Однако при увеличении содержания неорганического азота в среде обитания баланс между эндогенным и экзогенным аммиаком может быть нарушен, в результате чего ионы NH_4^+ , содержащиеся в крови рыб, служат вторичным источником аммиака. Известно, что аммиак владеет гемолитическим действием на организм, а следовательно может влиять на такие органы кроветворения как печень и селезёнка (Грубинко, 1995; Иванова, 1983). К токсикантам, обладающим выраженным гемолитическим действием, относятся также и нитриты, которые при высоких концентрациях в воде проникают через эпителий жабр рыб и накапливаются в плазме крови, вызывая острый токсикоз организма (Великий, 1992; Jensen, 2003).

Таким образом, наиболее токсичными из соединений неорганического азота считаются аммонийный и нитритный азот, оказывающий существенное влияние на степень экологической толерантности и токсикорезистентности рыб.

Целью нашей работы было изучение особенностей токсикорезистентности двухлеток карпа, предварительно содержащихся в прудах с повышенной концентрацией соединений минерального азота, к кратковременному воздействию на них различных концентраций NH_4^+ и NO_2^- (10–1000 ПДК_{рыб.хоз.}).

Экспериментальные исследования проведены в биотехнологическом комплексе Института гидробиологии НАН Украины. Объектами исследований были двухлетки карпа, которые находились в течение 6 месяцев в прудах Белоцерковской экспериментальной гидробиологической станции под воздействием повышенных концентраций аллохтонного азота.

Так, в пруду №1 концентрация NH_4^+ составляла 0.18 мг N/дм³, NO_2^- – 0.01 мг N/дм³, в пруду №2 - NH_4^+ - 11.13 мг N/дм³, NO_2^- – 1.33 мг N/дм³, а в пруду №3 - NH_4^+ - 27.94 мг N/дм³, NO_2^- – 1.16 мг N/дм³.

При проведении экспериментальных исследований рыбы с трёх прудов были помещены на 96 часов в аквариумы (объем 100 дм³) с концентрациями аммонийного (0.5; 5.0; 50.0 мг N/дм³) и нитритного (0.8; 8.0; 80.0 мг N/дм³) азота в воде. Для создания необходимых условий использовался хлорид аммония и нитрит натрия - вещества легко растворимые в воде. Поддержание заданных концентраций аммония и нитритов осуществлялось путём ежедневной замены воды на 0.5 объёма аквариума. Концентрация NH_4^+ и NO_2^- в контрольных ёмкостях соответствовала рыбоводным нормативам и не превышала 0.10 и 0.01 мг N/дм³ соответственно.

С целью установления токсикорезистентности рыб определяли изменения морфологических показателей (индексы селезёнки и печени) при действии различных концентраций аммонийного и нитритного азота (Голодец, 1955; Методика морфо – физиологических и биохимических исследований рыб, 1972).

Полученные данные обработаны статистически с помощью программы Statistica 5.5.

Известно, что в процессах детоксикации в организме берут активное участие селезёнка и печень рыб. Основным кроветворным органом, где происходит эритропоэз, является селезёнка. При действии NH_4^+ и NO_2^- и недостатке кислорода в крови усиливается синтез эритроцитов, что приводит к увеличению её массы. Как результат повышения процессов детоксикации данных соединений и их метаболитов возрастает индекс печени рыб (Потрохов, 2006; Doblander, 1996).

Как видно из результатов наших исследований, у двухлеток карпа, находившихся на протяжении 6-ти месяцев в прудах с различной степенью нагрузки неорганическим азотом, индексы селезенки и печени повышались с ростом содержания ионов аммония и нитритов в воде (табл. 1).

Так, индексы органов рыб, содержащихся в прудах №2 и №3 были значительно выше индексов органов рыб из пруда №1 (с наиболее низким содержанием NH_4^+ и NO_2^-). Отмечено существенное увеличение индекса селезёнки двухлеток карпа в 2.3 и 1.3 раза соответственно, а также увеличение в 1.4 раза индекса печени рыб из этих же прудов по сравнению с рыбами из пруда №1.

Негативное влияние высоких концентраций неорганического азота в прудах, спровоцировавшее рост индексов селезёнки и печени рыб, также проявилось при 96-ти часовой экспозиции в среде с NH_4^+ и NO_2^- , превышающих ПДК_{рыб.хоз.} в 10; 100; 1000 раз. Обращает внимание то, что повышение концентраций ионов аммония, а также нитрит-ионов в воде опытных аквариумов вызывало увеличение индексов селезенки и печени двухлеток карпа из пруда №1. Воздействие на них концентрации аммонийного азота 0.5; 5.0 и 50.0 мг N/дм³ приводило к увеличению индекса селезёнки на 44.1%; 52.0% и 76.5%, а печени – на 6.5%; 12.5% и 16.5%, по сравнению с контролем. При концентрациях нитритного азота 0.8; 8.0; 80.0 мг N/дм³ индекс селезёнки у рыб был больше, чем у контрольных соответственно на 11.8%; 35.3%; 73.5%, а индекс печени – на 3.0%; 12.0%; 30.5%. В то

же время, индексы исследуемых органов двухлеток карпа из прудов (№2 и №3) с более высоким содержанием минерального азота оставались на уровне показателей контрольных рыб, что может свидетельствовать об их более высокой степени адаптации (табл. 1).

Таблица 1. Индексы селезенки и печени двухлеток карпа под действием аммонийного и нитритного азота, n=5

Концентрация, мг N/дм ³	Индекс селезенки, %			Индекс печени, %		
	Пруд					
	1	2	3	1	2	3
	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
Контроль	0.34±0.02	0.43±0.01	0.78±0.01	2.00±0.14	2.80±0.02	2.84±0.28
NH ₄ ⁺						
0.5	0.49±0.01*	0.43±0.01	0.80±0.03	2.13±0.15	2.80±0.06	2,84±0.12
5.0	0.52±0.01*	0.44±0.01	0.80±0.01	2.25±0.38	2.81±0.16	2.87±0.18
50.0	0.60±0.01*	0.44±0.01	0.81±0.02	2.33±0.10	2.81±0.02	2.87±0.18
NO ₂ ⁻						
0.8	0.38±0.01	0.45±0.01	0.77±0.01	2.06±0.07	2.81±0.09	2.84±0.62
8.0	0.46±0.01*	0.46±0.02	0.78±0.03	2.24±0.35	2.83±0.30	2.84±0.07
80.0	0.59±0.01*	0.46±0.02	0.79±0.02	2.61±0.30*	2.83±0.31	2.85±0.14

Примечание: *— p<0.05

Проведённые исследования показали, что при модельном эксперименте, где концентрации аммонийного и нитритного азота в воде превышали ПДК в 10, 100 и 1000 раз, индексы селезёнки и печени рыб из прудов №2 и №3 (со «средним» и «высоким» содержанием неорганического азота) были почти на уровне контрольных показателей. Индексы же органов рыб из «чистого» пруда №1 - увеличивались.

Полученные результаты свидетельствуют о более высокой токсикорезистентности рыб, предварительно адаптированных к высоким концентрациям NH₄⁺ и NO₂⁻ в воде. Можно предположить, что у этой группы рыб защитные механизмы выражались в более высокой степени детоксикации этих веществ и их производных, а также активации процессов их выведения из организма во внешнюю среду (Грубинко, 1995).

Список литературы

- Великий Н.Н., Коробов В.Н., Климошин Н.И., Родина Т.Е., Щербина М.А. Система красной кровяной клетки периферической крови карпа в условиях нитритной интоксикации // 8 Научн.конф.по экол.физиол.и биохимии рыб, 30 сент.-3 окт.,Тез.докл., Т.1, Петрозаводск, 1992. – С. 54 – 55.
- Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. – Кишинёв: ШТИНЦА, 1989. – 144 с.
- Голодец Г.Г. Лабораторный практикум по физиологии рыб. – М.: Пищепромиздат., 1955. – 90 с.
- Грубинко В.В. Адаптационные реакции рыб к действию аммиака водной среды // Автореф. дисс.на соиск.н.ст.д.б.н., К.: 1995. – 44с.
- Грубинко В.В., Смольский А.С., Коновец И.Н., Арсан О.М. Гемоглобин рыб при действии аммиака и солей тяжелых металлов // Гидробиол. журн. – 1995. – 31(4). – С. 82–87.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. – М., 1983. – 110 с
- Методика морфо – физиологических и биохимических исследований рыб. – ВНИРО, М.: 1972. – 118 с.
- Потрохов А.С., Зиньковский О.Г., Киризий Т.Я., Худяши Ю.Н. Изменение ряда морфологических показателей карпов под воздействием повышенной концентрации минерального азота в воде // Гидробиол. журн. – 2006. – 42(6). – С. 81 – 90.
- Doblender C., Lackner R. Metabolism and detoxification of nitrite by trout hepatocytes // Biochim. Biophys. Acta. – 1996. – 1289(2). – P. 270-4..
- Israeli-Weinstein D., Kimmel E. Behavioral response of carp (cyprinus carpio) to ammonia stress // Aquaculture. –1998. – 165(1-2). - P. 81-93.
- Jensen F.B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals//Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2003. - 135(1). – P. 9-24.

ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭМП НА РАЗВИВАЮЩИЕСЯ ЭМБРИОНЫ *DAPHNIA MAGNA*, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ОНТОГЕНЕЗА *D. MAGNA* В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В.В. Крылов

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742 Борок, Ярославская обл., Россия, kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

Реакции биологических объектов на слабые низкочастотные электромагнитные поля (ЭМП) имеют место лишь в некоторых частотно-амплитудных интервалах. В этой связи принято говорить о так называемых «окнах эффективности» при воздействии ЭМП.

Известно также, что действие слабых факторов на живые системы имеет зачастую непредсказуемый эффект. Изучение биологических эффектов ЭМП в эксперименте помогает понять механизмы такого действия. Для проведения исследований в этой области следует использовать чувствительные биологические тест-системы, чтобы зафиксировать действие ЭМП, как, собственно и любого другого слабого фактора.

Эксперименты проводились на развивающихся *in vitro* партеногенетических яйцах. Условия проведения экспериментов соответствовали условиям культивирования дафний в стандартных токсикологических методиках. Оценивалось действие ЭМП с величиной индукции 75 μT в ряду низких частот – 45, 110, 175, 240, 305, 370, 435 и 500 Гц. ЭМП создавалось в кольцах Гельмгольца, подключенных к генератору сигналов ГЗ-102.

Объектом экспозиции были партеногенетические яйца, соответствующие 3-5 выводку и полученные от дафний, развивавшихся индивидуально в среде объемом 50 мл. Число повторностей в опыте с каждой частотой было не менее трех. После вымета очередного потомства самку перемещали в стакан с чистой средой, где за ней наблюдали каждые 30 мин, чтобы отметить момент перехода яиц из яичников в выводковую камеру. Это событие рассматривалось как «нулевое» время в развитии яиц (t^0). Через 3 часа после t^0 с помощью препаровальной иглы яйца извлекались из выводковой камеры самки. Полученные яйца промывались, случайным образом разделялись на контрольные и опытные варианты, и помещались в малые чашки Петри (10 яиц в одну чашку). Чашки с опытным вариантом размещались в рабочем объеме колец Гельмгольца, контрольный вариант оставляли в тех же условиях, но без действия ЭМП. Начало воздействия ЭМП на развивающиеся яйца *D. magna* в наших опытах приходилось на стадию средней или поздней бластулы.

Экспозиция продолжалась до начала ювильного периода, соответствующего отделению хвостовой иглы от спины (рис 1а). Во время экспозиции оценивалось время наступления маркерных стадий развития. 1-я стадия (Т1) – выход развивающихся эмбрионов из первой (внешней) яичевой оболочки (рис 1б). Это событие происходит примерно через 24.8 ч. после t^0 . При этом симметрия яйца изменяется от радиальной к билатеральной. 2-я стадия (Т2) – выход развивающихся эмбрионов из второй (внутренней) яичевой оболочки (рис 1г), происходит приблизительно через 43.1 ч. после t^0 . В это время дистальные концы антенн отделяется от тела, и эмбрионы проявляют двигательную активность.

После отделения хвостовой иглы от карапакса, приблизительно к 68 часу после t^0 , развившихся ювильных особей рассаживали индивидуально в химические стаканы емкостью 50 мл, где они развивались до вымета первого потомства. Впоследствии для каждой самки проводились измерения морфометрических показателей. Подсчитывалось количество новорожденных в первом выводке и количество яиц в выводковой камере (2-й выводок).

Оценивая момент наступления маркерных стадий в раннем онтогенезе можно заключить, что расхождений между контрольными и экспериментальными вариантами в отношении времени выхода из первой яичевой оболочки (Т1) обнаружено не было (табл. 1). Вероятно, раннее развитие партеногенетических яиц до вылупления из первой яичевой оболочки имеет жесткую временную детерминацию, которую слабый внешний фактор не в состоянии нарушить. Но, с течением времени, постепенное усложнение развивающегося организма, увеличение взаимодействующих элементов позволяет слабым факторам влиять на время наступления определенных стадий развития, что проявилось уже в момент вылупления из второй яичевой оболочки (Т2).

Оценивая показатели, на которые ЭМП имело значимое влияние, можно выделить два блока частот в исследуемом диапазоне. Первый блок – 45, 110, 175 Гц характеризовался тем, что при действии ЭМП на дафний во время раннего онтогенеза наблюдалось ускоренное вылупление из второй яичевой оболочки, уменьшение количества производимого потомства в первом выводке и увеличение доли нежизнеспособного потомства в первом выводке. Причем в экспериментах с

частотой 175 Гц достоверно сокращались относительно контроля размерно-весовые показатели и число производимого потомства во втором выводке. Второй блок – 435 и 500 Гц. Действие ЭМП с такими частотами во время ранних этапов развития рачков приводило к ускорению вылупления из второй яйцевой мембраны и уменьшению числа производимого потомства в первом выводке. Действие ЭМП с частотой 240, 305 и 370 Гц на *D. magna* во время раннего онтогенеза практически не приводило к значимым отличиям от контроля по исследуемым показателям. Лишь в экспериментах с ЭМП с частотой 240 Гц наблюдалось достоверное увеличение количества потомства, производимого в первом выводке относительно контрольных значений

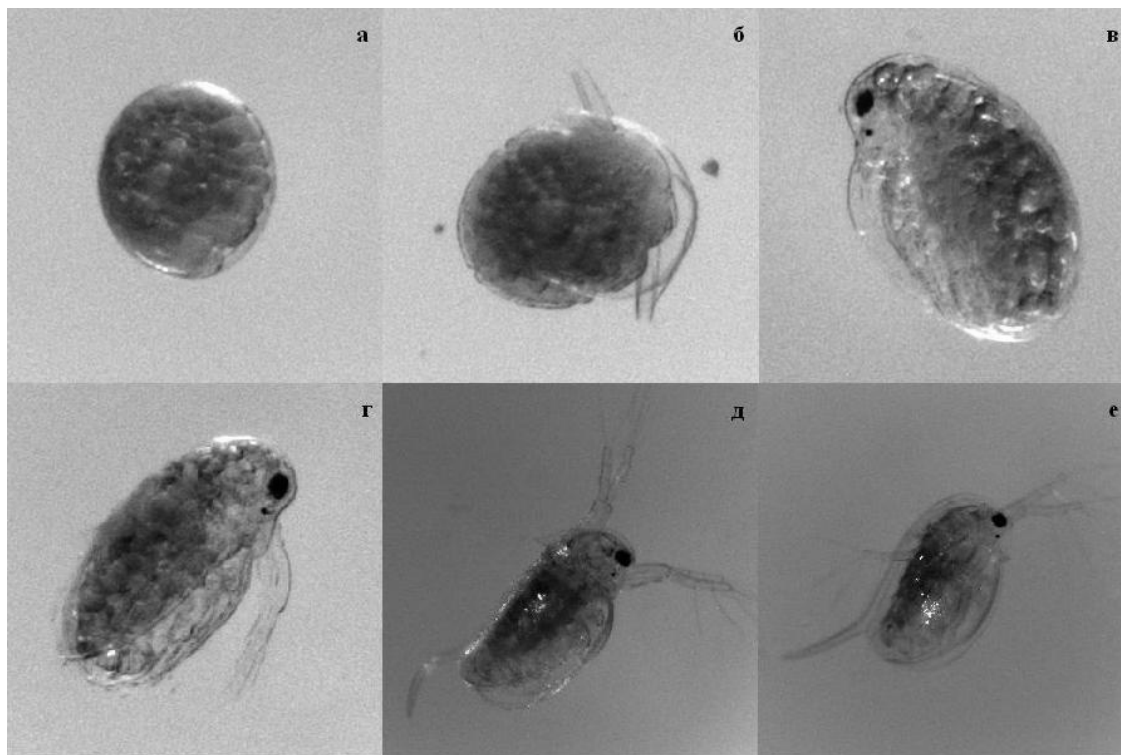


Рис. 1. Стадии раннего развития *D. magna*: а – яйцо; б – вылупление из первой яйцевой оболочки; в – развитие до вылупления из второй яйцевой оболочки; г – вылупление из второй яйцевой оболочки; д – отделение хвостовой иглы от карапакса; е – ювенильная особь. (фото авт.)

Можно заключить, что в отношении суммарного эффекта действие ЭМП частотного блока 435 и 500 Гц на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna* отличалось, хоть и в малой степени, от действия ЭМП частотного блока 45, 110 или 175 Гц. Однако, мы наблюдали негативные эффекты сходные в своем проявлении при действии различных по своим характеристикам ЭМП на биологические объекты. В литературе встречается описание подобных эффектов при действии ЭМП на ранние этапы онтогенеза различных животных, в том числе и гидробионтов (Ravera et al., 2006; Levin, Ernst, 1995; Komazaki, Takano, 2007). Но такие результаты не всегда говорят об идентичных механизмах первичного действия фактора на живую систему. Мы не ставили перед собой задачи рассмотреть конкретные модели действия ЭМП на объекты, однако, можно предположить, что в этом случае мы наблюдали общий эффект слабого стрессового характера. Действие ЭМП на какую-либо мишень могло быть различным, но, в дальнейшем отклонение параметра от нормы под действием слабого фактора в любую сторону приводило к общему негативному макроэффекту, вследствие высокой степени канализации раннего онтогенеза, его забуферивания, противодействующего нарушению развития (Waddington, 1942). Это вполне характерно при действии посторонних факторов на организм во время раннего онтогенеза.

Таблица 1. Созревание партеногенетических яиц, морфологические и продукционные показатели развившихся из них самок.

Частоты, Гц	T 1, часы	T 2, часы	Время созревания, сут.	L взрослых рачков, мм	W взрослых рачков, мг	Численность 1-го выводка, шт.	Доля мертворожденных в 1-м выводке	Численность 2-го выводка, шт.
45	24.06 ± 0.15	40.81 ± 0.15 *	8.47 ± 0.03	3.27 ± 0.02	2.68 ± 0.05	12.72 ± 0.72 *	0.230 *	31.90 ± 1.19
	24.30 ± 0.21	43.95 ± 0.46	8.56 ± 0.04	3.28 ± 0.03	2.70 ± 0.06	16.21 ± 0.69	0.023	32.62 ± 0.93
110	25.31 ± 0.44	43.70 ± 0.30 *	7.83 ± 0.08	3.24 ± 0.03	2.61 ± 0.06	12.71 ± 0.74 *	0.199 *	30.10 ± 0.81
	26.16 ± 0.33	45.92 ± 0.71	7.98 ± 0.07	3.29 ± 0.03	2.72 ± 0.08	16.00 ± 0.97	0.081	30.75 ± 1.01
175	25.31 ± 0.37	42.78 ± 0.19 *	8.44 ± 0.08	3.07 ± 0.03 *	2.21 ± 0.07 *	10.89 ± 0.83 *	0.143 *	22.28 ± 1.44 *
	25.60 ± 0.39	43.83 ± 0.17	8.25 ± 0.07	3.23 ± 0.04	2.57 ± 0.09	16.12 ± 0.63	0.040	28.00 ± 1.68
240	23.47 ± 0.25	42.55 ± 0.25	8.31 ± 0.06	3.01 ± 0.03	2.10 ± 0.06	14.89 ± 0.66 *	0.000	21.68 ± 1.31
	24.17 ± 0.24	42.74 ± 0.19	8.23 ± 0.08	3.06 ± 0.03	2.18 ± 0.06	11.47 ± 1.07	0.000	21.53 ± 1.52
305	25.09 ± 0.28	41.98 ± 0.38	8.33 ± 0.05	2.93 ± 0.05	1.91 ± 0.09	12.56 ± 0.84	0.024	25.12 ± 1.45
	24.86 ± 0.36	42.36 ± 0.26	8.42 ± 0.07	3.02 ± 0.04	2.09 ± 0.07	12.23 ± 0.71	0.071	24.32 ± 0.79
370	24.62 ± 0.31	43.12 ± 0.43	8.16 ± 0.09	2.86 ± 0.03	1.77 ± 0.06	12.03 ± 0.46	0.000	20.03 ± 1.01
	24.28 ± 0.25	43.67 ± 0.20	8.27 ± 0.04	2.83 ± 0.02	1.71 ± 0.05	12.77 ± 0.98	0.000	21.16 ± 1.14
435	23.82 ± 0.26	41.75 ± 0.10 *	7.84 ± 0.05	2.84 ± 0.04	1.73 ± 0.06	10.03 ± 0.58 *	0.157	16.98 ± 0.89
	24.33 ± 0.28	42.41 ± 0.11	7.92 ± 0.06	2.88 ± 0.03	1.82 ± 0.05	12.27 ± 0.42	0.118	18.59 ± 1.18
500	23.22 ± 0.25	40.03 ± 0.15 *	7.98 ± 0.07 *	2.78 ± 0.03	1.65 ± 0.06	8.11 ± 0.39 *	0.014	13.11 ± 0.68
	23.61 ± 0.22	41.56 ± 0.19	7.78 ± 0.03	2.80 ± 0.02	1.69 ± 0.03	9.40 ± 0.27	0.007	12.87 ± 0.60

Примечание: В числителе – значение показателя в эксперименте, в знаменателе – контрольное значение; достоверные отличия от контроля отмечены «*».

В представленных экспериментах эффекты были относительно незначительными для развивающихся партеногенетических яиц *D. magna*. Ускорение темпов развития в раннем онтогенезе практически не сказалось на сроках созревания самок, которые оценивались по времени появления четко выраженных яичников. Достоверные отличия от контроля по этому показателю наблюдались только в экспериментах с ЭМП с частотой 500 Гц. Здесь, после ускорения развития в раннем онтогенезе, созревание самок шло медленнее, чем в контроле. Эти данные согласуются с установленными ранее эффектами (Крылов, 2008). Достоверное уменьшение количества производимого потомства наблюдалось только в 1-м выводке, и, за исключением экспериментов с ЭМП с частотой 175 Гц, количество яиц, соответствующих второму выводку не отличалось от контроля. На протяжении всех экспериментов не наблюдалось достоверных различий в смертности рачков между контрольными и опытными вариантами. То есть развивающийся организм отвечает на слабое воздействие во время эмбриогенеза модификацией некоторых процессов, что нам и удалось зафиксировать, но впоследствии возвращается к нормальному физиологическому состоянию.

Показатели разнообразия и обобщенная дисперсия рассматриваемых морфологических признаков у дафний не выявили каких-либо четких закономерностей после действия ЭМП на рачков в раннем онтогенезе.

Общие принципы действия слабых факторов различной природы в какой-то мере сравнимы друг с другом. Одной из актуальных научных проблем является поиск быстрых и адекватных методов для оценки такого действия. В последнее время методика, описанная в этой работе, проходит апробацию в различных лабораториях мира. И если несколько лет назад заголовки публикаций по этой тематике заканчивались знаком вопроса: «*In vitro* development of parthenogenetic eggs: a fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*?» (Ohta et al., 1998; Sobral et al., 2001; Tatsuo et al., 2001), то сегодня описанный метод широко пользуется (Khangarot, Das, 2008). Основные его преимущества – высокая чувствительность при небольшой продолжительности опытов. В зарубежных публикациях оцениваются смертность яиц и время наступления меркерных стадий развития. При этом эксперимент продолжается 2 дня, а чувствительность метода сравнима с хроническим токсикологическим тестом. Мы, кроме этого, рассматривали продукционные показатели самок, развившихся из экспонированных яиц. Такой подход увеличивает продолжительность эксперимента на неделю, однако, это позволяет нам рассматривать отдаленные эффекты действия какого-либо фактора во время раннего онтогенеза, следовательно, еще более повышает чувствительность метода. В этом случае, мы можем исследовать эффекты действия каких-либо агентов, рассматривая весь жизненный цикл *D. magna*, чего нельзя сделать при проведении хронического токсикологического исследования.

Помимо приведенных выше преимуществ, следует сказать, что партеногенетические яйца от одной самки *D. magna* отличаются строгой синхронизированностью и генетической идентичностью, а их число в одном выводке может достигать 60 штук. Такая тест-система может быть интересна не только токсикологам, но и биохимикам, генетикам, молекулярным биологам.

Таким образом:

- Обнаружено два блока эффективных частот ЭМП – 45, 110, 175 Гц и 435, 500 Гц. При действии ЭМП с указанными частотами на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna* ускоряются темпы эмбрионального развития и ухудшаются продукционные показатели в первом выводке.
- ЭМП с частотами 240, 305 и 370 Гц не оказывают негативного действия на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna*.
- В исследованном спектре можно выделить частоту 175 Гц. ЭМП с такими характеристиками оказало наибольший суммарный эффект на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna*.
- Действие ЭМП с исследуемыми параметрами на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna* в наших экспериментах было относительно незначительным.

Список литературы

- Крылов В. В. Действие переменного электромагнитного поля сверхнизкой и низкой частоты на выживаемость, развитие и продукционные показатели *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera) // Биология внутренних вод. 2008. № 2. С. 33-39.
- Khangarot B.S., Das S. Toxicity of mercury on in vitro development of parthenogenetic eggs of a freshwater cladoceran *Daphnia carinata* // J. Hazard Mater. 2008. (in print).

Komazaki S., Takano K. Induction of increase in intracellular calcium concentration of embryonic cells and acceleration of morphogenetic cell movements during amphibian gastrulation by a 50-Hz magnetic field // J. Exp. Zool. Part A. Ecol. Genet. Physiol. 2007. V. 307. P. 156-162.

Levin M., Ernst S.G. Applied AC and DC magnetic fields cause alterations in the mitotic cycle of early sea urchin embryos // Bioelectromagnetics. 1995. V. 16. P. 231-240.

Ohta T., Tokishita S., Shiga Y., Hanazato T., Yamagata H. An assay system for detecting environmental toxicants with cultured cladoceran eggs in vitro: malformations induced by ethylenethiourea // Environ Res. 1998. V. 77 P. 43-48.

Ravera S., Falugi C., Calzia D., Pepe I.M., Panfoli I., Morelli A. First cell cycles of sea urchin *Paracentrotus lividus* are dramatically impaired by exposure to extremely low-frequency electromagnetic field // Biol. Reprod. 2006. V. 75. P. 948-953.

Sobral O., Chastinet C., Nogueira A., Soares A., Goncalves F., Ribeiro R. In vitro development of parthenogenetic eggs: a fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*? // Ecotox. Environ. Saf. 2001. V. 50. P. 174-179.

Tatsuo A., Hotaka S., Yoshiyuki N., Tadayoshi S., Yoshio N. Embryonic development assay with *Daphnia magna*: application to toxicity of aniline derivatives // Chemosphere. V. 45. 2001. P. 487-495.

Waddington C.H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters // Nature. 1942. V. 150. P. 563-565.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАЗНЫЕ ЗВЕНЬЯ ПРОЦЕССА ЭКЗОТРОФИИ У РЫБ

В.В.Кузьмина

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742 Борок, Ярославская обл., Россия, vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru*

В последние десятилетия активно исследуется влияние тяжелых металлов (ТМ) на пищевое поведение и процессы пищеварения у рыб (Касумян, Морси, 1998; Неваленный и др, 2003). При этом ранее, как правило, изучались эффекты лишь одной или нескольких концентраций ТМ. Вместе с тем концентрация ТМ в воде и пище может значительно варьировать. Кроме того, известно как о разной степени влияния различных ТМ на одну и ту же систему организма, так и о разной степени влияния одного и того же ТМ на разные системы организма рыб. Так, значения LC_{50} при 96 ч экспозиции карпа для меди на порядок ниже, чем для цинка - 0.2 и 2.0 мг/л соответственно (Столяр и др., 2003), в то время как различия в степени их влияния на вкусовые поведенческие ответы карпа в присутствии 1 мкМ меди лишь в 2-4 раза ниже, чем в присутствии 1 мкМ цинка (Касумян, Морси, 1998). Поскольку цинк и медь поступают в организм рыб преимущественно с пищей (Bury et al., 2003), пищеварительные ферменты могут сталкиваться со значительно большими концентрациями ТМ, чем рецепторы хемосенсорной и вкусовой систем. Однако ранее в пределах одной работы их влияние на начальное и центральное звено экзотрофии не сопоставлялось. В последнем случае особого внимания заслуживает изучение влияния ТМ на ферментные системы, обеспечивающие деградацию белков, так как в пище рыб доминируют белковые компоненты.

Поскольку сведения о действии различных концентраций цинка и меди на поведенческие реакции и активность протеиназ, разрушающих белковые компоненты пищи у рыб одного и того же вида, отсутствовали, цель работы состояла в исследовании их влияния начальное и центральное звенья экзотрофии рыб (на примере карпа).

Объект исследования - годовики карпа *Cyprinus carpio* L., масса тела сеголеток -40 ± 5 г., годовиков - 13.9 ± 4.2 г. Проведено несколько циклов экспериментов. Влияние ТМ на пищевое поведение оценивали в условиях, имитирующих планктонный и бентосный тип питания рыб. В первом случае определяли только латентное время питания (ЛВП) - время от момента соприкосновения пищевого объекта с поверхностью воды до момента схватывания его рыбой, величина которого обратно пропорциональна скорости пищевой реакции. Эксперименты проводили в непроточных аквариумах объемом 40 л (площадь дна 35×65 см) с принудительной аэрацией (температура $20 \pm 2^\circ\text{C}$, освещение естественное). Проведено два цикла экспериментов. Количество рыб в контрольной и опытных группах соответствовало 5. Влияние сернокислого цинка ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и сернокислой меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) исследовали в широком диапазоне концентраций - 0.13, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 мкМ (0.035, 0.07, 0.14, 0.28, 0.42, а также 0.03, 0.063, 0.13, 0.25 и 0.38 мг/л соответственно), в расчете на металл. Показания снимали через 0, 0.5, 1, 1.5, 3, 6, 24, 27 и 30 ч после помещения рыб в исследуемый раствор. Воду в аквариумах меняли ежедневно за 1 ч до начала опытов. Одновременно в аквариумы вносили предварительно растворенные соли металлов.

Для моделирования бентосного типа питания рыб помещали в установленную у задней стенки аквариума тех же размеров камеру (стартовый отсек) из прозрачного оргстекла с перфорациями размером $10 \times 5 \times 6$ см с подъемной передней стенкой. У противоположной стенки аквариума помещали 10 замороженных личинок хирономид (средняя масса 7.5 мг). Когда передняя стенка камеры поднималась, рыбы могли выходить из камеры для поиска и потребления корма. Пищевое поведение рыб оценивали по двум параметрам: t_1 – продолжительность нахождения рыб в стартовом отсеке после подъема передней стенки камеры; t_2 – ЛВП (период от выхода рыб из камеры до подхода к корму), R – рацион, число съеденных личинок хирономид за 3 мин наблюдения. Перед началом опытов рыб в течение 2 недель приучали находить корм в описанных выше экспериментальных условиях. За 2 дня до опыта рыб переставали кормить, после чего регистрировали указанные выше показатели, которые рассматривали как контрольные (0 ч). Затем исходный режим кормления экспериментальных групп рыб возобновляли и регистрировали значения ЛВП и рациона, предлагая личинок хирономид через 0.5, 3.0, 6.0, 24.0, 27.0 и 30.0 ч после кормления. Использовали 1 мкМ концентрации цинка и меди (0.28 и 0.25 мг/л соответственно). Было проведено четыре эксперимента по изучению пищевого поведения карпа: I – влияние ТМ на ЛВП и рацион рыб, II – сочетанное влияние ТМ и глюкозы, вводимой внутривентриально, на те же параметры, III – сочетанное влияние ТМ и аминокислот, вводимых внутривентриально, на те же параметры. IV – Сочетанное влияние ТМ и адреналина гидрохлорида. Аминокислоты (0.2 мМ) и глюкозу (0.2 мМ) в дозе 60 мг/кг массы тела, а также адреналин (0.14, 0.7 и 1.4 мг/кг массы тела) вводили внутривентриально. Каждый эксперимент включал 5 опытов.

Активность протеиназ слизистой оболочки кишечника годовиков карпа той же весовой группы определяли при помощи метода Ансона (Anson, 1938) в некоторой модификации. У рыб на холоду изымали кишечник, очищали его от жира и промывали. Готовили суммарные пробы. Гомогенаты готовили при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный до 2-4° С раствор Рингера для холоднокровных животных (109 mM NaCl, 1.9 mM KCl, 1.1 mM CaCl₂, 1.2 mM NaHCO₃) в соотношении 1:99. Определение проводили при pH 7.4 и температуре 20°С. Субстрат и ферментативно активный препарат (по 0.5 мл) инкубировали в течение 30 мин. Для оценки влияния цинка и меди (0.1, 1, 10, 25 и 50 мг/л в расчете на металл) на активность пищеварительных гидролаз опытных и контрольных рыб проводили предварительную предынкубацию ферментативно активных препаратов (1:49) в присутствии тяжелых металлов: в пробирку приливали 0.25 мл раствора соли тяжелого металла (CuSO₄·5H₂O или ZnSO₄·7H₂O) в указанной выше концентрации и 0.25 мл гомогената. Затем содержимое пробирок инкубировали в течение 1 ч при непрерывном перемешивании. После этого в каждую пробирку добавляли 0.5 мл субстрата и содержимое пробирок вновь инкубировали в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Для определения протеолитической активности (преимущественно активность трипсина, КФ 3.4.21.4) использовали 1% раствор казеина. Ферментативную активность определяли в 5-ти повторностях для каждой точки с учетом фона и выражали в мкмоль/(г·мин). Данные обработаны статистически с использованием приложения Excel программы MS'Office XP и Statgraph 6.0. Степень различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для малых выборок при $p \leq 0.05$, ≤ 0.01 или ≤ 0.001 .

Показано, что в присутствии цинка и меди (1.5 мкМ) признаки токсического отравления рыб (отказ от пищи, обильное выделение слизи, нарушение координации движений) наблюдаются через 72 и 48 ч соответственно. В течение 30 ч (до появления указанных выше признаков) при одной и той же концентрации металлов медь увеличивает ЛВП карпа при меньшем сроке экспозиции по сравнению с цинком. Так, первое достоверное увеличение ЛВП рыб в присутствии меди наблюдается через 3 ч при концентрации металла 1 мкМ, в присутствии цинка – при концентрации 1.5 мкМ, через 24 ч - при 0.5 и 1.0 мкМ, через 30 ч – при 0.13 и 0.25 мкМ соответственно. Сочетанное действие ТМ и адреналина в условиях планктонного типа питания рыб в большинстве случаев вызывает больший эффект по сравнению с эффектом одних металлов, а в ряде случаев и одного адреналина. Однако сочетанный эффект ТМ и гормона, как правило, ниже их суммарного эффекта. Сопоставление раздельного и сочетанного действия ТМ и утилизаторов (глюкоза и глутамат натрия) в этих же условиях показало, что их сочетанное действие также в целом ряде случаев достоверно ниже их суммарного эффекта. Однако это соотношение может изменяться вследствие колебательного характера изменения ЛВП при введении утилизаторов.

Данные, касающиеся влияния цинка и меди на ЛВП рыб в условиях бентосного типа питания, принципиально близки вышеописанным. Если у рыб контрольной группы этот показатель достаточно стабилен, то у рыб опытных групп уже через 3 ч после начала экспозиции в присутствии металлов наблюдается достоверное увеличение показателя на 21% по сравнению с контролем (табл.1). Максимальное увеличение ЛВП выявляется через 6 ч после начала опыта: под воздействием меди на

61%, под воздействием цинка на 52%. Эффект сохраняется в течение суток - показатель через 24 ч превышает контроль на 49 и 41% соответственно. В конце опыта ЛВП рыб, содержащихся в присутствии меди, превышает контроль на 23%, цинка – только на 9%.

Таблица 1. Влияние цинка и меди на скорость пищевой реакции карпа

Концентрация металла	Время экспозиции, ч					
	0.5	3	6	24	27	30
0	4.3±0.2	4.3±0.2	4.4±0.2	4.1±0.3	4.3±0.2	4.4±0.2
Cu, 1мкмоль/л	4.7±0.2	5.2±0.2*	7.1±0.3**	6.1±0.3**	6.0±0.3**	5.4±0.2**
Zn, 1мкмоль/л	4.8±0.2	5.2±0.2*	6.7±0.3***	5.8±0.2**	5.3±0.2**	4.8±0.1

Примечание. Здесь и в табл. 2 * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

Количество съеденного корма на протяжении опыта у рыб контрольной группы также изменяется незначительно (табл.2). У рыб опытных групп данный показатель под влиянием меди снижается через 3 ч после начала экспозиции: на 20% и на 16% под влиянием цинка. Максимальное снижение показателя наблюдается через 6 ч после начала опыта. При этом под действием меди рацион снижался на 37% и сохранялся на этом уровне в течение 24 ч экспозиции, после чего наблюдается некоторое увеличение показателя. Цинк снижает количество съеденного рыбами корма максимум на 27% по сравнению с контролем через 6 ч после начала экспозиции. Через сутки наблюдается увеличение показателя до 34%. К концу эксперимента рацион особей, содержащихся в присутствии меди, был ниже контроля на 16%, цинка - на 6%.

Таблица 2. Влияние Cu и Zn на рацион карпа

Концентрация металла	Время экспозиции, ч					
	0.5	3	6	24	27	30
0	5.1±0.1	5.1±0.2	4.9±0.1	5.1±0.1	5.0±0.2	5.0±0.2
Cu, 1мкмоль/л	4.8±0.1	4.1±0.2**	3.1±0.2***	3.2±0.2***	3.5±0.2***	4.2±0.2*
Zn, 1мкмоль/л	5.0±0.1	4.3±0.2*	3.6±0.2***	4.1±0.2**	4.3±0.2*	4.7±0.1

ЛВП рыб, инъецированных глюкозой, в присутствии меди увеличивается через 3 ч после начала опыта на 36%, через 6 ч - на 85% по сравнению с контролем.

Таблица 3. Влияние Cu и Zn на скорость пищевой реакции карпа на фоне глюкозной нагрузки

Вещества	Время экспозиции, ч					
	0.5	3	6	24	27	30
0	3.9±0.2	3.6±0.2	3.5±0.1	3.8±0.2	3.4±0.2	3.5±0.1
Cu, глюкоза	4.2±0.3	4.9±0.5*	6.5±0.6***	4.9±0.4*	4.2±0.2*	3.9±0.2
Zn, глюкоза	4.2±0.3	5.0±0.3**	5.8±0.5**	6.2±0.4***	4.1±0.2*	3.8±0.2
Глюкоза	4.6±0.4	5.2±0.5*	5.9±0.5**	4.5±0.3	4.2±0.3	3.5±0.2

В конце опыта ЛВП превышают контроль лишь на 11%. Под действием цинка на фоне глюкозной нагрузки максимальное увеличение ЛВП (на 63%) наблюдается через 24 ч экспозиции. В конце опыта ЛВП рыб опытной группы превышает ЛВП контрольной группы на 8%. Важно отметить, что у рыб, инъецированных глюкозой, но содержащихся в чистой воде, максимальное значение ЛВП (через 6 ч) превышает контроль лишь на 69%, а в конце опыта ЛВП не отличается от контроля. Количество съеденного корма под влиянием металлов наиболее значительно (на 38%) снижается через 6 ч экспозиции. В конце опыта рацион особей, инъецированных глюкозой, в присутствии меди остается более низким по сравнению с контролем (на 18%), в присутствии цинка равен таковому контролю. Рацион особей, инъецированных глюкозой, но обитающих в чистой воде, наименьшего значения достигает через 3 ч (снижается на 46%), после чего постепенно увеличивается, но не восстанавливается до уровня контроля (ниже на 20%). Близкие результаты получены при исследовании раздельного и сочетанного влияния ТМ и аминокислот на пищевое поведение в условиях бентосного типа питания рыб.

Данные, касающиеся влияния ТМ на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб, свидетельствуют о том, что медь оказывает большее воздействие, чем цинк, не только на начальное, но и на центральное звено экзотрофии. При этом выявлена зависимость величины эффекта от концентрации ТМ (рисунок).

Важно отметить, что ТМ в исследованные концентрации встречаются в тканях объектов питания рыб. При этом даже минимальная их концентрация вызывает достоверное снижение ферментативной активности. При концентрации 50 мг/л медь снижает активность протеиназ по казеину на 91%, цинк – на 72%, по гемоглобину – на 97 и 53% соответственно. Следовательно, наличие цинка и меди в пище рыб, а также резкое увеличение их концентрации в воде в результате аварийных сбросов, может значительно снижать активность протеиназ и, как следствие, эффективность начальных этапов ассимиляции белковых компонентов пищи рыб. Кроме того, уменьшение активности протеиназ приводит к снижению уровня сигнальных молекул (аминокислот), участвующих в регуляции пищевого поведения рыб.

В данной работе впервые проанализировано влияние тяжелых металлов на весь процесс экзотрофии рыб. Полученные результаты свидетельствуют о том, что цинк и медь негативно влияют как на начальное, так и на центральное звенья экзотрофии. Данные, касающиеся влияния ТМ на пищевое поведение, в значительной мере близки полученным ранее при исследовании влияния цинка и меди на пищевую активность и вкусовые поведенческие ответы отдельных особей карпа (Касумян, Морси, 1998).

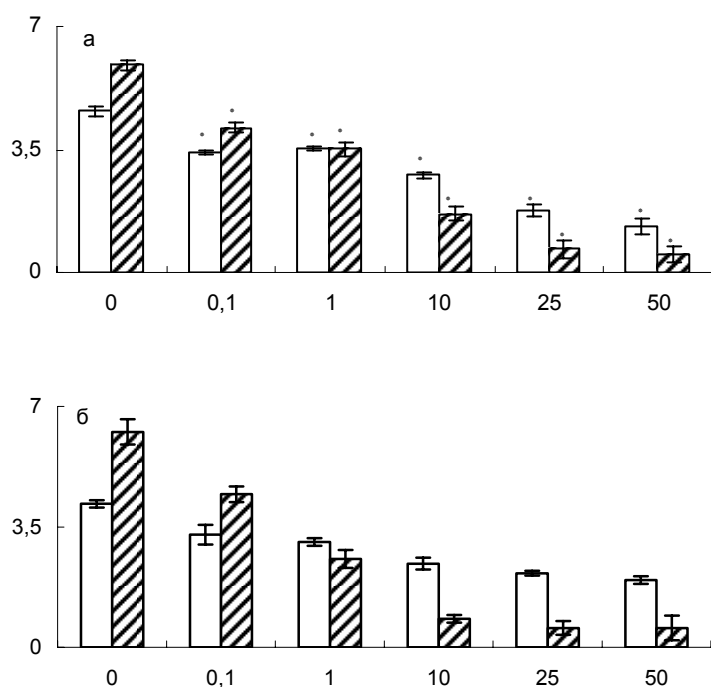


Рис. Влияние цинка (светлые столбики) и меди (заштрихованные столбики) на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника карпа по казеину (а) и гемоглобину (б).

Обозначения: по горизонтали – концентрация металлов, мг/л, по вертикали – активность протеиназ, мкмоль/(г·мин). *- достоверные различия по сравнению с контролем (0), $p < 0.05$.

Однако в данной работе выявлена возможность достоверного снижения пищевой реакции при значительно меньших концентрациях металлов – в присутствии 0.13 мкМ меди (30 ч экспозиция) и в присутствии 0.25 мкМ цинка (27 ч экспозиция). При этом показано, что в одни и те же сроки экспозиции эффекты меди несколько выше эффектов цинка. Последнее хорошо согласуется с результатами, свидетельствующими о более значительных деструктивных изменениях во вкусовых почках у золотой рыбки *Carassius auratus* под влиянием меди, чем цинка (Vijayamadhavan, Iwai, 1975). Однако ТМ могут взаимодействовать и с рецепторами других сенсорных систем. При этом дозозависимость может быть обусловлена как соотношением рецепторов и ионов, способных вступать во взаимодействие, так и их воздействием на медиаторные системы (Chuiiko et al., 2004). При этом начальные звенья экзотрофии значительно чувствительнее к действию ТМ по сравнению с центральными звеньями. Также важно отметить, что в природных условиях не все количество ТМ, попадающих в пищеварительный тракт, вступает во взаимодействие с пищеварительными ферментами, поскольку часть из них находится в связанной форме, а их активные ионные формы могут связываться с аминокислотами химуса и белками, в частности с металлотионеинами, входящими в состав слизистой оболочки кишечника рыб, и участвующими в их детоксикации

(Бауман, 1977). При этом значительное количество цинка и меди, поступающее в кишечник в составе панкреатического сока и желчи, может значительно увеличивать пул ТМ.

Таким образом, увеличение концентрации ТМ в воде, особенно при аварийных сбросах, может не только негативно влиять на пищевое поведение, но и снижать активность протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта, и, как следствие, эффективность начальных этапов ассимиляции белковых компонентов пищи рыб.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 06-04-48170).

Список литературы

- Бауман В.К. Всасывание двухвалентных ионов // Физиология всасывания. Гл. 4. Руководство по физиологии. Наука. Л. 1977. С. 152-121.
- Касумян А. О., Морси А. М. Х. Влияние тяжелых металлов на пищевую активность и вкусовые поведенческие ответы карпа *Cyprinus carpio*. 1. Медь, кадмий, цинк и свинец // Вопр. ихтиологии. 1998. Т. 38. №3. С. 393-409.
- Неваленный А. Н., Туктаров А. В., Бедняков Д. А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб. Астрахань: АГТУ, 2003. 152с.
- Столяр О. Б., Курант В. З., Хоменчук В. А., Грубинко В. В. Характеристика низкомолекулярных серосодержащих соединений гепатопанкреаса карпа при интоксикации медью и цинком // Гидробиол. журн. 2003. Т. 39. N 4. С. 91-98
- Anson M. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J.Gen. Phys. 1938. V.22. P.79-83.
- Bury N. R., Walker P. A., Glover Ch. N. Nutritive metal uptake in teleost fish // J. Exp. Biol. 2003. V. 206. P. 11-23.
- Chuiko G.M., Gerassimov Y.V., Pavlov D.D. Cholinergic regulation of feeding behavior of bream *Abramis brama*, a freshwater teleost // Abstr. Pavlov Centenary Symposium Integrative physiology&behaviour. June 19-22, 2004. Saint Petersburg, 2004. P. 50.
- Vijayamadhavan K. T., Iwai T. Histochemical observations on the permeation of heavy metals into taste buds of goldfish // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1975. V. 41. P. 631-640.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ НА ГИДРОБИОНТЫ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ИОННОГО ОБМЕНА

В.И. Мартемьянов

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
п. Борок, Ярославской обл., martem@ibiw.yaroslavl.ru*

Многие методики по изучению влияния неблагоприятных воздействий, включая токсиканты, на состояние организма гидробионтов основываются на применении показателей, связанных с обменом веществ между организмом и средой, который осуществляется через жабры. Этот орган имеет обширную поверхность, пронизанную густой сетью капилляров, которые отделены от внешней среды одним слоем высокопроницаемых клеток. Такое строение жабр позволяет растворенному в воде кислороду в больших количествах легко проникать в кровь. Однако такая структура жабр имеет также негативные последствия. Содержание различных ионов во внутренней среде пресноводных рыб существенно выше, чем в пресной воде. В силу этого обстоятельства между протекающей в жабрах кровью и внешней средой создаются ионные градиенты, обуславливающие диффузию главным образом ионов натрия, калия и хлора из крови через поверхность жабр во внешнюю среду. Некоторая часть ионов удаляется из организма рыб с мочой. Этим негативным процессам противостоят структуры (ионные насосы), расположенные главным образом в жабрах, которые осуществляют активный транспорт ионов из внешней среды в кровь и выводят продукты жизнедеятельности, поддерживая осмотический, ионный и кислотно-щелочной баланс организма.

Показано, что неблагоприятные факторы, в том числе антропогенного характера (закисление пресных вод вследствие выпадения кислых осадков, загрязнение среды аммонием, тяжелыми металлами и отравляющими веществами, применяемыми в сельском хозяйстве), негативно влияют на жаберный эпителий, усиливая утечку из организма разных ионов, приводя к нарушению водно-солевого баланса и снижению устойчивости гидробионтов. Применяемые методики по изучению обмена ионов между организмом гидробионтов и средой существенно различаются по использованию дорогостоящего оборудования и реактивов, степени безопасности, трудоемкости, сложности расчета данных, необходимого количества животных, дополнительных воздействий

оказываемых на изучаемые объекты различными манипуляциями при проведении экспериментов. Все это существенно сказывается на результатах, затрудняя проводить качественную и количественную оценку данных.

Целью настоящей работы является проведение критического анализа применяемых методик и обоснование простого и удобного способа, позволяющего оценивать на основе измерения содержания электролитов в пробах воды экспериментальной емкости, закономерности, величину и продолжительность изменений перераспределяемых между организмом и средой ионов от начала воздействия неблагоприятных факторов и до завершения адаптации к новым условиям.

Обмен вещества между гидробионтами и пресной водой описывают, тремя параметрами: поток (потери) ионов из организма во внешнюю среду; поток (активный транспорт) в организм; чистый (результатирующий) поток, представляющий разность между потерями из организма и активным транспортом в организм. Потоки ионов многие авторы рассчитывают в виде скорости, реже выражают как содержание вещества на массу организма.

Общая потеря вещества из организма в пресную воду происходит, главным образом через жабры, небольшая часть через покровы и с мочой. Этот показатель выражают через скорость (V_o в отечественной литературе, f_{out} , J_{out} в иностранных работах) и определяют различными методами. При использовании изотопов, акклиматизированные к разным условиям животные, включая неблагоприятные, извлекаются из емкости, инъецируются раствором, содержащим определенное количество радиоактивного иона. После этого гидробионты возвращаются в исходную среду, где происходит потеря из организма введенного меченого элемента. Спустя определенное время (от 3 часов и более), животные вновь отлавливаются, помещаются в камеры для определения радиоактивности в целом организме. По убыли меченого иона рассчитывают скорость потери данного элемента. В другом способе гидробионты вначале помещаются в небольшие индивидуальные емкости, содержащие воду с известным количеством изотопа. Через несколько часов, необходимых для поступления в организм достаточного количества меченого иона, животные извлекаются из емкостей и помещаются в камеры для измерения радиоактивности, после чего выпускаются в большой объем воды без изотопа. В течение нескольких часов меченый ион вымывается из организма. Животные вновь отлавливаются и помещаются в камеры для измерения радиоактивности. По количеству поступившего в организм изотопа рассчитывают скорость транспорта (V в отечественной литературе, f_{in} , J_{in} в иностранных работах), а по вымыванию скорость потерь. Данные, полученные таким способом (McWilliams, Potts, 1978), представлены на рисунке (а). В этих опытах кумжа, содержащаяся при разных значениях pH среды, отлавливалась, промывалась в течение нескольких минут в дистиллированной воде и переносилась в индивидуальные пластиковые трубы, наполненные по 4 л искусственной среды, сходной по составу исходной. В каждую емкость добавлялось определенное количество раствора, содержащего радиоактивный натрий. Через 3 часа животных извлекали для подсчета радиоактивности и затем помещали в большие объемы воды, не содержащей изотопа. Спустя 12-15 часов рыб извлекали для подсчета радиоактивности. По количеству накопленного в организме меченого натрия рассчитывали скорость его транспорта (рис. а, светлые маркеры соединенные пунктирными линиями), а по количеству вымывшегося из тела изотопа определяли скорость потерь (рис. а, темные маркеры, соединенные сплошными линиями). Видно, что при pH среды между 6 и 7 скорость потерь и активного транспорта были равны между собой, составляя в среднем около 0.013 ммоль/100 г в час, свидетельствуя о равновесии ионного баланса. При pH воды ниже 6 происходит ингибирование активного транспорта ионов натрия и усиление его потерь из организма, указывая на смещение ионного баланса в сторону обессоливания организма. Этот факт подтвержден многими исследователями на различных видах рыб. Методы с использованием радиоактивных изотопов требуют дорогого специального оборудования и опасны как для самого исследователя, так и изучаемого объекта. Чтобы снизить степень опасности, обычно используют небольшие концентрации изотопов. В таких случаях уловить изменения количества перераспределенного между организмом и средой радиоактивного элемента удастся только при длительной (несколько часов) экспозиции животных в растворах, что не позволяет применить эти методы для изучения динамических характеристик показателя от начала какого-либо воздействия и до завершения адаптации к новым условиям. Применяемые методики включают в себя многочисленные манипуляции, которые изменяют физиологическое состояние животных во время длительной экспозиции в радиоактивных растворах, влияя на конечный результат.

Другие способы определения общих потерь какого-либо вещества из организма включают помещение гидробионтов на определенное время в дистиллированную воду или соответствующий раствор, не содержащий исследуемый электролит. После этой процедуры животных перемещают в пресную воду. По изменению концентрации вещества за время экспозиции в воде рассчитывают

скорость чистого потока (V_c в отечественной литературе, f_{net} , J_{net} в зарубежных работах), а по разности между общей потерей и чистым потоком определяют активный транспорт, направленный в организм.

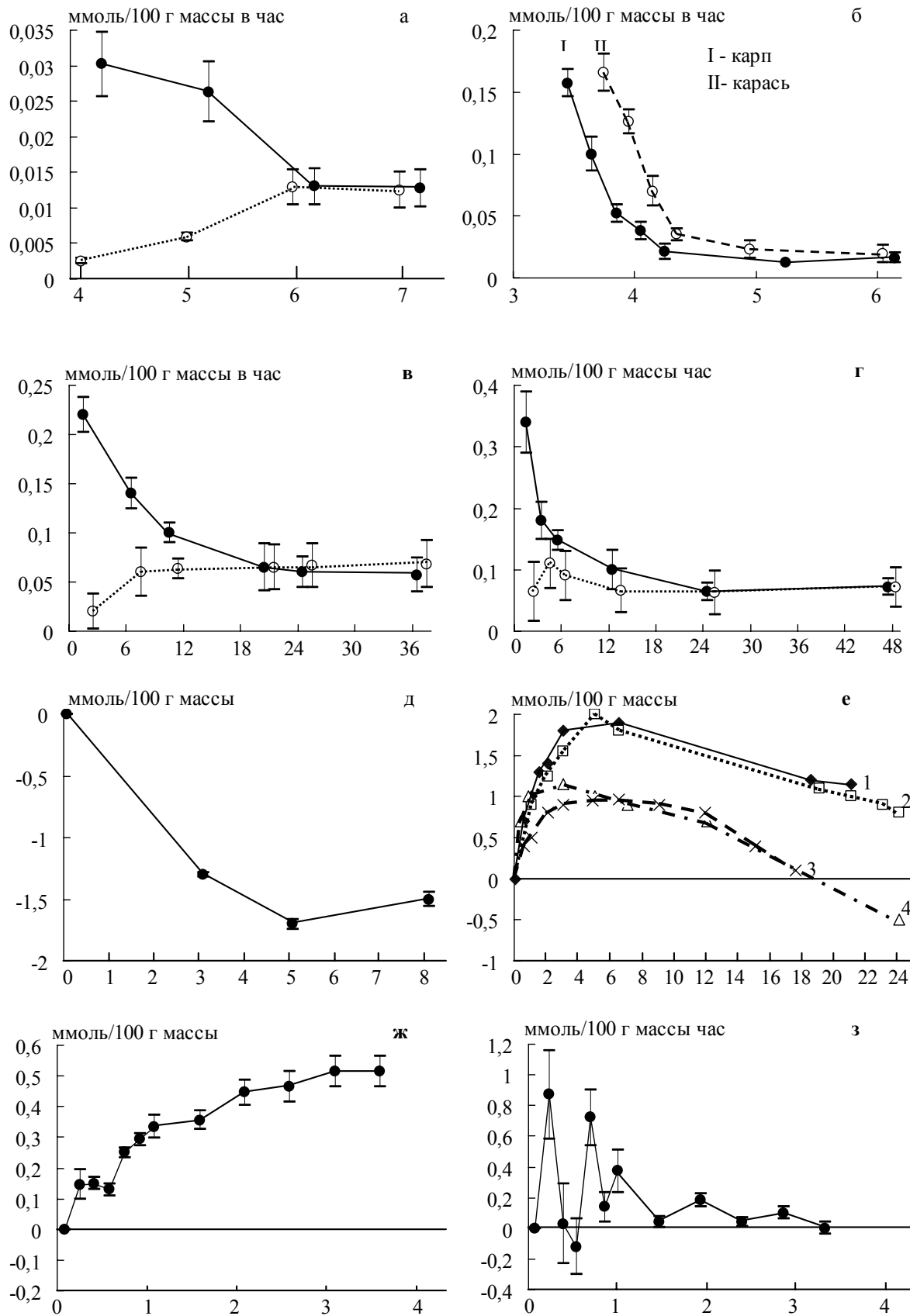


Рисунок. Кинетические характеристики обмена ионов натрия между организмом рыб и средой при адаптации к различным условиям (пояснения в тексте).

Эти методики применяются при исследованиях по выявлению влияния природных (рН, температуры, ионного состава воды) и антропогенных (пестицидов, тяжелых металлов, солей аммония и др.) факторов (Виноградов, 2000). В опытах, проведенных Виноградовым (2000), карпы и караси содержались при разных значениях рН внешней среды (рис. б). Рыб отлавливали и по одиночке помещали на 15 мин в небольшие сосуды с дистиллированной водой. По накоплению натрия в дистиллированной воде рассчитывали скорость потерь этого иона из организма. У рыб, акклиматизированных к среде с рН между 5 и 6, скорость потерь ионов натрия составила в среднем 0.016 - 0.019 ммоль/100 г в час. При уменьшении рН среды ниже 4 потери натрия из организма резко возрастали, приводя через определенное время к гибели рыб. Результаты, полученные изотопным анализом (рис. а) и методик с применением дистиллированной воды и других растворов (рис. б), близки между собой для животных, находящихся в сходных условиях. Это позволяет отказаться от изотопного анализа, поскольку он является опасным, трудоемким, более дорогостоящим и требует длительной экспозиции в растворах, что препятствует его использованию для исследования динамических характеристик. Способы с использованием дистиллированной воды и соответствующих растворов были применены для изучения изменений кинетических характеристик ионного обмена во времени в ответ на различные воздействия. В опытах Виноградова (2000) девятииглая колюшка была акклиматизирована к нейтральной среде. Затем рН воды снизили до 5. Через 40 мин рыб отловили из аквариума и индивидуально поместили на 15 мин в небольшие емкости с дистиллированной водой для определения скорости потерь ионов натрия из организма (рис. в, темные маркеры, соединенные сплошными линиями). Затем рыбы были перемещены на 15 мин в аналогичные емкости с пресной водой для определения поглощения ионов натрия из среды (рис. в, светлые маркеры, соединенные штриховыми линиями). После этого рыб вернули в исходную среду с рН 5. В последующем, чтобы определить значения показателей во времени, рыб извлекали из исходной среды с рН 5 в интервалы времени 6, 10, 20, 26 и 36 часов, и каждый раз помещали в дистиллированную и пресную воду. Сразу после воздействия скорость потерь ионов натрия была очень высокой и постепенно снижалась во времени, достигая равновесия с активным транспортом этого катиона через 20 часов акклиматизации. Видно, что для изучения динамических характеристик, данный метод включает в себя многочисленные перемещения во времени одних и тех же особей в дистиллированную, пресную и исходную среду.

Показано (Виноградов, 2000), что эти манипуляции оказывают влияние на показатели ионного обмена между организмом и средой. Плотва была отловлена неводом, а затем через 20 мин индивидуальных особей поместили на 15-30 мин в раствор хлористого кальция для определения общей скорости потери ионов натрия (рис. г, темные маркеры, соединенные сплошными линиями). Затем индивидуальные рыбы были перемещены на 15-30 мин в небольшие объемы пресной воды для получения данных необходимых для расчета скорости транспорта (рис. г, светлые маркеры, соединенные штриховыми линиями). После этого животных вернули в аквариум. В последующем, эти манипуляции были повторены в течение 42 часового периода многократно. Скорость утечки ионов натрия из организма плотвы в начальный период была максимальной и постепенно снижалась, достигая равновесия с активным транспортом к концу первых суток акклиматизации. В дальнейшем применяемые манипуляции не оказывали влияния на изучаемые показатели, свидетельствуя о тренированности рыб. Сравнение результатов, полученных на девятииглой колюшке в опытах со смещением рН среды на фоне многочисленных перемещений (рис. в) и плотве с применением только манипуляционных процедур (рис. г), показывает, что наблюдаемые изменения кинетических характеристик обмена натрия, являются сходными как по величине, так и по продолжительности. В связи с этим, у девятииглой колюшки невозможно отделить изменения показателей, обусловленные сдвигом рН воды и манипуляционными процедурами.

Исключить манипуляционные процедуры при оценке влияния неблагоприятных факторов можно на основе определения чистого потока вещества между гидробионтами и средой за счет измерения уровня электролитов в организме или пробах воды. В экспериментах, проведенных на ювенильных особях радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) массой 6-25 г, состояние стресса вызвали полным ограничением рыб в течение 8 часов возможности плавать (Postlethwaite, McDonald, 1995). Содержание ионов натрия определяли в целом организме у групп рыб, взятых в начале опыта и затем через 3, 5, 8 час от начала ограничения возможности плавать (рис. д). Видно, что в течение первых 5 часов концентрация ионов натрия в теле рыб существенно снижалась, указывая на обессоливание организма. Существенным недостатком этого метода является необходимость наличия большого количества животных. Причем при подготовке проб для анализа необходимо каждую особь вначале растворить в азотной кислоте (процедура крайне вредная для экспериментатора и окружающей среды), а затем в дистиллированной воде. Только после этого

возможно определение ионов в подготовленных образцах. Кроме того, растворить в кислоте крупные экземпляры крайне сложно, требует большого количества реактивов, что удорожает проводимые эксперименты.

В наших опытах (рис. е), 4-6 летние лещи отлавливались из бассейна и помещались в 6 л емкости, наполовину заполненные водопроводной водой. В этих условиях рыбы были плотно прижаты к стенкам емкости и не могли перемещаться (иммобилизация). В опытах 1 и 2 в каждой емкости находилось по 2 особи общей массой 767 и 626 г, соответственно. В опытах 3 и 4 в емкости помещали по одной рыбе массой 431 и 370 г. До и после посадки рыб из емкостей отбирали пробы воды для определения уровня ионов натрия. Отлов и ограничение рыб сопровождались в течение первых 4-6 часов увеличением концентрации натрия во внешней среде, свидетельствуя об обессоливании организма. В дальнейшем уровень натрия в воде снижался, указывая на преобладание транспорта этого иона в организм. Эффект зависел от плотности посадки рыб. Сравнение результатов, полученных на леще (рис. е) и радужной форели (рис. д) разными способами, показывает, что изменения чистого потока ионов натрия между организмом и средой у 2х видов являются сходными как по продолжительности, так и количеству. Однако наиболее простым, безопасным и с минимальным объемом работ является способ определения чистого потока на основе измерения содержания ионов в воде экспериментальной емкости, где находятся гидробионты.

В другой серии экспериментов сразу после 10 мин притонения неводом, 12 особей двухлетних лещей массой 51.3-131 г по одиночке поместили в пластиковые емкости, наполненные по 1 л речной воды. Спустя 1 мин, а затем в ходе 20 мин транспортировки и последующей акклимации в лаборатории, из каждой емкости с 10 мин интервалами осуществляли отбор проб воды, в которой измеряли концентрацию ионов натрия. Отлов и транспортировка 2х летних лещей сопровождались в течение первых 2 часов увеличением содержания натрия в окружающей рыб воде, свидетельствуя о преобладании выхода ионов из организма (рис. ж.). В последующий период акклимации в лабораторных условиях, накопление этих ионов во внешней среде прекращалось, оставаясь на стабильном уровне. Чистая скорость перераспределения ионов натрия между организмом и средой изменялась во времени в виде затухающего гармонического колебания (рис. з). Максимальная скорость потери натрия из организма наблюдалась в первые 10 мин после отлова рыб, затем в пределах 20 мин следовало ее резкое снижение до минимального значения, которое в последующие 10 мин вновь увеличивалось, но уже на меньшую величину. Через 2 часа, чистая скорость обмена натрия между организмом и средой достигало нулевого значения (состояние баланса), оставаясь относительно постоянной в последующий период акклимации рыб к лабораторным условиям.

Таким образом, наиболее простым, удобным, экономичным и информативным способом для оценки влияния неблагоприятных факторов является определение чистого потока ионов между организмом и средой за счет измерения содержания электролитов в пробах воды из экспериментальной емкости. Из-за неограниченной возможности очень частого отбора проб воды, не тревожа животных, этот метод позволяет на одной выборке индивидуальных животных оценить закономерности, величину и продолжительность изменений чистого потока какого-либо иона между организмом и средой от начала воздействия и до завершения процесса адаптации к новым условиям. Примененный подход удобно использовать для изучения влияния токсических веществ в зависимости от силы и продолжительности действия. Одиночные особи, а слишком мелкие гидробионты группами, помещаются в емкости с проточной водой и акклимируются при постоянных условиях пределах 1-2х недель. Затем проток останавливается, а в емкость вносится токсикант. Сразу после воздействия из емкостей с требуемыми интервалами времени отбирают пробы воды, в которых измеряются уровни ионов, а по формулам рассчитывается количество и чистая скорость перераспределяемого между организмом и средой электролита.

Список литературы:

- Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб и беспозвоночных. М.: Наука, 2000. 216 с.
- McWilliams P.G. Potts W.T.W. The effects of pH and calcium concentrations on gill potentials in the brown trout, *Salmo trutta* // J. Comp. Physiol. 1978. V. 126. P. 277-286.
- Postlethwaite E.K., McDonald D.G. Mechanisms of Na^+ and Cl^- regulation in freshwater – adapted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during exercise and stress // J. Exp. Biol. V. 198. № 2. 1995, P. 295-304.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ РАДИАЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ

В.А. Медведь, П.Д. Клоченко, А.В. Калиновская, З.Н. Горбунова

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, Украина
04210, Киев-210, Героев Сталинграда просп12, Украина, g_marlay@kots.kiev.ua

В последнее десятилетие в связи с уменьшением концентрации озона в атмосфере увеличивается уровень солнечного коротковолнового ультрафиолетового излучения, которое оказывает существенное влияние на физиологические процессы, протекающие в клетках первичных продуцентов.

Солнечная ультрафиолетовая радиация, хотя и не играет существенной роли при протекании физиологических процессов в организме, в избыточном количестве является стрессовым фактором, так как ускоряет протекание негативных изменений сильнее, чем избыток видимого света из-за более высокого квантового значения ультрафиолета.

В процессе эволюции растения выработали защитные и репарационные механизмы от избытка солнечной радиации. В то же время, при ее увеличении в атмосфере могут происходить как обратимые, так и необратимые повреждения в клетках растительных организмов (Smith et al., 1992). Экспериментально установлено, что повышенные дозы ультрафиолета уменьшают способность растений к поглощению атмосферного CO₂, вызывают инактивацию нуклеиновых кислот и белков, торможение активности энзимов, обесцвечивание фотосинтетических пигментов, влияют на фотосинтез и синтез АТФ (Ндгер, 1997; Rai, Rai, 1997), нарушают поглощение аммония, нитратов и фосфатов у водорослей (Dohler, 1997). В литературе имеются данные о том, что существенное увеличение ультрафиолетового излучения может изменять видовой состав, распределение фитопланктона и даже целостность экосистемы (Ндгер et al., 1993; Vassiliev et al., 1994).

Целью настоящей работы было изучение особенностей изменения содержания основных фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) и активности каталазы у представителей разных систематических групп водорослей (Cyanophyta, Euglenophyta и Rhodophyta) при искусственном ультрафиолетовом (УФ) облучении.

Объекты и методы. Исследования проводили с альгологически чистыми культурами водорослей, находящимися на стационарной фазе роста и различающимися по составу пигментов: *Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1 (хлорофилл *a*, С-фикоцианин, *в*-каротин, эхиненон, зеаксантин, миксоксантофилл), *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (Ag.) Kondrat. HPDP-18 (хлорофилл *a*, С-фикоцианин, *в*-каротин, эхиненон, миксоксантофилл, виолаксантин), *Euglena gracilis* Klebs HPDP-114 (хлорофиллы *a* и *b*, *в*, *б* и *е* каротины, зеаксантин, виолаксантин, флавоксантин, неоксантин) и *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross (= *Porphyridium cruentum* (Ag.) Nag.) HPDP-141 (хлорофилл *a* и *d*, фикоэритрин, фукоксантин, *б* и *в*-каротины). Водоросли выращивали на средах, применяемых при лабораторном культивировании, в условиях освещения лампами дневного света и при температуре 22–24 °С (Методы....., 1975; Сиренко и др., 2005). Облучение водорослей осуществляли ртутной лампой с полным ультрафиолетовым спектром в течение 5 и 10 мин. на протяжении 4-х суток. Контролем служили не облученные УФ-светом культуры. Определяли содержание пигментов (Jeffrey, Humphrey, 1975; Lorenzen, 1967) и активность каталазы (Пучинок, 1976).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у исследованных видов Cyanophyta и Rhodophyta фотосинтетические пигменты характеризуются определенной устойчивостью к разрушающему действию ультрафиолетового облучения (рис. 1.). У *A. cylindrica* явного влияния УФ-радиации на концентрацию хлорофилла *a* и суммы каротиноидов при непродолжительном его действии не отмечено. В то же время, увеличение длительности облучения культуры до 10 мин привело к некоторому повышению количества указанных пигментов (см. рис. 1.). Для *Ph. autumnale* f. *uncinata* зарегистрировано более значительное увеличение содержания хлорофилла *a* и каротиноидов (в 2.9 и 2.8 раза, соответственно) при непродолжительном (5 мин) действии УФ-света, по сравнению с режимом 10 мин.

У красной водоросли *P. purpureum*, которая по набору пигментов близка к синезеленым, тенденция изменения хлорофилла *a* была такой же, как для *Ph. autumnale* f. *uncinata*. Иначе выглядела картина изменения содержания каротиноидов. В частности, при непродолжительном облучении культуры УФ-светом синтез этих пигментов усиливался на 67%, в то время как при длительном – наблюдалось уменьшение их количества на 27% (по сравнению с контролем).

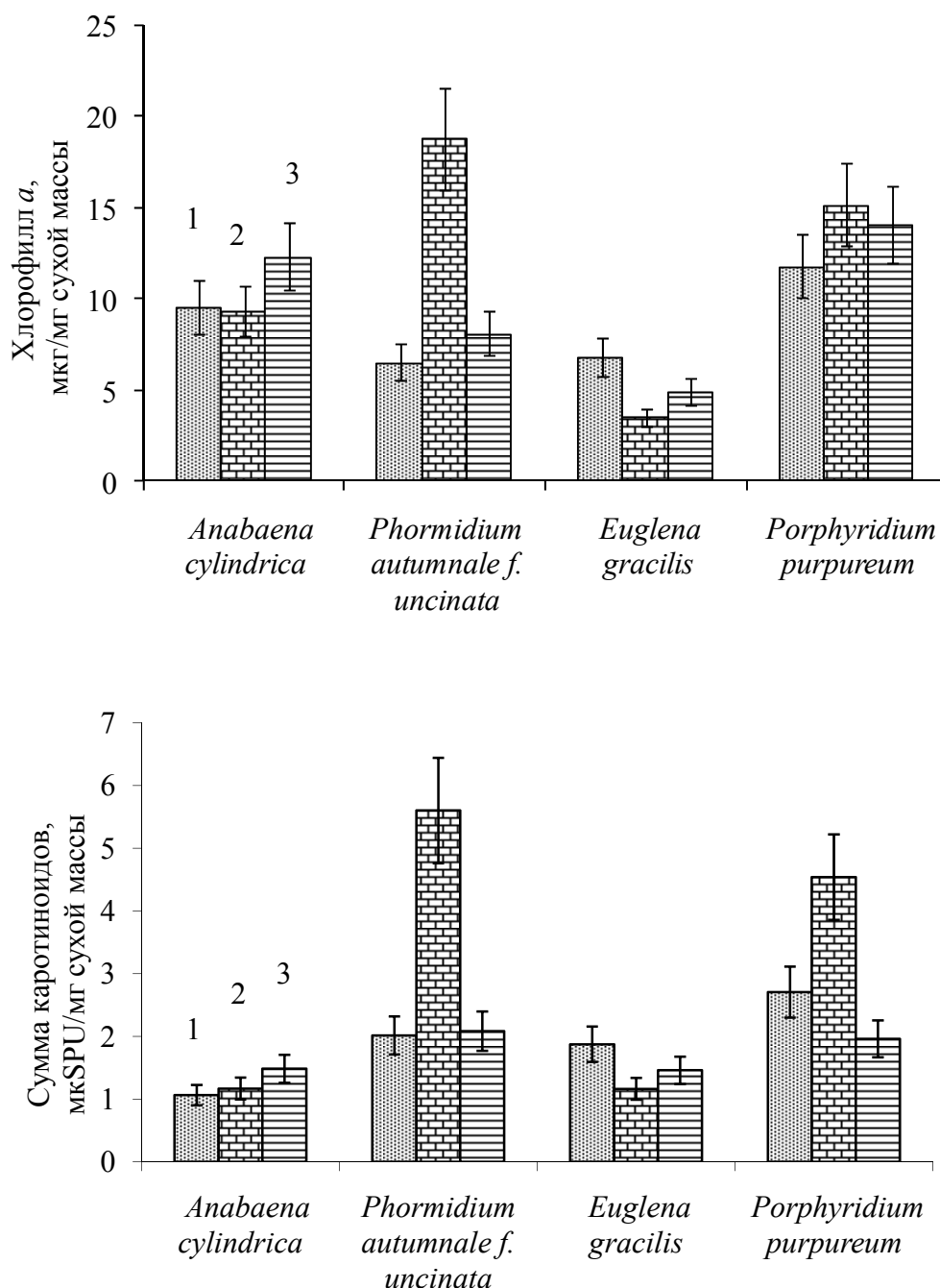


Рис. 1. Концентрация хлорофилла *a* и суммы каротиноидов после облучения УФ-светом культур водорослей: 1 – Контроль, 2 – 5 мин, 3 – 10 мин.

На наш взгляд, такой характер реакции пигментной системы у исследуемых представителей гормогониевых синезеленых водорослей – *A. cylindrica* и *Ph. autumnale f. uncinata* и красной – *P. purpureum*, с одной стороны, обусловлен их морфологическими особенностями (наличие слизи и др.), с другой – синтезом дополнительных пигментов, выполняющих защитную функцию хлорофиллоносного аппарата при излишней солнечной радиации. У представителей Cyanophyta эту роль могут выполнять сцитонемин, микоспориноподобные аминокислоты (Donkor, Hdder, 1995) и фикобилипротеиды, перехватывающие более 99% УФ-лучей, прежде чем они проникнут в клетку и вызовут деструкцию хлорофилла *a* и каротиноидов (Araoz, Hdder, 1997), а у Rhodophyta – фикоэритрин (Горюнова и др., 1969),

В то же время необходимо отметить, что для *Ph. autumnale f. uncinata* и *P. purpureum* при непродолжительном облучении характерно увеличение синтеза каротиноидов, что свидетельствует об усилении роли этих пигментов в защите клетки от поражающего действия УФ-радиации (Рис 1).

Облучение УФ-светом *E. gracilis*, которая по составу фотосинтетических пигментов близка к зеленым водорослям, сопровождалось уменьшением количества хлорофилла *a* и каротиноидов, причем более заметное при его непродолжительном действии (на 50 и 40% соответственно), чем при длительном (на 27 и 22%). Снижение концентрации основных фотосинтетических пигментов происходило параллельно с увеличением количества продуктов разрушения хлорофилла *a* – феопигментов, а так же и величины отношения индекса $I_{430/664}$. Это свидетельствует о негативном влиянии УФ-радиации на клетки эвгленовой водоросли. Учитывая, что для синезеленых водорослей характерен процесс фотореактивации повреждений, полученных при действии повышенных доз УФ-света (Барашков, 1972), вполне вероятно, что изменения величины содержания пигментов у исследованных представителей Cyanophyta обусловлены этим фактором.

В этой связи мы определили содержание хлорофилла *a* и каротиноидов у *A. cylindrica* и *Ph. autumnale* f. *uncinata* через два часа после их облучения УФ-лучами при тех же режимах – 5 и 10 мин.

Анализ полученных данных показал, что у *A. cylindrica* реакция пигментов на действие УФ-света имела ту же направленность (повышение), что и при облучении культуры в течение 4-х суток. Для *Ph. autumnale* f. *uncinata* было зафиксировано снижение содержания исследованных пигментов на 27-35%. Это свидетельствует, с одной стороны, о способности *Ph. autumnale* f. *uncinata* к фотореактивации повреждений, с другой, об устойчивости *A. cylindrica* к действию исследованного стрессового фактора.

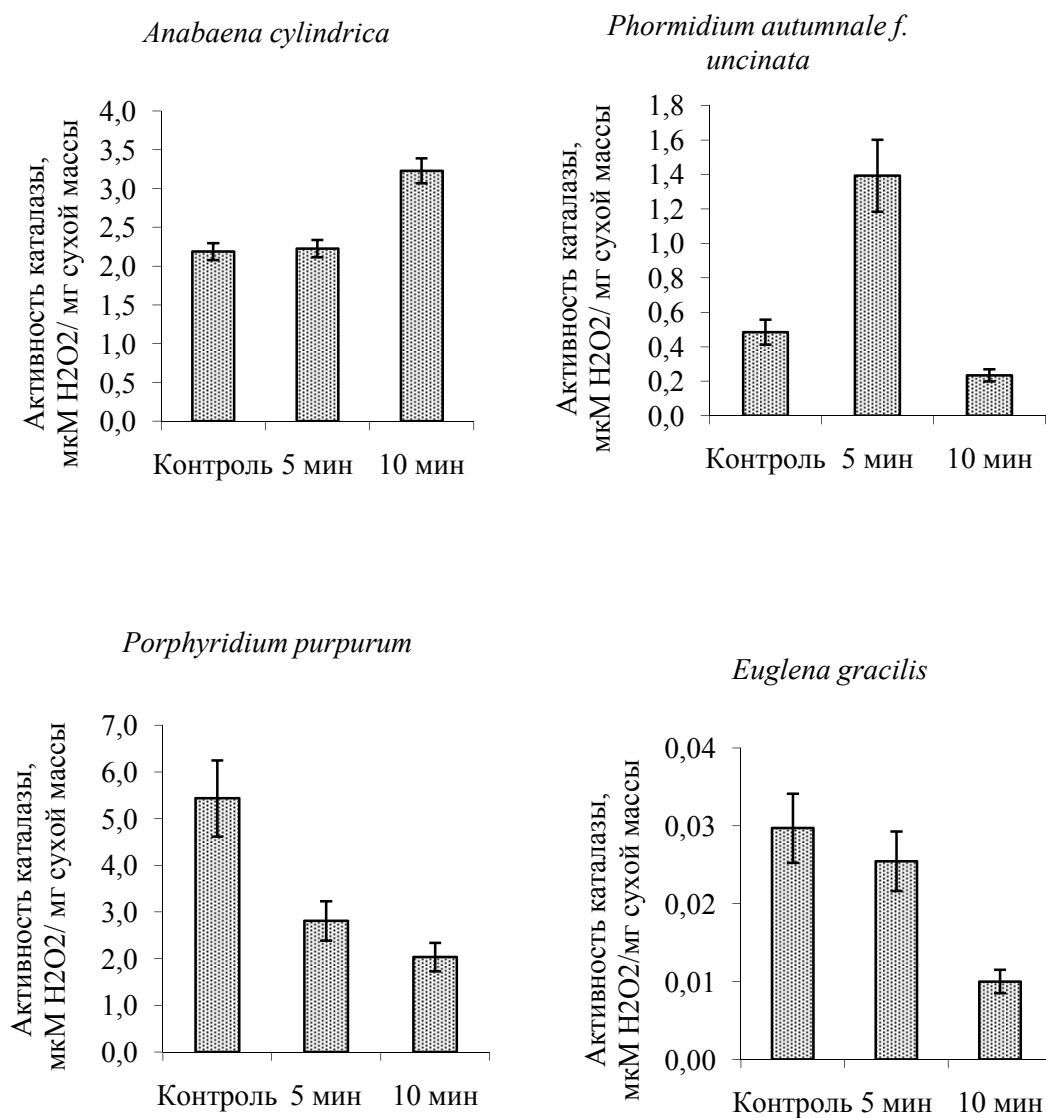


Рис. 2. Активность каталазы водорослей при воздействии УФ-лучей.

Одним из последствий воздействия повышенной УФ-радиации является изменение соотношения окислительных и восстановительных процессов в клетках растений, в частности, перекисей. В связи с этим в наших экспериментах была изучена активность каталазы (КФ 1.11.1.6) – фермента антиоксидантной системы класса оксидоредуктаз, катализирующего окислительно-восстановительные процессы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что активность каталазы исследованных культур водорослей претерпевает определенные изменения, происходящее в результате стресса, вызванного облучением УФ-лучами (рис. 2). В частности, для *A. cylindrica* характерным является повышение активности фермента, в зависимости от длительности действия УФ-радиации. У *Ph. autumnale* f. *uncinata* кратковременное облучение вызывало увеличение активности каталазы, тогда как более длительное – ее ингибирование (на 50% по сравнению с контролем). Это еще раз подтверждает более высокую устойчивость *A. cylindrica* к действию ультрафиолета, по сравнению с *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

У представителей эвгленовых и красных водорослей *E. gracilis* и *P. purpureum* под воздействием УФ-радиации зарегистрировано торможение активности фермента, причем более существенное (на 67 и 43%, соответственно) при продолжительном его действии (Рис. 2).

Снижение активности фермента в клетках этих водорослей может свидетельствовать, на наш взгляд, об угнетении их метаболизма (на уровне синтеза белков или функционирования ферментов), либо об усилении экскретирования каталазы в культуральную среду, что было отмечено для *E. gracilis* и *P. purpureum*, в качестве механизма защиты от воздействия больших доз облучения.

Наши исследования показали, что одним из проявлений негативного действия повышенных доз УФ радиации на водоросли является изменение содержания в их клетках основных фотосинтетических пигментов – хлорофилла *a* и каротиноидов.

Обнаруженные различия в реакции пигментных систем у исследованных видов водорослей на однозначные дозы УФ-света, с одной стороны, возможно, свидетельствуют о различии в их метаболизме, с другой – связаны со специфичным набором пигментов.

Динамика изменения активности каталазы у исследованных гидробионтов характеризуется видоспецифичностью. Снижение уровня активности этого фермента в клетках водорослей вероятно указывает на угнетение метаболических процессов.

Список литературы

- Барашков Г.Л. Сравнительная биохимия водорослей. М.: Пищ. пром-ть, 1972. 336 с.
- Горюнова С.В., Ржанова Г.Н., Орлеанский В.К. Синезеленые водоросли. К.: Наукова думка, 1969. 228 с.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. и др. Киев: Наук. думка, 1975. 247 с.
- Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. К. Наукова думка, 1976. С. 172–174.
- Сиренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В., Пахомова М.Н. Коллекция живых культур микроскопических водорослей (акроним коллекции – HPDP). Киев: Фитосоциоцентр, 2005. 53 с.
- Araoz R., Höder D-R. Ultraviolet radiation induced both degradation and synthesis of phycobilisomes in *Nostoc* sp.: a spectroscopic and biochemical approach // FEMS Microbiol. Ecol. 1997. Vol. 23. P. 30–313.
- Donkor V.A., Höder D-P. Protective strategies of several cyanobacteria against solar radiation // J. Plant. Physiol. 1995. Vol. 145. P. 750–755.
- Dohler G. Impact of UV radiation of different wavebands on pigments and assimilation of ¹⁵N-ammonium and ¹⁵N-nitrate by natural phytoplankton and ice algae in Antarctica // J. Plant. Physiol. 1997. Vol. 151. P. 550–555.
- Höder D-R. Risk of enhanced solar ultraviolet radiation for aquatic ecosystems // Progress in phycological research, 9 / Eds. F.E. Round and D.J. Chapman. Biopress, Bristol. 1993. P.1–45.
- Höder D-P. Penetration and effects of solar UV-B on phytoplankton and macroalgae // Plant Ecol. 1997. Vol. 128. P.4–13.
- Jeffrey S.W., Humphrey F.H. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanz. 1975. Bd. 167. P. 171–194.
- Lorenzen C.J. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations // Limnol. and Oceanogr. 1967. 12, N2. P. 343–346.
- Rai P.K., Rai L.C. Interactive effects of UV-B and Cu on photosynthesis, uptake and metabolism of nutrients in green alga *Chlorella vulgaris* under simulated ozone column // J. General Appl. Microbiol. 1997. Vol. 43. P. 281–288.
- Smith R.C., Prezelin B.B., Baker K.S. a. o. Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters // Science. 1992. Vol. 255. P. 952–959.
- Vassiliev I.R., Prasil O., Wyman K.D., Kolber Z.K., Hanson A.K., Prentice J.E., Falkowski P.G. Inhibition of PS II photochemistry by PAR and UV radiation in natural phytoplankton communities // Photosynth. Res. 1994. Vol. 42. P.51–64.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ РОСТА РЫБ ДЛЯ ОПЕРАТИВНОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИИ

Е.Б. Мельникова

Институт биологии южных морей НАН Украины
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 99011, Украина, vfjuck@mail.ru

Развитие и углубление ихтиологических исследований повлекло за собой необходимость широкого использования математических моделей и корреляционно-регрессионных методов анализа позволяющих определить характер изменения биологических параметров рыб, прогнозировать промысловые запасы и возможные объемы вылова (Рикер, 1979, Тройников, 2004).

Необходимость рациональной долговременной эксплуатации промысловых стад требует повышения уровня научной обоснованности оценок величин запаса и допустимого уровня изъятия с учетом структуры запаса и биологической дифференциации вида (Зуев и др., 2005).

Использование математических моделей, характеризующих особенности развития и формирования популяции, позволяет оценить и интерпретировать биологические показатели промысловых видов рыб, а также служить методом оценки антропогенного воздействия, связанного с экологическими проблемами, изменением климатических условий, и на основе этого служить ориентиром, позволяющим оценить объемы допустимого вылова рыбных ресурсов промысловыми судами рыбодобывающей промышленности. Одной из простых, но достаточно эффективных моделей, позволяющих оценить биологические параметры рыб, является зависимость «вес-длина», изменчивость которой в различных условиях обитания открывает широкие возможности для анализа состояния и тенденций развития популяции. Характерной особенностью многих рыб из естественных популяций является заметная сезонная вариабельность развития и роста. В соответствии с этим происходит изменение коэффициентов моделирующей функции, что дает возможность по величине и характеру изменения коэффициентов производить сезонную оценку состояния популяции и прогнозировать характер его изменения.

Рассмотрение сезонного изменения математических моделей роста и их связь с состоянием промыслового стада проведем на примере черноморского шпрота (*Sprattus sprattus phalericus*: Pisces: Clupeidae), который относится к числу наиболее массовых в Черном море видов рыб, занимает важное место в его экосистеме и имеет существенное хозяйственное значение в экономике Украины и других причерноморских государств.

В ихтиологии, применительно к рыбам, общепринято (Рикер, 1979), что на любом этапе жизни функциональная зависимость между весом и длиной рыбы описывается по закону степенной функции

$$P = aL^b, \quad (1)$$

где P — вес рыбы,

L — длина рыбы,

a и b — некоторые коэффициенты.

При проведении статистической обработки результатов экспериментальных измерений веса и длины методами регрессионного анализа с использованием пакетов прикладных программ (*Statistica*, *Excel*, *MathCAD*) для каждой возрастной группы шпрота, присутствующей в улове, находилось уравнение вида (1) и определялись коэффициенты a и b . Затем найденные коэффициенты a и b для каждой из возрастных групп усреднялись помесечно.

По найденным среднемесячным коэффициентам a и b строились и анализировались зависимости «вес-длина» черноморского шпрота для различных возрастных групп и месяцев года.

На рис. 1 изображены экспериментальные данные для годовиков (обозначены крестиками) и двухгодовиков (обозначены кружочками) для одной из сентябрьских проб 2004 г., а также регрессионные кривые и уравнения зависимости «вес-длина», найденные по этим данным. Видно, что коэффициенты регрессионных уравнений вида (1) равны: для годовиков — $a_1 = 0.0225$; $b_1 = 2.526$; для двухгодовиков — $a_2 = 0.0105$; $b_2 = 2.926$.

Известно (Зуев и др., 2005, Гиригосов и др., 2006, Мельникова, 2007), что промысловое стадо черноморского шпрота характеризуется достаточно продолжительным нерестовым сезоном, начинающимся осенью, достигающим максимума зимой и заканчивающимся к весне. Растянутость нереста черноморского шпрота объясняется порционностью икрометания и неодновременным созревaniem отдельных групп рыб промыслового стада.

Проследим, как эти особенности биологического развития шпрота отражаются на возрастном и сезонном характере зависимости «вес-длина».

Рассмотрение начнем с нагульного сезона.

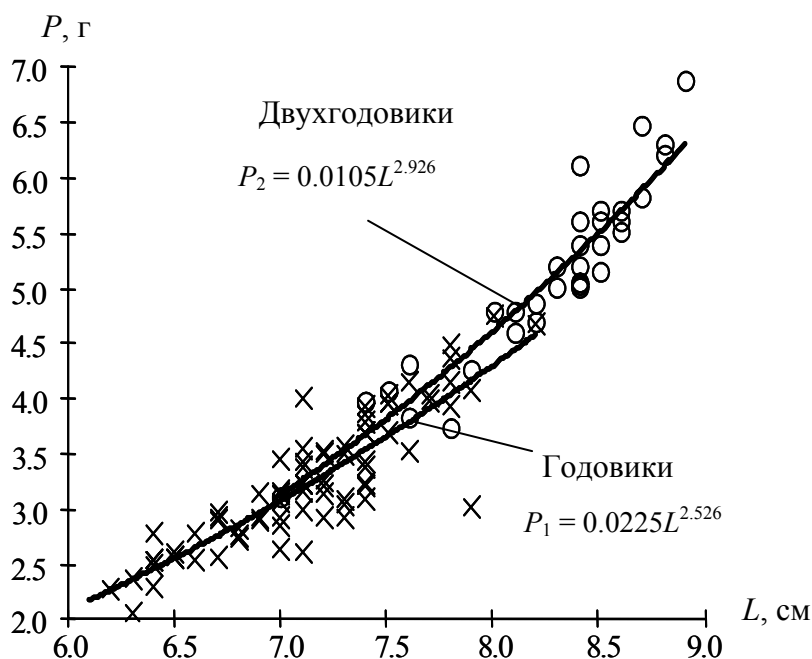


Рис. 1. Экспериментальные данные и регрессионные уравнения для одной из проб черноморского шпрота (сентябрь 2004 г.)

На рис. 1 изображены графики для сентября месяца. Из графиков видно, что линия найденной регрессионной зависимости вес-длина для рыб старшей возрастной группы имеет больший угол наклона к оси абсцисс. Сентябрь является для нерестового стада черноморского шпрота преднерестовым месяцем. Однако в этом месяце у большей части рыб младшей возрастной группы репродуктивная система еще находится в состоянии относительного покоя или состоянии наступления очередного полового цикла (II — III стадии по шкале зрелости гонад). В то время как большая часть рыб старших возрастных групп в этом месяце готовится к нерестовому сезону и их стадия зрелости характеризуется как более высокая (III стадия по шкале зрелости гонад). Это приводит к изменению коэффициентов регрессионного уравнения зависимости «вес-длина» и различному наклону графиков для младшей и старшей возрастных групп (см. рис. 1). В докладе проведено рассмотрение графиков зависимости «вес-длина» для всех месяцев года. Отмечены характерные особенности для нерестового и нагульного сезонов различных возрастных групп. В докладе показано, что изучение аналитических зависимостей «вес-длина» для различных месяцев года и различных возрастных групп дает возможность получить дополнительную информацию, характеризующую биологические показатели и динамику их изменения в течение года.

Полученные результаты могут быть использованы при проведении научных и рыбохозяйственных исследований, а также для оценки антропогенных нагрузок на водные организмы и экосистемы связанных с экологическими проблемами региона.

Список литературы

- Гирагосов В.Е., Зуев Г.В., Репетин Л.Н. Изменчивость репродуктивного потенциала черноморского шпрота (*Sprattus sprattus phalericus*) в связи с температурными условиями среды // Морской экологический журнал. 2006. Т. V. № 4. С. 5 – 22.
- Зуев Г.В., Мельникова Е.Б., Пустоварова Н.И. Биологическая дифференциация и структура запаса черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus* (Pisces: Clupeidae) // Морской экологический журнал. 2005. Т. IV. № 1. С. 55 – 65.
- Мельникова Е.Б. Анализ размерного распределения молоди шпрота как метод изучения его нерестовых характеристик // Рыбное хозяйство Украины. 2007. № 3–4. С. 14 – 17.
- Минюк Г.С., Шульман Г.Е., Щепкин В.Я., Юнева Т.В. Черноморский шпрот (связь динамики липидов с биологией и промыслом). Севастополь, 1997. 137 с.
- Рикер У.Е. Методы оценки и интерпретации биологических показателей популяций рыб. М.: Пищевая промышленность, 1979. 408 с.
- Troynikov V.S Use of weak quasi-solution of the Fredholm first-kind equation in problems with scale data // Applied Mathematics and Computations. 2004. Vol. 150 (3). P. 855 – 863.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МОЛЛЮСКОВ ВИДА *LIMNAEA PALUSTRIS* ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ

В.В. Минакова¹, И.В. Карнаухова¹, Г.Н. Соловых²

¹Оренбургский государственный педагогический университет

г. Оренбург, ул. Советская, 19, Россия, minakova@mail.ru

²Оренбургская государственная медицинская академия

г. Оренбург, ул. Советская, 6, Россия

В настоящее время масштабы загрязнения водных экосистем все сильнее опережают возможности научно-обоснованных оценок и прогнозирования последствий антропогенного воздействия. Поэтому, до сих пор остается актуальной проблема по разработке и усовершенствованию экспресс - методов контроля, диагностики и прогнозирования влияния загрязняющих веществ на состояние биоты. Наиболее перспективным направлением в этой области является подход на биохимическом уровне (Хочачка, 1988, Христофорова, 1989).

На сегодняшний день общепринятым универсальным механизмом патогенеза в организме является теория окислительного стресса (Браун, 1987). Однако для гидробионтов, в частности беспозвоночных, основные положения этой теории развиты очень слабо. Явление окислительного стресса, сопровождающееся деструктивным повреждением основных биоструктур, чрезвычайно широко распространено в природе и обнаруживается, практически, во всех органах и тканях организмов на любом уровне организации. С экотоксикологической точки зрения особый интерес представляет способность тяжелых металлов индуцировать окислительный стресс, который рассматривается в качестве ведущего патогенетического механизма дезорганизации клеточного метаболизма (Кадмий: экологические аспекты, 1994). Согласно этим представлениям, независимо от конкретного механизма действия чужеродного химического агента, его вмешательство в окислительный метаболизм прямо или косвенно сопряжено с усилением генерации высокореакционных радикалов кислорода (оксирадикалов) и, прежде всего, за счет снижения антиоксидантных ферментов (Челомин, 1998). Возникший дисбаланс между про- и антиокислительными системами приводит к накоплению продуктов окисления основных классов макромолекул, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты. Однако прямых экспериментальных данных, подтверждающих способность кадмия нарушать равновесие между про- и антиоксидантной системами и вызывать окислительный стресс в тканях водных беспозвоночных, в частности моллюсков, практически нет. Вместе с тем, учеными были проведены исследования влияния аккумуляции ионов кадмия на интегральную активность антирадикальной системы и образование продуктов окисления мембранных липидов в тканях морского двусторчатого моллюска *Modiolus modiolus* (Довженко и др., 2005). На основе полученных результатов можно заключить, что кадмий индуцирует окислительный стресс в тканях *M. modiolus* через дезорганизацию антиоксидантной системы. Следовательно, снижение способности антиоксидантных ферментов инактивировать свободные радикалы можно рассматривать как вероятную причину формирования окислительного стресса.

В связи с этим, было актуальным выявить степень изменения активности антиоксидантных ферментов (каталазы и пероксидазы) в реакции брюхоногих моллюсков вида *Limnaea palustris*, испытывающих воздействие различных концентраций ионов кадмия, исходя из представлений о ведущей роли окислительного стресса в развитии различных патологических изменений.

Для проведения эксперимента использовали моллюсков вида *L. palustris*. Токсикологическому исследованию во всех случаях предшествовал период акклимации животных, характеризующийся стабилизацией значений внешних факторов. Особей выдерживали в аквариумах с водопроводной водой в течение двух недель с постоянной аэрацией.

В экспериментах использовали концентрации ионов кадмия соответствующие значениям ПДК, 10 ПДК, 100 ПДК для вод открытых водоемов. Опытных животных разделяли на 4 группы. Первая группа животных служила контролем и содержалась в аквариуме с водопроводной водой, вторая, третья и четвертая группы - были помещены в аквариумы, содержащие ионы кадмия в соответствующих концентрациях. Все группы содержались при одинаковых условиях освещения, температуры и аэрации, без кормления.

Ввиду малых величин концентраций ионов готовили матричный раствор, разбавлением которого получали необходимые для опыта концентрации. Серию разбавлений готовили на дистиллированной воде. Экспозицию опытных животных проводили в течение 18 суток. Через определенные промежутки времени (на 1-ые, 3-и, 6-ые, 9-ые, 12-ые, 15-ые и 18-ые сутки) из каждого аквариума отбирали животных для определения уровня каталазной и пероксидазной активности. Для

определения активности пероксидазы использовали метод, основанный на изменении окраски индигокармина. Активность каталазы определяли газометрическим методом, основанным на измерении объема кислорода, образовавшегося в результате расщепления пероксида водорода под действием каталазы.

Любой токсический фактор, в том числе и ионы тяжелых металлов, вызывает развитие «классического» стресса, который сопровождается закономерными фазными изменениями биохимических показателей организма (Селье, 1960, Голиков, 1987). Динамика большинства биохимических процессов при стрессе проходит три основные закономерные фазы («тревоги», «стимуляции», «депрессии»), описываемые синусоидной кривой (Виселина, 2000). В наших исследованиях стрессовые факторы вызывали различные по амплитуде и скорости изменения активности ферментов, что отличалось от плавных незначительных колебаний в контроле.

В аквариуме с концентрацией ионов кадмия на уровне ПДК изменения пероксидазной активности тканей моллюсков имели вид волнообразной кривой, с тенденцией к повышению активности с начала эксперимента сверх нормального уровня к 3-им суткам, с плавно затухающей амплитудой к 18-ым суткам экспозиции (рис. 1).

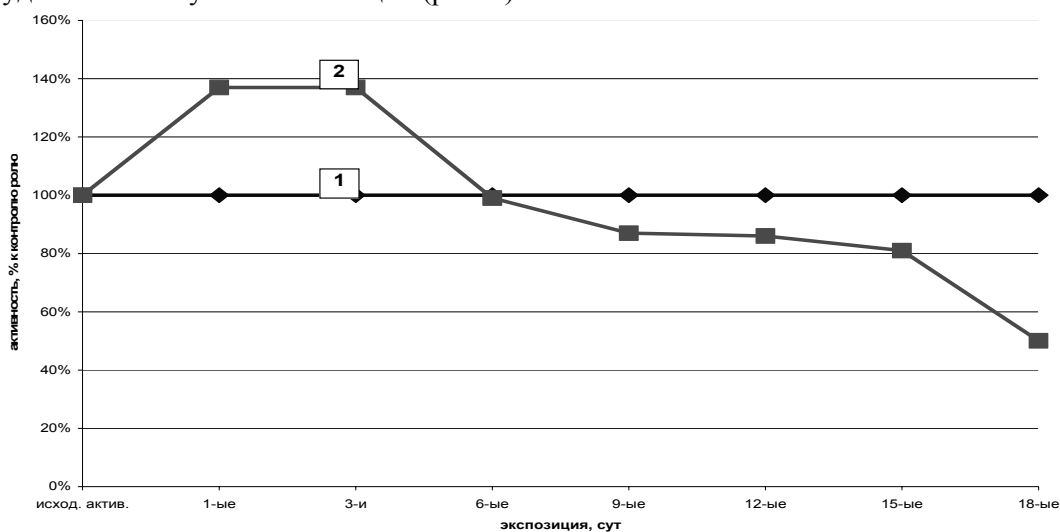


Рис. 1. Изменение активности пероксидазы моллюсков *L. palustris* при концентрации ионов кадмия на уровне ПДК. 1 – изменение активности пероксидазы в контроле; 2 – изменение активности пероксидазы при концентрации на уровне ПДК

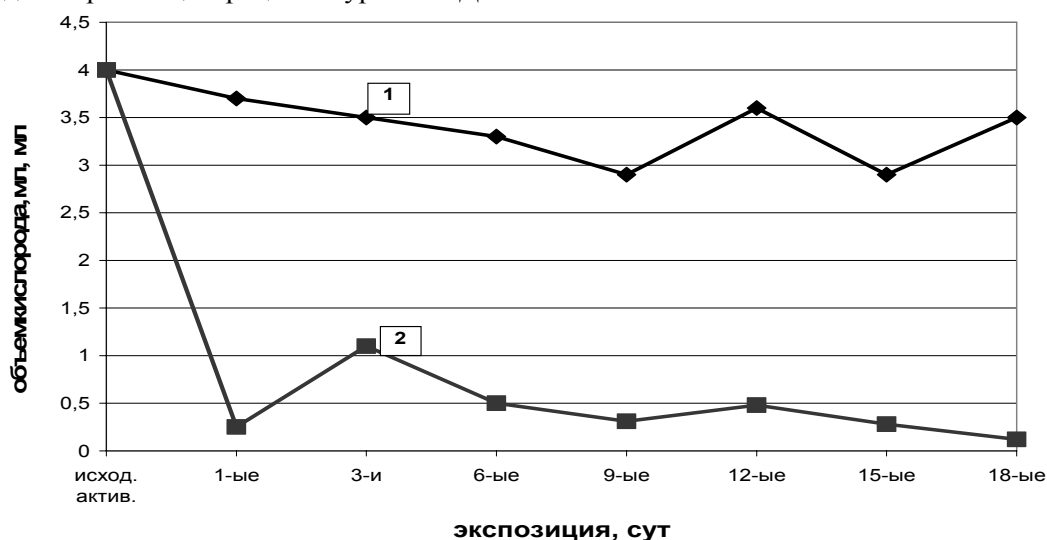


Рис. 2. Изменение активности каталазы моллюсков *L. palustris* при концентрации ионов кадмия на уровне ПДК. 1 – изменение активности пероксидазы в контроле; 2 – изменение активности пероксидазы при концентрации на уровне ПДК.

Результаты исследований показали, что в данных условиях эксперимента наблюдаются и закономерные фазные изменения каталазной активности моллюсков вида *Limnaea palustris* на

действие ионов кадмия. В отличие от реакции пероксидазы динамика изменения каталазной активности характеризовалась более выраженными фазами снижения и повышения: на 1-ые сутки отмечалось резкое снижение исследуемого показателя. Затем происходили волнообразные изменения активности фермента с более выраженным эффектом затухания амплитуды (рис. 2).

Экспозиция моллюсков вида *L. palustris* в среде, содержащей ионы кадмия в концентрации превышающих ПДК в 10 и 100 раз, сопровождалась достоверными снижениями исследуемых показателей с последующей гибелью организмов на 6-ые и 3- и сутки соответственно (рис. 3, 4).

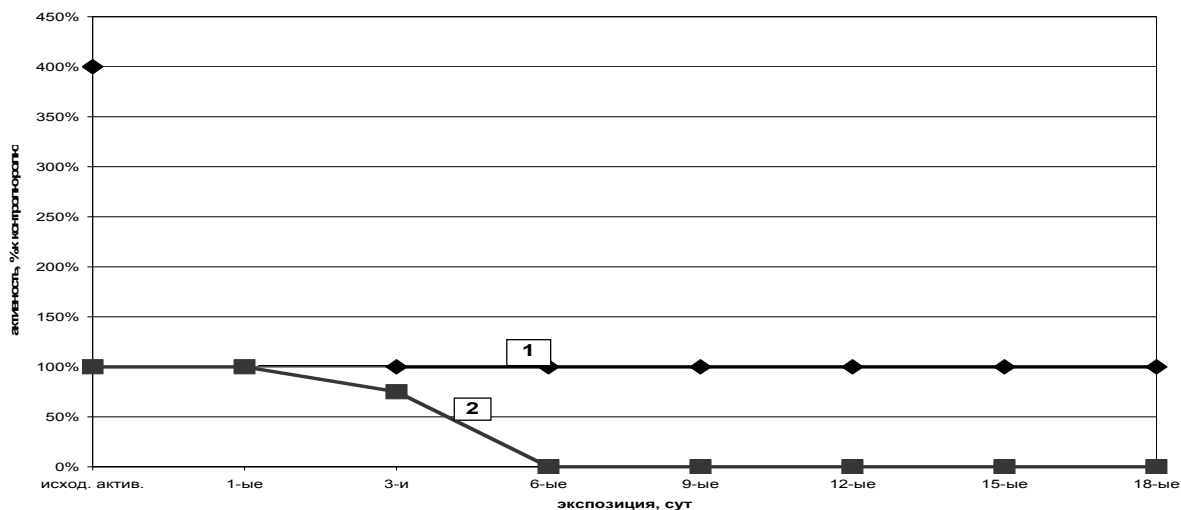


Рис. 3. Изменение активности пероксидазы моллюсков *L. palustris* при концентрации ионов кадмия на уровне 10 ПДК. 1 – изменение активности пероксидазы в контроле; 2 – изменение активности пероксидазы при концентрации на уровне 10ПДК.

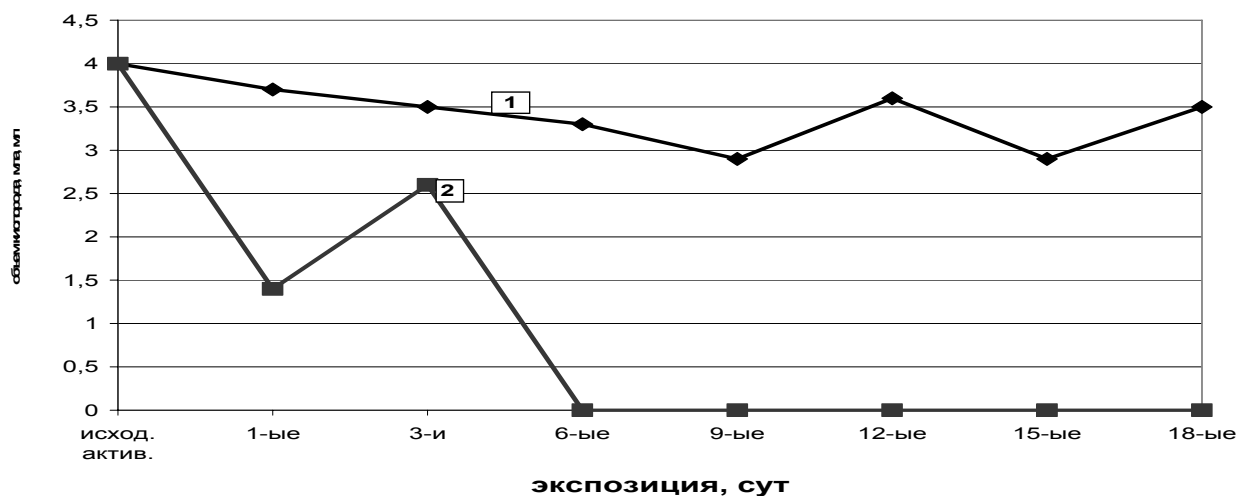


Рис. 4. Изменение активности каталазы моллюсков *Limnaea palustris* при концентрации ионов кадмия на уровне 10ПДК. 1 – изменение активности пероксидазы в контроле; 2 – изменение активности пероксидазы при концентрации на уровне ПДК.

Таким образом, в наших исследованиях ионы кадмия вызывали различные по амплитуде и скорости изменения активности антиоксидантных ферментов, что отличалось от плавных и незначительных колебаний в контроле. Для показателей каталазной и пероксидазной активности в некоторой степени выражен эффект «смещения» ответа, что зависит от концентрации и от природы самого фермента (Цветков И.Л., 2002).

Список литературы:

Браун А.Д., Моженко Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. - Л.: Наука, 1987. - 232 с.

- Виселина Т.Н., Лукьянова О.Н. Изменение активности ферментов углеводного обмена у моллюсков под действием кадмия. // Биология моря. - 2000. - Т. 26, № 4. - С. 278 - 280.
- Голиков А.Н., Голиков Н.В. Угнетение и стимуляция как фазы процесса адаптации. II Вопросы теории адаптации. Труды Зоол. ин-та АН СССР. - Л., 1987. - Т. 160. - С. 4 - 12.
- Довженко Н.В., Куриленко А.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Окислительный стресс, индуцируемый кадмием, в тканях двустворчатого моллюска MODIOLUS MODIOLUS. // Биология моря. - 2005. Т. 31, № 5. - С.358-362.
- Кадмий: экологические аспекты // Гигиенические критерии состояния окружающей среды 135. - Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1994. - 160 с.
- Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. - М.: Медицина, 1960. - 254 с.
- Хочачка П., Сомеро Д. Биохимическая адаптация. - М.: Мир, 1988. - 567 с.
- Христофорова Н.К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. - М.: Мир, 1989. - 267 с.
- Цветков И.Л., Зарубин С.Л., Урванцев Г.А., Коничев А.С., Филиппович Ю.Б. Кислая фосфатаза гидробионтов как фермент-индикатор биохимической адаптации к воздействию токсических веществ. // Известия АН. Сер. биология. - 2002. - № 5. - С. 539 - 545.
- Челомин В.П., Бельчева Н.Н., Захарцев М.В. Биохимические механизмы адаптации мидии *Mytilus trossulus* к ионам кадмия и меди. // Биология моря. 1998. Т. 24, № 5. С. 319 - 325.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.) ИЗ РАЙОНОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

А.А. Морозов, Г.М. Чуйко, В.А. Подгорная

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославской обл., Россия, morozov@ibiw.yaroslavl.ru*

Глобальное, прогрессирующее антропогенное загрязнение водной среды химическими соединениями, наблюдаемое с середины прошлого века, продолжает оставаться серьезной проблемой современного общества. Загрязнение водных объектов приводит к нарушению функционирования их экосистем, ухудшению условий обитания водных организмов, оказывает негативное воздействие на их жизнедеятельность. Рыбинское водохранилище - одно из крупнейших в Волжской системе водохранилищ. Ранее была показана пространственная неравномерность загрязнения экосистемы водохранилища такими загрязняющими веществами (ЗВ) как тяжелые металлы (ТМ), полиароматические углеводороды (ПАУ), полихлорированные бифенилы (ПХБ), хлорорганические пестициды (ХОП) и др. Было установлено, что основной локальный источник химического загрязнения водохранилища - Череповецкий индустриальный комплекс. Наиболее загрязненным районом водохранилища является участок Шекснинского плеса от г. Череповца и на протяжении 40-50 км ниже его по течению вдоль бывшего русла р. Шексны. Наиболее чистый район - Моложский плес (Siddall et al., 1994; Козловская, Герман, 1997; Флеров и др., 2000; Чуйко и др., 2008). В связи с этим возникает необходимость сравнительной оценки состояния здоровья рыб, из районов водохранилища, с различной степенью антропогенной нагрузки.

В ряду биохимических маркеров воздействия загрязняющих веществ на организм рыб и оценки благополучия их функционального состояния находятся показатели активности ферментов биотрансформации ксенобиотиков (монооксигеназы, глутатионтрансферазы), интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантной системы (АОС). По современным представлениям ферменты биотрансформации ксенобиотиков участвуют в процессе их детоксикации и выведении из организма. Они могут индуцироваться при повышении уровня содержания ксенобиотиков в организме. В основе повреждающего действия ксенобиотиков на молекулярно-клеточном уровне лежит избыточное образование в организме животных свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК). В обычных условиях АФК образуются в небольших количествах как побочный продукт нормального метаболизма. Свободные радикалы и АФК являются сильными окислителями и крайне реакционно-способными соединениями, которые разрушают субмолекулярные клеточные структуры и функциональные молекулы, что приводит к нарушению метаболизма и физиологических функций организма. При этом наблюдается усиление ПОЛ, окислительное повреждение ДНК и белков, инаktivация ферментов, воспаление, пониженная активность АОС и др. Состояние клетки, характеризующееся комплексом этих и других симптомов, возникающее в результате повышения содержания АФК, получило название окислительного стресса

(ОС). Один из показателей ОС и наличия АФК в клетке - усиление процессов накопления продуктов ПОЛ, в частности малонового диальдегида (МДА). Для защиты от повреждающего действия АФК у аэробных организмов служит АОС, важными элементами которой является ряд ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза) и низкомолекулярные соединения (глутатион, каротиноиды, витамины С, Е) (Руднева, 2003; Довженко, 2006; Гостюхина, 2008; Møller et al., 1996; Di Giulio et al., 1995).

В благоприятных условиях АОС успешно нейтрализует АФК и поддерживает их содержание в тканях на минимальном, не опасном уровне. Неблагоприятное действие на организм факторов внешней среды может проявляться как в интенсификации образования АФК, о чем свидетельствует повышение содержания продуктов ПОЛ в тканях, так и в снижении эффективности его АОС. Соотношение процессов ПОЛ и активности АОС отражает адаптационные возможности живых систем, их приспособленность к условиям обитания, а его смещение в сторону образования АФК приводит к патологическим изменениям, повреждению молекулярных и клеточных структур и гибели (Владимиров, Арчаков, 1972; Møller et al., 1996).

Цель работы – сравнить уровни показателей антиоксидантной системы и процессов ПОЛ в тканях пресноводных рыб из районов Рыбинского водохранилища с различной степенью загрязненности.

Объектом исследования служил лещ *Abramis brama* L. обоего пола, со средними значениями длины и массы тела 36.9 см и 817.1 г соответственно. Вылов производился с экспедиционного судна ИБВВ «Академик Топчиев» траловым методом в конце июля 2008 г. на 5-и станциях Рыбинского водохранилища: Коприно, Волково, Мякса, Любец, Череповец (рис. 1). После отлова и проведения биоанализа у рыб выделяли печень и хранили ее при -18 °С до последующего анализа.

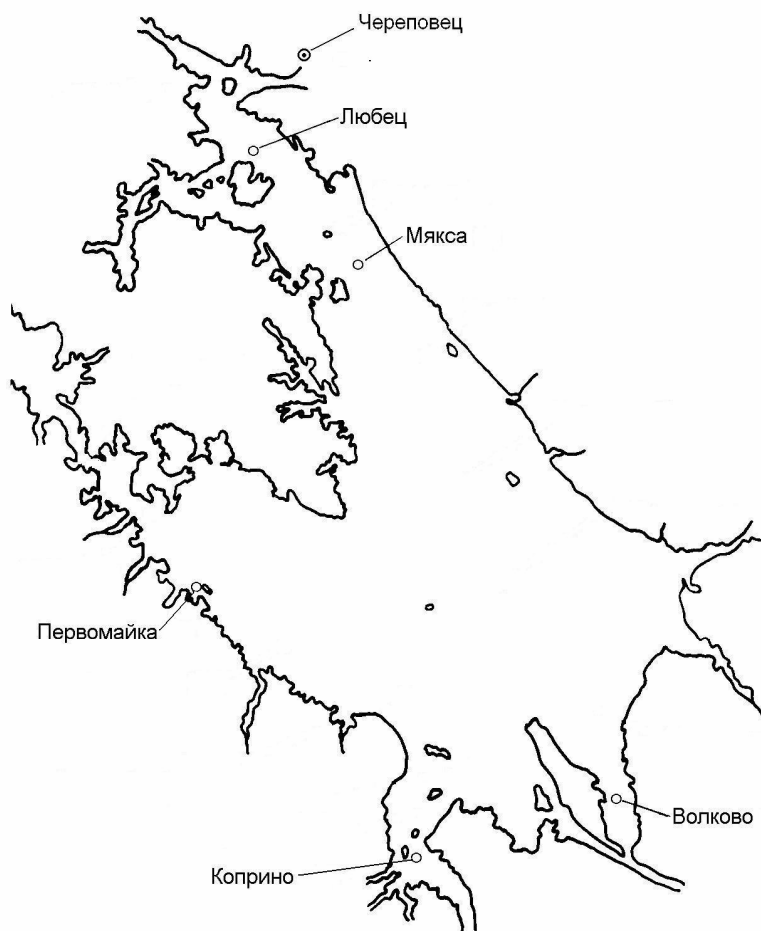


Рис. 1. Расположение станций отбора проб.

Перед анализом печень промывали холодным 0.1 М фосфатным буфером с pH 7.5, навеску в 2 г гомогенизировали тefлоновым пестиком в стеклянном гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма с электроприводом в том же буфере при разведении в соотношении 1:1 (вес/объем). Половину гомогената оставляли цельным, а вторую часть центрифугировали при 15000 g в течение 20 мин. в центрифуге Micro 22 R (Германия) для получения супернатанта.

В цельном гомогенате определяли: содержание малонового диальдегида (МДА) с 2-тиобарбитуровой кислотой (Владимиров, Арчаков, 1972), восстановленного глутатиона (GSH) с дитионитробензойной кислотой (Moron et al., 1979) и активность каталазы (К.Ф.1.11.1.6) с пероксидом водорода в качестве субстрата и молибдатом аммония в качестве окрашивающего реагента (Королюк и др., 1988).

В супернатантах измеряли: активность супероксиддисмутазы (СОД; К.Ф.1.15.1.1) по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия в присутствии НАДН и феназинметасульфата (ФМС) (Чевари и др., 1985); конъюгирующую активность глутатион-S-трансферазы (Г-S-ТФ; К.Ф. 2.5.1.18) в отношении 1-хлор-2,4-динитробензола (ХДНБ) по накоплению продукта реакции конъюгации GS-2,4-динитробензола (Habig et al., 1974). Количество белка определяли по методу (Bradford, 1976). Содержание МДА и GSH выражали в пкмоль*мкг белка⁻¹, активность Г-S-ТФ и каталазы – в нмоль* мкг белка⁻¹*мин⁻¹, СОД – в единицах изменения экстинкции $\Delta E \times 10^{-6}$ *мкг белка⁻¹*мин⁻¹. Определение биохимических показателей проводилось на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin Elmer, США). Каждую пробу измеряли дважды.

Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 и MS Excel 2003. Результаты представлены в виде средних и их ошибок ($\bar{x} \pm SE$), достоверность различий оценивалась с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест, $p=0.05$).

Сравнительный анализ данных показал, что достоверные различия по большинству исследованных биохимических параметров обнаруживаются между лещами, выловленными на станциях Любец и Мякса, с одной стороны, и Первомайка, Коприно и Волково, с другой. Хотя на каждой станции у рыб имеются свои особенности в соотношении разных показателей (табл.1).

Таблица 1. Значения некоторых параметров биотрансформации ксенобиотиков, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в печени леща из разных районов Рыбинского водохранилища

Станция	N	Показатели				
		МДА, пкмоль/ мкг	GSH, пкмоль/ мкг	Г-S-ТФ, нмоль/ мкг мин	Каталаза, нмоль/ мкг мин	СОД, $\Delta E \times 10^{-6}$ / мкг мин
Коприно	10	$0.533 \pm 0.054^{1,2}$	8.80 ± 0.49^1	3.57 ± 0.25^2	$34.7 \pm 3.4^{1,2}$	13.8 ± 2.3^1
Волково	10	$0.363 \pm 0.117^{1,2}$	7.99 ± 0.91^1	3.31 ± 0.30^2	$33.7 \pm 4.0^{1,2}$	34.5 ± 3.2^3
Мякса	10	$0.453 \pm 0.098^{1,2}$	11.95 ± 0.94^2	1.54 ± 0.14^1	37.3 ± 2.9^2	12.6 ± 1.1^1
Любец	7	0.601 ± 0.130^2	$9.51 \pm 0.69^{1,2}$	1.03 ± 0.12^1	25.4 ± 1.9^1	11.0 ± 1.4^1
Первомайка	10	0.311 ± 0.055^1	9.48 ± 1.00^1	3.39 ± 0.18^2	37.6 ± 2.6^2	22.6 ± 1.2^2

Примечание: представлены средние значения и стандартные ошибки ($\bar{x} \pm SE$); результаты выражены на мкг белка; N – количество исследованных особей. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого параметра АОС, достоверно отличаются (ANOVA, LSD тест, $p=0,05$). МДА - малоновый диальдегид; GSH - восстановленный глутатион; Г-S-ТФ - глутатион-S-трансфераза; СОД – супероксиддисмутаза.

У лещей, выловленных на станции Любец, содержание МДА в печени почти в 2 раза больше, чем на станции Первомайка. Вместе с тем у них наблюдается низкий уровень GSH и самая слабая активность Г-S-ТФ, каталазы и СОД, (табл.1). С одной стороны, это указывает на высокую интенсивность образования АФК в печени рыб и, как результат, усиление процессов ПОЛ. С другой стороны, свидетельствует о подавленном функциональном состоянии АОС и ее неспособности успешно нейтрализовать АФК. Сходный профиль исследуемых показателей имели рыбы на станции Мякса, но в отличие от рыб с остальных станций у них был самый высокий уровень содержания GSH.

Лещи, выловленные на станции Первомайка, наряду с низким содержанием МДА и GSH характеризуются высокой активностью антиоксидантных ферментов. В совокупности это позволяет говорить об активном функциональном состоянии АОС и низком уровне АФК в печени этих рыб. Сходный профиль исследуемых показателей имели рыбы на станциях Волково и Коприно, хотя у лещей с последней станции выявлен достаточно высокий уровень содержания МДА и низкая активность СОД.

Выявленные различия в состоянии АОС и ПОЛ в печени леща на исследованных станциях хорошо соотносятся с данными о степени антропогенной нагрузки в этих районах Рыбинского водохранилища. По многолетним данным ряда авторов среди исследованных станций Любец и Мякса по уровню химического антропогенного загрязнения являются наиболее загрязненными, а Первомайка – самой чистой. Станции Коприно и Волково также могут быть охарактеризованы как более чистые, чем Любец и Мякса (табл.2).

Анализ полученных данных позволяет предположить, что высокий уровень содержания МДА и низкая активность ферментов АОС в печени леща из Любца обусловлены повышенным уровнем загрязнения этого района водохранилища. Однако для более точного установления связей между параметрами ПОЛ и АОС, с одной стороны, и уровнями антропогенной нагрузки, с другой, необходимы данные о содержании приоритетных групп загрязняющих веществ в печени рыб. Необходимые анализы в настоящее время проводятся.

Таблица 2. Содержание полихлорированных бифенилов (ПХБ), полиароматических углеводов (ПАУ) и ТМ в донных отложениях из различных районов Рыбинского водохранилища.

Станция	ПХБ, мг/кг сухой массы	ПАУ, мг/кг сухой массы	ТМ*, мг/кг сухой массы
Коприно	0 ¹	1.500 ¹ 0.178 ³	-
Мякса	0.140 ¹ 0.028 ⁴	91.500 ¹	317.3 ²
Любец	0.230 ¹ 0.026 ² 0.155 ⁴	103.400 ¹ 0.177 ² 1.707 ³	109.0 ²
Первомайка	0 ¹ 0.030 ² 0.024 ⁴	0.900 ¹ 0.121 ² 0.139 ³	27.6 ²

¹ – Козловская, Герман, 1997; ² – Флёров и др., 2000; ³ Siddal et al., 1994; Чуйко и др., 2008.

* суммарное содержание Cd, Zn, Cu и Pb.

В целом можно заключить, что по показателям ПОЛ и АОС лещ в районе Первомайки находится в более благоприятном состоянии, чем в районе Любца и Мяксы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-05-00805.

Список литературы

- Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // М.: Наука. 1972. 242 с.
- Гостюхина О.Л. Особенности антиоксидантного статуса тканей двусторчатого моллюска *Mytilus Galloprovincialis* Lam. в условиях окислительного стресса. Автореф. дисс. ... к.б.н. Симферополь, 2008. 25 с.
- Довженко Н.В. Реакция антиоксидантной системы двусторчатых моллюсков на воздействие повреждающих факторов среды: Автореф. дисс. ... к.б.н. Владивосток, 2006. 23 с.
- Козловская В.И., Герман А.А. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. 1997. Т. 24. № 5. С. 563-569.
- Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело, 1988. № 1. С. 16-19.
- Руднева И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов. Успехи современной биологии. 2003. Т. 123. № 4. С. 391-400.
- Флёров Б.А., Томилина И.И., Кливленд Л., Баканов А.И., Гапеева М.В. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. 2000. №2. С.148-155.
- Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лабораторное дело, 1985. № 11. с. 678-681.
- Чуйко Г.М., Законнов В.В., Герман А.В., Бродский Е.С., Шеленчиков А.А., Фешин Д.Б., Тиллитт Д.Э. Распределение полихлорированных бифенилов в экосистеме Рыбинского водохранилища при их локальном поступлении // В кн. Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова (25 – 27 марта 2008 г., ТИНРО-Центр, г. Владивосток). — Владивосток: ТИНРО-центр, 2008. — 976 с. С. 680-685.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding. // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248-254.

Di Giulio R.T., Benson W.H., Sanders B.M., Van Veld P.A. Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation, and toxicity / In: G.M. Rand (ed.) Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate, and risk assessment. Washington, D.C.: Taylor & Francis. 1995. Second edition. Ch. 17. P.523-561.

Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathion-S-transpherase: the first step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249. P. 7130-7139.

Møller P., Wallin H., Knudsen L.E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors // Chemico-Biological Interactions. - 1996. - V. 102. – P. 17-36.

Moron M.S., Depierre J.W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione s-transferase activities in rat lung and liver // Biochim. Biophys. Acta, 1979. Vol. 582. P. 67-78.

Siddall R., Robotham P.W.J., Gill R.A., Pavlov D.F., Chuiko G.M. Relationship between polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) concentrations in bottom sediments and liver tissue of bream (*Abramis brama*) in Rybinsk Reservoir, Russia // Chemosphere. 1994. V.29. No7. P.1467-1476.

ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ КАРПА, ГОЛЬЦА И ОКУНЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ

Е.А. Назарова, Л.В. Балабанова, Е.А. Заботкина

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН
152742 пос. Борок Некоузского р-на Ярославской облРоссия, nazarova@ibiw.yaroslavl.ru*

Проблема высокой токсичности для гидробионтов даже незначительных концентраций тяжелых металлов приобретает в последнее время все большую актуальность в связи с увеличением промышленных стоков во внутренние водоемы. К одним из наиболее токсичных для рыб тяжелых металлов относят кадмий (Линник, Искра, 1997). Он легко поглощается из воды и накапливается в теле обитателей водоемов. Показано, что в наибольших количествах металл аккумулируется в почках (Гладышева, Кашулин, 2006; De Smet et al, 2001; De Smet, Biust, 2001; Panchanathan, Issac, 2006).

Накапливаясь, металл вызывает патологические повреждения гемопоэтической ткани и нефронов почек, в результате чего снижаются их осмотические и ионрегулирующие функции, наблюдаются воспалительные явления, токсический некробиоз и гибель клеток лимфомиелоидной ткани (Гамбарян, Лаврова, 1989; Singhal, Jain, 1997). Развиваются признаки вторичного иммунодефицита, воспалительные явления, очаги фиброза, очаговые некрозы лимфомиелоидной ткани почек. Обнаруживаются кровоизлияния, плазморрагии и отложения гемосидерина (Крючков, Бойко, 2002). Однако информация о характере изменений гематологических показателей в почках рыб в результате токсического эффекта малых концентраций кадмия на ранних сроках воздействия очень ограничена.

В связи с этим целью настоящей работы было изучение влияния ионов кадмия на соотношение лейкоцитов в головной почке обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* L., усатого гольца *Barbatula barbatula* (L.) и речного окуня *Perca fluviatilis* L.

Экспериментальную работу проводили на 40 экземплярах карпа в возрасте 1+ (длиной 17,2±0,9 см и массой 108,3±15,6 г), на 40 экземплярах усатого гольца в возрасте 3+ (длиной 8,6±1,2 см и массой 4,5±0,2 г) и на 20 экземплярах речного окуня в возрасте 0+ (длиной 9,0±0,6 см и массой 6,8±1,3 г). Карпы и окуни были получены на экспериментальной базе «Сунога» ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН в 1996 и 2006 гг, соответственно. Гольцы были выловлены летом 2006 г. в р. Ильд. После акклимации карпов, по 20 особей, содержали в 150-литровых, а гольцов по 20 особей и окуней по 10 особей в 50-литровых аэрируемых пластиковых аквариумах при ежедневном кормлении. Подопытных карпов содержали в водопроводной воде с добавлением хлорида кадмия до концентрации 5 мг/л, окуней - до концентрации 20 мкг/л, гольцов - до концентрации 50 мкг/л в расчете по иону металла. Вторую группу исследованных видов рыб содержали в водопроводной воде, она служила контролем. Через 7, 14, 21 и 28 суток в обеих группах рыб отбирали пробы и приготавливали мазки-отпечатки головной почки. Анализ соотношения лейкоцитов проводили на мазках – отпечатках головной почки, которые фиксировали этиловым спиртом и окрашивали краской по Романовскому - Гимза. При идентификации лейкоцитов придерживались классификации Ивановой Н.Т. (Иванова, 1983). Оценку результатов проводили в программах Excel и Statistica. Для оценки достоверности результатов использовали дисперсионный анализ (ANOVA, LSD-тест) при

$P=0,05$. Для выяснения отклонения в гематологических параметрах использовали индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ): $ИСЛ = \frac{Гранулоциты}{Агранулоциты}$ (Житенева и др., 2004).

Результаты исследований показали, что под действием токсиканта в головной почке карпа, гольца и окуня изменилось соотношение всех рассматриваемых типов клеток, в первую очередь это выразилось в лимфопении, нейтрофилии и эозинофилии. Таблица 2 показывает, что у гольца на всех сроках экспозиции произошло достоверное снижение доли лимфоцитов и увеличение таковых сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов, лишь относительное количество палочкоядерных нейтрофилов после 21 сут экспозиции снизилось по сравнению с более ранними сроками воздействия токсиканта, но по-прежнему оставалось выше контроля. У окуня через 7 сут экспозиции так же достоверно уменьшилась доля лимфоцитов и увеличилась доля всех зрелых форм гранулоцитов, но, в отличие от гольца, у окуня доля лимфоцитов уже через 14 сут несколько увеличилась, а нейтрофилов уменьшилась по сравнению с 7 сут воздействия токсиканта (Табл. 3). У карпа, напротив, на 7 и 14 сут экспозиции доля лимфоцитов увеличилась по отношению к контролю, и лишь через 28 сут экспозиции она стала достоверно ниже него. Относительное количество палочкоядерных клеток среди зрелых форм нейтрофилов достоверно увеличилось так же только через 28 сут экспозиции. Доля эозинофилов достоверно увеличилась через 7 сут опыта, а затем уменьшилась в последующие сроки (Табл. 1).

У карпа и гольца под действием токсиканта увеличилась доля гемоцитобластов и несколько уменьшилась доля незрелых форм нейтрофилов (Табл. 1, 2). В отличие от ранее описанных опытных рыб у окуня по сравнению с контролем доля гемоцитобластов значительно снизилась, и достоверно возросла доля незрелых форм нейтрофилов (Табл. 3). У гольца и окуня, возросла доля макрофагов (Табл. 2, 3). Из всех опытных групп рыб лишь у гольца доля плазматических клеток была достоверно выше на всех сроках опыта по сравнению с контролем (Табл. 2).

Для количественного выявления отклонения гематологических параметров у исследованных видов рыб использовали индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ). Из таблицы 4 видно, что у карпа на 7 и 14 сут опыта ИСЛ был меньше по сравнению с контролем на 0.36 и 0.08 соответственно, но после 21 сут экспозиции ИСЛ стал увеличиваться (на 0.11) и к 28 сут эксперимента был достоверно больше контроля (на 0.49). В отличие от карпа, у гольца и окуня ИСЛ по сравнению с контролем достоверно увеличился уже после 7 сут экспозиции на 0.28 и 1.18 соответственно, после 14 сут экспозиции данный показатель снизился и превышал контроль на 0.21 и 0.62 соответственно. У гольца ИСЛ на 21 сут эксперимента превышал контроль на 0.24, а после 28 сут экспозиции - лишь на 0.16. Следует отметить, что как у гольца, так и у окуня после пика ИСЛ на 7 сут затем присутствовала тенденция снижения его до конца эксперимента, тем не менее уровень его оставался достоверно выше контроля.

Для оценки межвидовых особенностей реакции лейкоцитов на действие кадмия рассчитывали изменение ИСЛ относительно контроля. Выявлено, что наиболее чувствительными действию ионов кадмия оказались клетки окуня, сходную тенденцию изменения показателя имели клетки гольца, но в этом случае кривая носила более сглаженный характер. Соотношение клеток карпа, напротив, изменялось иным образом: сначала показатель снижался ниже контрольного уровня, а затем плавно повышался, превысив уровень контроля к концу эксперимента (Рис. 1).

Таблица 1. Влияние сублетальной концентрации ионов кадмия на соотношение лейкоцитов в головной почке карпа.

тип клеток, %		N	Гемоцитобласты	Лимфоциты	Макрофаги	Плазматические клетки	Метамиелоциты	ПЯН	СЯН	Эозинофилы
срок экспозиции										
Контроль		20	(16.96±1.22) ¹	(39.74±1.33) ²	(3.04±0.38) ²	(0.48±0.14) ^{1,2}	(25.81±1.93) ²	(13.00±0.94) ^{1,2}	(0.44±0.11) ¹	(0.52±0.12) ¹
О п ы т	7сут	5	(25.50±1.96) ²	(43.33±2.60) ²	(2.83±0.60) ²	(0.80±0.40) ²	(12.67±1.15) ¹	(12.67±1.82) ^{1,2}	(1.00±0.45) ¹	(1.17±0.48) ²
	14сут	5	(25.75±3.02) ²	(40.38±3.22) ²	(1.00±0.27) ¹	(0.25±0.16) ^{1,2}	(22.38±3.72) ²	(9.63±1.64) ¹	(0.38±0.18) ¹	(0.25±0.16) ¹
	21сут	5	(17.50±1.48) ¹	(37.83±3.21) ²	(2.83±0.54) ²	(0.17±0.17) ¹	(24.67±1.17) ²	(15.83±1.96) ²	(0.83±0.31) ¹	(0.50±0.22) ^{1,2}
	28сут	5	(20.50±2.33) ^{1,2}	(29.75±0.92) ¹	(2.75±0.31) ²	(0.25±0.16) ¹	(25.37±2.63) ²	(20.87±1.06) ³	(0.50±0.27) ¹	(0.25±0.16) ¹

Примечание: данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ($\bar{x} \pm SE$); N – количество исследованных особей. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого типа клеток, достоверно отличаются между контролем и сроками экспозиции ($P=0,05$; ANOVA, LSD тест). ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы.

Таблица 2. Влияние сублетальной концентрации ионов кадмия на соотношение лейкоцитов в головной почке гольца.

тип клеток, %		N	Гемоцитобласты	Лимфоциты	Макрофаги	Плазматические клетки	Промиелоциты	Метамиелоциты	ПЯН	СЯН	Эозинофилы
срок экспозиции											
Контроль		20	(6.26±0.22) ^{1,2}	(52.30±0.68) ²	(1.98±0.14) ¹	(2.57±0.13) ¹	(6.70±0.36) ³	(10.05±0.29) ²	(13.21±0.27) ¹	(3.79±0.18) ¹	(3.16±0.21) ¹
О п ы т	7сут	5	(7.10±0.28) ^{2,3}	(40.46±1.39) ¹	(3.90±0.39) ²	(3.80±0.25) ²	(4.70±0.34) ¹	(7.60±0.49) ¹	(20.02±0.22) ³	(7.51±0.40) ²	(4.91±0.30) ²
	14сут	5	(5.70±0.37) ¹	(40.30±0.75) ¹	(6.30±0.37) ⁴	(4.10±0.29) ²	(5.30±0.37) ^{1,2}	(7.50±0.71) ¹	(19.00±0.32) ³	(6.90±0.19) ²	(4.90±0.29) ²
	21сут	5	(7.90±0.29) ³	(40.40±1.04) ¹	(4.80±0.25) ³	(3.70±0.25) ²	(6.50±0.35) ^{2,3}	(9.70±0.37) ²	(14.40±0.51) ²	(7.50±0.35) ²	(5.10±0.19) ²
	28сут	5	(8.00±0.57) ³	(41.60±0.66) ¹	(5.00±0.35) ³	(4.40±0.29) ²	(5.60±0.43) ^{1,2,3}	(9.70±0.41) ²	(14.20±0.51) ^{1,2}	(7.00±0.39) ²	(4.50±0.16) ²

Примечания те же, что в таблице 1

Таблица 3. Влияние сублетальной концентрации ионов кадмия на соотношение лейкоцитов в головной почке окуня.

срок экспозиции \ Тип клеток, %		N	Гемоцитобласты	Лимфоциты	Макрофаги	Плазматические клетки	Промиелоциты	Метамиелоциты	ПЯН	СЯН	Эозинофилы
Контроль		20	$(29.81 \pm 2.62)^2$	$(32.69 \pm 3.73)^2$	$(3.13 \pm 0.41)^1$	$(0.88 \pm 0.23)^1$	$(9.06 \pm 0.63)^1$	$(11.00 \pm 1.78)^1$	$(8.50 \pm 0.61)^1$	$(3.31 \pm 0.37)^1$	$(1.63 \pm 0.31)^1$
Опыт	7сут	5	$(18.00 \pm 0.88)^1$	$(18.75 \pm 1.45)^1$	$(6.00 \pm 0.48)^2$	$(1.58 \pm 0.30)^1$	$(13.92 \pm 0.96)^2$	$(20.17 \pm 0.46)^2$	$(11.42 \pm 0.77)^2$	$(3.50 \pm 0.56)^1$	$(6.67 \pm 0.51)^2$
	14сут	5	$(16.92 \pm 0.74)^1$	$(26.08 \pm 2.10)^{1,2}$	$(5.92 \pm 0.87)^2$	$(0.67 \pm 0.25)^1$	$(13.75 \pm 0.75)^2$	$(21.17 \pm 0.51)^2$	$(8.83 \pm 0.70)^1$	$(2.50 \pm 0.26)^1$	$(4.17 \pm 0.38)^2$

Примечание тоже, что для таблицы 1

Таблица 4. Индекс сдвига лейкоцитов исследованных видов рыб.

вид рыбы \ срок экспозиции		Карп	Голец	Окунь
Контроль		$(0,96)^2$	$(0,65)^1$	$(0,99)^1$
Опыт	7 сут.	$(0,60)^1$	$(0,93)^3$	$(2,17)^3$
	14 сут.	$(0,88)^{1,2}$	$(0,86)^{2,3}$	$(1,61)^2$
	21 сут.	$(1,07)^2$	$(0,89)^{2,3}$	-
	28 сут.	$(1,45)^3$	$(0,81)^2$	-

Примечание: значения с различными цифровыми индексами для каждого типа клеток, достоверно отличаются между контролем и сроками экспозиции ($P=0,05$; ANOVA, LSD тест).

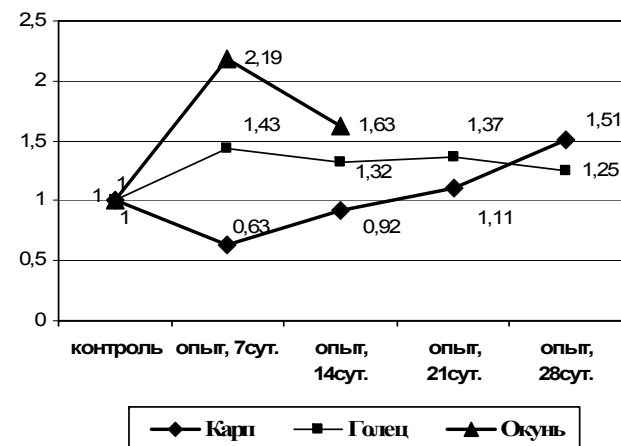


Рис.1. Динамика изменения индекса сдвига лейкоцитов относительно контроля у исследованных видов рыб.

Таким образом, сублетальная концентрация ионов кадмия оказалась токсична для всех видов исследуемых рыб. Колебания соотношения лейкоцитов в почках, по-видимому, могут быть связаны с перераспределением этих клеток из почек в периферическую кровь. Известно, что головная почка обладает высокой поэтической активностью, и скорость поэза, как и созревание клеток, зависят от видовых особенностей развития лимфомиелоидной ткани (Заботкина, Назарова, 2006; Микряков и др., 2001). Специфика реагирования клеток почек карпа, гольца и окуня на данный токсикант, скорее всего, связана с видовыми особенностями структуры тканей и интенсивности обменных процессов. Увеличение ИСЛ относительно контроля во время эксперимента свидетельствует об усилении гранулопоэза в головной почке рыб, и скорее всего связано с развитием воспалительной реакции в органе под действием ионов кадмия. Уменьшение ИСЛ у карпа на 7 сут опыта может быть вызвано не только уменьшением доли незрелых форм гранулоцитов, но и с большим увеличением доли плазматических клеток и лимфоцитов в органе. Ранее было отмечено, что кадмий модифицирует белки организма, в результате чего иммунная система организма рыб воспринимает их как чужеродные, реагируя синтезом антител. (Крючков, Бойко, 2002). Выявленные различия еще раз подтверждают наличие видовой специфики в реакции на данный токсикант.

Список литературы

- Гладышева И.В., Кашулин Н.А. Особенности накопления тяжелых металлов в организмах рыб в условиях многокомпонентного загрязнения водоемов (на примере водосбора р. Пасвик, 2002г.) // Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем: Тез. докл. СПб., 2006. С.36-37.
- Гамбарян С.П., Лаврова Е.А. Нефротоксическое действие соединений платины, хрома и кадмия на морских костистых рыб // Журн. Эвол. Биохим. и Физиол. 1993.-Т. 25.-№ 6.-С. 729-735.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-на-Дону: Эверест, 2004. 312с.
- Заботкина Е.А., Назарова Е.А. Сравнительная характеристика лейкоцитарного состава периферической крови и иммунокомпетентных органов пресноводных и морских костистых рыб // Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов. Мат-лы всероссийской научно-практической конференции. 2006. С.57-60.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 184 с.
- Крючков В.Н., Бойко А.В. Изучение механизма нефротоксичности кадмия для рыб // Международная конференция "Современные проблемы Каспия", посвященная 105-летию КаспНИРХ, Астрахань. 2002. С.152-155.
- Линник П.Н., Искра И.В. Кадмий в поверхностных водах; содержание, формы нахождения, токсическое действие // Гидробиол. Журн. 1997. – Т.33. - №6. – С.72-87.
- Микряков В.Р., Балабанова, Л.В., Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Силкина Н.И. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. -М.: Наука, 2001.-126с.
- De Smet H., De Wachter B., Lobinski R., Blust R. Dynamics of (Cd,Zn)-metallothioneins in gills, liver and kidney of common carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure // *Aquat. Toxicol.* N 3-4, 2001, V.52, P.269-281.
- De Smet H., Blust R. Stress Responses and changes in Protein Metabolism in carp (*Cyprinus carpio*) during cadmium exposure // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001. – Vol.48. - №3 – P.17-22.
- Singhal R.N., Jain M. Cadmium induced changes in the histology of kidneys in common carp, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. – Vol.58. – N 3. – P.456-462.
- Panchanathan Ja., Vattapparumbil P. I. Patterns of cadmium accumulation in selected tissues of the catfish *Clarias batrachus* (Linn.) exposed to sublethal concentration of cadmium chloride // *Vet. arh.* N 2, 2006, V.76, P. 167-177.

БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Н.Н. Немова

Институт биологии Карельского НЦ РАН
г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, Россия, nemova@krc.karelia.ru

Известно, что состояние водных экосистем отражает общее состояние биосферы (Израэль, 2005). Антропогенное воздействие на водные объекты, наряду с другими негативными проявлениями, приводит к изменению и сокращению биологических ресурсов, поэтому оценка состояния биоресурсов, контроль загрязнения водной среды и биоты остаются основными задачами мониторинга состояния водоемов. Водные организмы, как известно, являются удобными объектами

при установке степени влияния на живой организм различного рода ксенобиотиков, в том числе токсических (Коржуев, 1979; Лукьяненко, 1987; Моисеенко, 2003; Кашулин и др., 2005;). Они аккумулируют неблагоприятные эффекты комплекса различных воздействий, имеют сравнительно большие размеры и продолжительность жизни, обладают устойчивостью к сублетальным воздействиям различных веществ, могут быть использованы для прогноза различного рода воздействий на водные экосистемы и здоровье человека, употребляющего эту рыбу в пищу (Besten, Munawar, 2005). Каждое вещество, возможно, находит свою специфическую «мишень» в метаболизме гидробионтов, что предполагает необходимость поиска важнейших и чувствительных биохимических тестов на токсические химические воздействия (Сидоров, 1983; Немова, Высоцкая, 2004; Timbrell John, 2002). На водоем обычно действует целый комплекс экологических факторов, поэтому натурные исследования эффектов воздействий токсикантов являются более объективными, чем модельные. Арсенал методов для выявления эффекта различных воздействий на состояние водных экосистем довольно разнообразен. Он включает гидрологические, гидрохимические, гидробиологические, ихтиологические, микробиологические, гистохимические и другие методы анализа. Биохимические методы позволяют наблюдать изменения в обмене веществ в организме, наступающие, как правило, до появления физиологических, морфологических и других отклонений от нормы (Хочачка, Сомеро, 1980). С их помощью можно определить границы адаптационных способностей, фазу воздействия того или иного фактора (адаптация, предпатология, патология) и на основании этого сделать выводы о степени устойчивости и чувствительности видов (Сидоров, Шатуновский, 1983; Немова, Высоцкая, 2004). В течение последних 30 лет в лаборатории экологической биохимии Института биологии Карельского научного центра РАН разрабатываются различные аспекты эколого-биохимического тестирования и мониторинга водоемов по биохимическому состоянию обитающих в них рыб.

В исследованиях использовали ранее разработанную в лаборатории экологической биохимии индикаторную систему показателей, включающую комплекс биохимических показателей клеточного метаболизма, позволяющий судить об интенсивности обмена белков и пептидов, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот, о модификациях спектра жирных кислот, некоторых аминокислот, состава желчи и других компонентов биохимического аппарата клетки (Немова, Высоцкая, 2004; Немова, 2005). Основными объектами исследований были рыбы, относящиеся к различным семействам и водные беспозвоночные (мидии, амфиподы) Районы исследований - озера Республики Карелия, Мурманского региона, акватории Белого моря. Было изучено влияние на биохимический статус водных организмов как естественных факторов (температура, содержание кислорода, pH, развитие, сезонность, соленость), так и паразитарных и антропогенных (тяжелые металлы, нефтяное загрязнение, пестициды и др.).

В результате проведенных «натурных» и аквариальных исследований получен обширный материал, свидетельствующий о разнообразных и разнонаправленных изменениях в обмене основных компонентов клетки и регуляторов метаболизма. Полученные результаты дают основания сделать следующие выводы:

-Реакция биохимического метаболизма у водных организмов на изменение исследуемых природных и антропогенных факторов различается в зависимости от таксономической и половой принадлежности организма, его физиологического состояния, стадии развития, природы и силы воздействующего фактора.

-Биохимические адаптации к изменению естественных природных факторов среды (соленость, временная гипоксия, развитие и др.) на уровне клеточного метаболизма обычно носят компенсаторный характер, за исключением экстремальных случаев. Изменяется интенсивность метаболизма и соотношение между отдельными его путями. Биохимические механизмы адаптаций к условиям обитания отражают образ жизни, характер питания, стадию онтогенеза и годового цикла организма.

-Модуляции активности ферментов (функциональная активность, сродство фермента субстрату, изоферментный состав и т.д.), уже функционирующих в клетке, создают возможность быстрой адаптации. Большое значение имеют адаптации на уровне микросреды, прежде всего, липидного окружения, в котором функционируют многие ферменты, прежде всего мембраносвязанные.

-Долговременные эволюционные изменения часто сходны с кратковременными акклиматизационными сдвигами. В этом отношении показательны адаптивные изменения липидов: поддержание нужной микровязкости достигается сравнимыми способами как у видов, приспособленных к разным температурам, так и у популяции одного и того же вида, акклиматизированных к разным условиям.

Показано, что при изменении солености среды обитания мидий и амфипод Белого моря значительное опреснение среды угрожает стабильности обменных процессов на клеточном уровне, а, следовательно, и благополучию организма в целом, в большей степени, чем повышенная соленость. Мидии литоральной зоны более адаптированы к анаэробизму, в силу своих экологических особенностей по сравнению с мидиями из сублиторальной зоны.

Результаты исследований влияния зараженности паразитами разных систематических групп на липидный, белковый обмен, активность лизосомальных и цитоплазматических ферментов холоднокровных и теплокровных хозяев свидетельствуют о том, что в системе «паразит – хозяин» имеет место биохимическая преадаптация паразитов. Кроме фундаментального значения результаты этой части исследований могут найти и практическое применение, так как они позволяют оценить степень воздействия паразитов на рыб, а, следовательно, на численность, в том числе и ресурсных видов.

Изучение биохимических изменений у животных разных таксонов (в лабораторных и полевых экспериментах) при острых и хронических воздействиях антропогенных загрязнений, включая смеси токсикантов (бытовые и промышленные стоки), тяжелые металлы, в том числе ртуть, позволило получить новые данные, расширяющие прежние представления о влиянии токсических веществ на водные организмы и позволяющие прогнозировать их состояние.

Установлены специфические и неспецифические модификации изученных биохимических параметров, показаны различия адаптивных перестроек у разных видов, представителей разных экологических групп. Самцы практически всех изученных видов рыб обладают меньшей устойчивостью к разного рода воздействиям.

Особенности адаптаций у водных организмов связаны, прежде всего, с полной зависимостью от среды и принадлежностью к группе эктотермных животных, а также с особенностями цикла развития. Биохимические адаптации у обитателей северных водоемов (стенобионтных организмов), развитие и становление которых происходит при сравнительно низкой температуре, слабой минерализации, олиготрофности) более разнообразны.

Проведенные исследования и полученные в них новые результаты позволили разработать подходы к разработке методологии оценки состояния водных организмов по биохимическому статусу. В этой системе учитываются разработанные ранее принципы эколого-биохимического тестирования. Предложенный нами и апробированный в токсикологических экспериментах ИБИ (интегральный биохимический индекс) позволяет получить информацию о воздействии токсиканта на метаболизм рыб еще до того, как его концентрация достигнет уровня ПДК (предельно-допустимой концентрации).

Результаты исследований важны как для выяснения механизмов развития приспособительных реакций у живых организмов, стоящих на различных ступенях эволюционного развития в ответ на воздействие разнообразных факторов среды, так и для разработки критериев оценки стабильности водных экосистем и прогнозирования их возможных изменений. Следующим этапом наших исследований будет раскрытие тонких механизмов адаптаций на клеточном и молекулярном уровнях, что предполагает продвижение в области теоретических разработок, а также использование новейших методов и совершенной техники для экспериментальных исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №08-04-01140-а, гранта НШ-306.2008.4 Программы Президента РФ «Ведущие научные школы».

Список литературы

- Израэль Ю.А. Проблемы антропогенной экологии// Научные аспекты экологических проблем России. М.:Наука, 2002. С. 9-21.
- Кашулин Н.А., Даувальтер В.А., Кашулина Т.Г., Сандимиров С.С., Раткие Н.Е., Кудрявцева Л.П., Вандыш О.И., Мокротоварова О.И. Антропогенные изменения лотических экосистем Мурманской области. Апатиты:Кольский научный центр РАН, 2005, 234 с.
- Коржуев П.А. О биохимических аспектах обмена веществ рыб// Современные аспекты экологической физиологии рыб. М.:Наука, 1979. С. 11-19.
- Лукьяненко В.И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. М.; Агропромиздат, 1987, 240 с.
- Моисеенко Т.И. Закисление вод. Факторы, механизмы, экологические последствия. М.: Наука, 2003, 276 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.:Наука, 2004. 215 с.
- Немова Н.Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб. М.: Наука, 2005, 164 с.
- Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. М.; Наука, 1983, 240 с.
- Сидоров В.С., Шатуновский М.И. Теоретические и практические аспекты экологической биохимии рыб. // Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск: Карел. Фил. Ан СССР, 1983. С.5-17.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988, 568 с.

Timbrell John A. Introduction to Toxicology. Third edition. Boca Raton, Florida: CRC PRESS, 2002, 215 p.
P.J. den Besten and M. Munawar (Ed.). Ecotoxicological Testing of Marine and Freshwater Ecosystems. Boca Raton, London, New York, Singapore: Taylor&Francis, 2005, 195 p.

РОСТ МОЗАМБИКСКОЙ ТИЛЯПИИ (*OREOCHROMIS MOSSAMBICUS* PETERS) ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ, НАФТАЛИНА И ДДВФ

Д.Ф. Павлов, Г.М. Чуйко

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанова РАН
152742 п. Борок, Ярославской обл., Россия, Pavlov@ibiw.yaroslavl.ru

Рост - комплексный процесс, зависящий от множества разнообразных функций организма (Мина, Клевезаль, 1976). Нарушения физиолого-биохимических и поведенческих реакций при действии различных факторов внешней среды приводят к изменениям темпов роста. К числу таких факторов относятся и токсические. Сами по себе темпы роста, наряду с выживаемостью/смертностью, поведением, количеством и качеством потомства, служат одним из основных критериев токсичности для рыб.

Вместе с тем, существует мнение о том, что рост – недостаточно чувствительный и информативный показатель токсичности. Во многих работах отмечалось, что действие токсикантов разной природы не приводило к снижению темпов роста, в то время как другие признаки отравления уже были очевидными. По мнению Д. Волтеринга (Woltering, 1984) это связано в первую очередь с неадекватными условиями постановки опытов. В большинстве случаев рыбы в таких экспериментах содержались в «неструктурированной» среде – аквариумах без водных растений, донных отложений, укрытий, без угрозы со стороны хищников и кормились *ad libitum* искусственным, высококалорийным кормом. При таком режиме исключается один из важнейших компонентов обеспечения роста - поведенческий. Рыбы не испытывают необходимости в реализации поведенческих реакций пищедобывания в «реальной», сложной среде, и влияние возможных нарушений пищевого поведения на темпы роста оказывается исключенным. В наших ранних экспериментах было исследовано действие кадмия и фосфорорганического инсектицида ДДВФ на пищевое поведение леща (Герасимов и др. 1991; Павлов и др., 1990; Pavlov et al., 1992). В этих экспериментах рыбы питались в аквариумах, в которых моделировали естественные условия питания и объекты исследования должны были демонстрировать соответствующие поведенческие навыки. Хроническое влияние указанных токсикантов привело к достоверному снижению эффективности пищевого поведения и, в частности как следствие, к задержке роста.

Нарушение эффективности пищевого поведения может быть результатом снижения как пищевой мотивации, так и способности рыб к обнаружению, схватыванию и обработке кормового объекта. Одним из возможных механизмов негативного влияния ксенобиотиков на рост рыб может быть также их прямое или опосредованное воздействие на активность пищеварительных ферментов (Golovanova et al. 1994, Kuz'mina et al. 1999). Наконец, токсиканты могут нарушать процессы энергетического (Tsaij, Liao, 2006) и пластического обмена, что негативно сказывается на росте.

Очевидно, что прояснение вопроса о механизмах влияния токсикантов на рост рыб и чувствительности этого показателя возможно только при проведении адекватных экспериментов, при сравнимых по силе токсических воздействиях и при использовании унифицированных методических приемов определения ростовых показателей.

Цель настоящей работы – сравнительное изучение хронического действия тяжелого металла кадмия, полициклического ароматического углеводорода нафталина и фосфорорганического инсектицида ДДВФ (дихлордивинил фосфат, дихлофос) на рост мозамбикской тилляпии (*Oreochromis mossambicus* Peters).

Группы по 10 рыб (возраст 4 мес.) помещались в проточные аквариумы емкостью 60 л. При помощи оригинальной диллютерной установки в аквариумах поддерживались постоянные концентрации токсикантов – кадмия (5 мг/л), ДДВФ (0.46 мг/л), нафталина 1.5 мг/л. Эти концентрации были подобраны в ходе предварительных острых опытов и составляли 1/30 (кадмий и ДДВФ) и 1/15 (нафталин) LC_{50} за 24 ч для тилляпии мозамбикской (Frumin et al., 1992). Указанные концентрации поддерживались в воде опытных аквариумов в течение 60 дней, после чего подача растворов прекращалась и рыб содержали в течение еще 60 дней в чистой проточной воде. Контролем служили особи, содержащиеся в аналогичных условиях в чистой проточной воде. Более подробно методика проведения эксперимента описана ранее (Чуйко и др., 2001). Рыб кормили *ad*

libitum искусственным кормом (рыбный фарш, манная крупа, протертые высушенные листья крапивы). Через каждые 15 суток у них прижизненно измеряли массу тела, длину и рассчитывали коэффициент упитанности по Фултону. В параллельной серии опытов (Чуйко и др., 2001) рыбы содержались в сходных условиях, каждые 15 дней отбирали пробы, рыб забивали, измеряли массу и длину тела, а также степень наполнения кишечника пищей.

В течение всего эксперимента гибель рыб в контроле не превышала 2%. Смертность особей, экспонированных в нафталине и ДДВФ, была на уровне контрольной. Видимых признаков отравления (включая заметные нарушения поведенческих реакций) у этих рыб не отмечалось, а серия параллельных опытов показала, что кишечники тилапий, выдержанных в этих токсикантах, отличались хорошей наполненностью, что указывало на активное питание особей из этих вариантов опыта. Иная картина наблюдалась в опыте с кадмием: в течение периода экспозиции смертность была незначительной, но визуально обнаруживались явные признаки отравления: покровы ослизнены, поведение заторможено, а пищевая масса в кишечнике вскрытых рыб практически полностью отсутствовала. После прекращения подачи раствора кадмия все тилапии погибли на 105 сутки опыта.

Определение ростовых показателей рыб выявило, что в контроле за 120 суток опыта тилапии значительно выросли: длина составила 122% от первоначальной, масса – 162%. Соответствующие показатели рыбы, экспонированные в ДДВФ (длина 124%, масса 186%) и нафталине (127% и 175%, соответственно) были сходными и даже несколько выше, чем в контроле. Величина коэффициента упитанности Фултона в контроле и в контроле и этих вариантах имела тенденцию к снижению, однако оно было недостоверным.

Рост тилапий, подвергнутых хроническому действию кадмия, имел совершенно другую динамику. К моменту гибели рыб на 105 сутки опыта, длина их тела изменилась недостоверно (т. е., линейного роста не было зарегистрировано), а средняя масса статистически достоверно снизилась, составив 73% от первоначальной. Достоверно упала и величина коэффициента упитанности – с 3.5 в начале экспозиции до 2.7 на 105 сутки.

Таким образом, длительное хроническое воздействие сравниваемых токсикантов в эквитоксических концентрациях и при унифицированных условиях эксперимента привело к разным результатам. Фосфорорганических инсектицидов ДДВФ и полициклический углеводород нафталин не оказали негативного влияния на рост, а хроническое действия кадмия привело к его подавлению.

В ходе проведенных нами параллельных серий опытов признаки токсичности выявлялись при экспонировании не только в кадмии, но и в ДДВФ и нафталине. Однако если в первом случае эти признаки были видны «невооруженным глазом», то во втором случае отмечены были только на биохимическом уровне. Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и содержание водорастворимой фракции белка в мозгу рыб, экспонированных в нафталине и кадмии, менялись закономерно и их динамика были характерной для стрессорной реакции (Чуйко и др., 2001). Антихолинэстеразный препарат дихлофос вызвал специфический ответ АХЭ, который проявлялся в быстром и устойчивом снижении активности фермента, сохраняющемся на протяжении всего периода контакта рыб с токсикантом, и медленном ее восстановлении до уровня близкого к контролю после его прекращения. Поскольку ранее нами было экспериментально доказано участие АХЭ в регуляции пищевого поведения в условиях, моделирующих естественные (Pavlov et al., 1992), можно предположить, что и в описываемом нами эксперименте изменения активности АХЭ рыб могли привести к модификации пищевого поведения при экспонировании во всех токсикантах. Однако поскольку условия постановки опытов не вынуждали рыб демонстрировать адекватные навыки пищедобывания, ДДВФ и нафталин не оказали негативного влияния на рост. Очевидно, эти токсиканты не подавляли также и пищевую мотивацию тилапий, на что указывает хорошая наполняемость кишечника рыб. Все это согласуется с выводом о важности учета условий постановки опытов при изучении роста рыб, содержащемся в критическом обзоре Д. Волтеринга (Woltering, 1984).

Что касается кадмия, то намного более сильное влияние этого ксенобиотика на рост рыб должно объясняется иными причинами. Кадмий обладает большей способностью в материальной кумуляции и меньшей летучестью, по сравнению с изученными органическими соединениями. Его накопление в тканях рыб в условиях хронического содержания должно было быть более интенсивным и нарастать по мере увеличения времени пребывания тилапий в растворе этого токсиканта. Аккумуляция кадмия неизбежно отрицательно сказалась на общем физиологическом состоянии рыб. Это привело к подавлению пищевой мотивации (пищевая масса в кишечнике отсутствовала), неизбежным энергетическим потерям и, как следствие к подавлению линейного и весового роста. Ранее нами было показано, что при высоких концентрациях кадмий и нафталин способны ингибировать АХЭ (Павлов, 1992). Однако в данной работе было выявлено, что у рыб, экспонированных в кадмии, активность, АХЭ повышалась в течение всего периода пребывания в

токсиканте и после его прекращения, вплоть до гибели тилляпий (Чуйко и др. 2001). Это свидетельствует о незавершенности адаптивного процесса и неспособности рыб, экспонированных в кадмии, приспособиться не только к собственно токсическому стрессу, но и к стрессу, вызванному переводом в чистую воду.

Нельзя не отметить, что в этом же эксперименте было выявлено намного более сильное ингибирование кадмием активности пищеварительных гидролаз рыб (Golovanova et al., 1994; Kuz'mina et al., 1999). Это также должно было негативно отразиться на росте тилляпии. Возможные механизмы такого влияния металла обсуждаются в указанных работах.

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что длительное хроническое действие изученных токсикантов в эквитоксических концентрациях, оказывает различное по силе воздействие на ростовые показатели рыб. Кадмий вызвал намного более сильное подавление роста мозамбикской тилляпии, оказавшееся необратимым и фатальным.

Список литературы:

- Герасимов Ю.В., Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М. Пищевое поведение леща при хроническом действии кадмия // В кн. Павлов Д.С. и Гусар А.Г. (ред.): Тр. Всесоюз. совещания по вопросам поведения рыб. М: ИЭМЭЖ РАН, 1991. - С.196-203.
- Мина М. В., Клевезаль Г. А. Рост животных. М.: Наука, 1976. - 291 с.
- Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М., Герасимов Ю.В. Содержание белка и активность ацетилхолинэстеразы в мозге леща при хроническом действии кадмия // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. ИББВ. - 1990. - №89. - С. 72-77.
- Павлов Д.Ф. Динамика активности ацетилхолинэстеразы и содержания белка в мозге рыб при действии загрязняющих веществ. Автореф. дисс. канд. б. н. Борок, ИБВВ РАН, 1992.
- Чуйко Г.М., Павлов Д.Ф., Подгорная В.А., Степанова В.М. Изменение активности ацетилхолинэстеразы и содержания водорастворимого белка в мозге мозамбикской тилляпии *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) при хроническом действии кадмия, нафталина и дихлофоса // Биол. внутр. вод. - 2001. - №3. - С.72-79.
- Frumin G.T., Chuiko G.M., Pavlov D.F., Menzikova O.V. New rapid method to evaluate median effect concentrations of xenobiotics in hydrobionts // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1992. - V.49. - N 3. - P.361-367.
- Golovanova I.L., Pavlov D.F., Chuiko G.M. Effects of cadmium, naphthalene and DDVP on gut carboxylase activity in bream (*Abramis brama* L.) and mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters.) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1994. - V.52. - P. 338-345.
- Jame R., Sampath K, Edward D.S. Copper Toxicity on Growth and Reproductive Potential in an Ornamental Fish, *Xiphophorus helleri* // Asian Fisheries Science. - V. 16. - 2003. P. 317-326.
- Kuz'mina V.V., Pavlov D. F, Chuiko G. M. Effects of DDVP, naphthalene and cadmium on intestinal proteolytic activity in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters). Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1999. - V. 62. - P. 193- 198.
- Pavlov D.F., Chuiko G.M., Gerasimov Yu.V., Tonkopi V.D. Feeding behavior and brain acetylcholinesterase activity in bream (*Abramis brama* L.) as affected by DDVP, an organophosphorus insecticide // Comp. Biochem. Physiol. C. 1992. V.103C. No 3. P. 563-568.
- Tsaij W., Liao C.-M. Mode of action and growth toxicity of arsenic to tilapia *Oreochromis mossambicus* can be determined bioenergetically // Arch. Environ. Contam. Toxicol. - 2006. - V. 50. - No 1. P.144-152.
- Woltering D. M. The growth response in fish chronic and early life stage toxicity tests: A critical review // Aquatic Toxicology. - 1984. - V. 5. - No 1. - P. 1-21.

ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИХ ГЕРБИЦИДОВ НА ПЛОДОВИТОСТЬ *DAPHNIA MAGNA STRAUS* (CLADOCERA)

Г.А. Папченкова

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Россия, gala_al@mail.ru

Уже второе десятилетие в России и три десятилетия в США в качестве эффективного средства борьбы с сорняками на полях и приусадебных участках, улучшения качества лугов и осветления лесов активно используются глифосатсодержащие гербициды Раундап, Торнадо, Ураган форте, Отаман и многие другие. Активным веществом в этих гербицидах является глифосат [N-(phosphonomethyl) glycine] – гербицид широкого спектра действия. Глифосат разлагается присутствующими в почве и воде аэробными и анаэробными микроорганизмами, поэтому считается экологически нестойким гербицидом (Duke, 1988). Известно, что минимальный период полураспада глифосата в воде – две недели, в то же время в естественных не текущих водных экосистемах он

варьирует от семи до десяти недель (Reinert, 1987). Собственные исследования по деградации раундапа показали, что скорость деградации растворов зависит от условий хранения и от концентрации. При хранении растворов в темноте в анаэробных условиях, деградация токсиканта в течение 2-х недель незначительна (Папченкова, 2006), тогда как при хранении на свету в аэробных условиях деградация растворов происходит достаточно быстро. К сожалению, в отечественной литературе нами не найдено данных о содержании глифосата в природных водоемах. В США проводится периодический мониторинг содержания пестицидов в воде. Так, в отчете за период наблюдений с 1998 по 2003 гг. (Frans, 2004) приводятся следующие данные: в воде всех исследуемых водотоков присутствует глифосат в концентрации от $< 0,1$ (следы) до 2,0 мкг/л. Причем его содержание значительно повышается после ливней, что очевидно связано с вымыванием глифосата из почвы дождевой водой.

В силу повсеместного применения этих гербицидов необходимо изучение их токсических свойств в разных экосистемах, в том числе и в водной. Очень важен вопрос приспособления животных к токсическому веществу и увеличения их резистентности к токсиканту (Флеров, 1971). В литературе имеется немало данных по воздействию глифосата на фитогидробионтов (Sáenz, 1997, Merivani, 1986 и др.). Значительно меньше таких данных по зоогидробионтам, они в основном касаются оценки острой токсичности (Cox, 2004, Martin, 2003 и др.), безопасного применения и защиты водных экосистем от попадания в них гербицида (Jerry, 2004). Вопросы адаптации к глифосату рассматриваются, главным образом, применительно к растениям и почвенным микроорганизмам (Ayres, 2003, Merivani, 1986), применительно к ракообразным адаптация изучалась в диапазоне витальных концентраций (Папченкова, 2007). Поэтому в данной работе рассматривается влияние глифосата на показатели репродукции гидробионта в максимально возможном диапазоне концентраций – от витальных до сублетальных. Выбор *Daphnia magna* Straus. в качестве тест-объекта обусловлен тем, что ракообразные являются важным трофическим звеном водных экосистем, обладают высокой чувствительностью к токсикантам, легко культивируются и имеют высокую скорость воспроизводства.

Влияние глифосата определяли методом тестирования согласно методике Государственного комитета РФ по охране окружающей среды (Токсикологические..., 1999). Эксперимент проводился на культуре *Daphnia magna*, размножающейся в условиях лаборатории партеногенезом. Культура непрерывно поддерживалась в лаборатории в 1,5-литровых аквариумах с дехлорированной водопроводной водой при 22-23°C. Тестирование проводили в 15-суточном тесте. Пятнадцатисуточный тест был выбран как оптимальный для решения поставленной задачи, так как за это время рачок развивался до половозрелой особи и давал 2-3 выводка, молодь из 3-его выводка использовали для запуска линии следующего поколения. Генетически однородных рачков, возраст которых был менее 24 часов, рассаживали в стаканы объемом 250 мл с 125 мл среды по 1 штучке в каждый, в 10-15 повторностях для каждой концентрации токсиканта и контроля, количество повторностей зависело от количества народившейся в этот день молоди. Особи контрольного варианта развивались в такой же воде, как и поддерживаемая культура. На этой же воде готовили растворы раундапа концентрации 0.02 мг/л, 0.2 мг/л и 2.0 мг/л, 25.0 мг/л, 50.0 мг/л (в пересчете на глифосат). Выбор такого диапазона концентраций токсикантов был обусловлен следующими обстоятельствами: 1) 0.02 мг/л – это ПДК глифосата в воде водоемов согласно “Гигиеническими нормативами содержания пестицидов в объектах окружающей среды. ГН 1.2.1323-03Э” утв. Главным Государственным санитарным врачом РФ 02.05.2003; 2) 50.0 мг/л – это сублетальная концентрация, установленная нами в предварительных экспериментах.

Среда обновлялась через 5 дней. Рачков ежедневно кормили суспензией клеток водоросли *Chlorella vulgaris* Beyer., культура которой поддерживается в лаборатории. Один раз в сутки в одно и то же время контролировали наличие или отсутствие помета, пересчитывали народившуюся молодь, выборочно измеряли ее длину. На 15-й день эксперимента измеряли длину взрослых самок, молодь из каждой линии использовали для запуска эксперимента по определению хронической токсичности препарата в следующих поколениях. Всего проанализировано 7 поколений рачков, экспонируемых при концентрациях токсиканта 0.02 мг/л, 0.2 мг/л и 2.0 мг/л, контроль и 4 поколения при концентрациях 25.0 мг/л, 50.0 мг/л, в том числе родительское (I), отличающееся от последующих поколений тем, что особи его не подвергались воздействию токсиканта на стадиях оогенеза и эмбриогенеза. После завершения эксперимента подсчитывали в каждом поколении суммарную плодовитость на 1 самку за 15 суток эксперимента, число пометов на 1 самку за 15 суток и количество новорожденных в одном вымете.

Для приготовления растворов токсиканта использовали самый распространенный из ряда глифосатсодержащих гербицидов, имеющий торговое название “Раундап”. Средство представляет

собой водный раствор 360 г/литр глифосата. Инертные ингредиенты, усиливающие действие активного элемента или облегчающие использование гербицида, ни в аннотации, ни в тексте на упаковке не указаны. Производитель глифосатсодержащих гербицидов – компания Монсанто (США). В России средство произведено и расфасовано фирмой ГРИН БЭЛТ.

Некоторые репродуктивные показатели рачков, экспонируемых в растворе токсиканта, приведены в таблице. В каждом поколении за время 15-суточного теста было получено 2-4 (чаще 3) выводка новорожденных (средние значения варьируют от 2.40 до 4.33). Статистически достоверная разница числа пометов по сравнению с контролем наблюдается редко. Среднее число новорожденных в одном помете варьировало от 13.23 до 41.51 особей. Во всех поколениях, за исключением II-ого (концентрация 0.2 и 2.0 мг/л), число новорожденных на один помет в контроле выше, чем в опыте, причем эта разница обычно статистически достоверна при высоких концентрациях токсиканта (50.0, 25.0 мг/л). Кроме того, следует отметить, что в помете рачков, экспонируемых при высоких концентрациях, визуально особи производили впечатление маложизнеспособных. По этой причине нам не удалось запустить линию V-ого поколения при концентрации токсиканта 50.0 и 25.0 мг/л.

Средние величины числа дней до первого вымета потомства рачков в опытных и контрольном вариантах по поколениям представлены на рис. 1. Как правило, первый вымет рачков, экспонируемых в гербициде небольших концентраций (0.02, 0.2, 2.0 мг/л), происходит раньше, чем в контроле, в токсиканте высокой концентрации 25.0 и 50.0 мг/л потомство появляется в среднем на одни сутки позднее, но значения эти обычно статистически недостоверны.

Таблица. Параметры плодовитости рачков *Daphnia magna* в ряду поколений при экспозиции в растворе гербицида Раундап

Концентрация глифосата (мг/л)	Поколение						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
	Число пометов						
50.0	2.6±0.16	2.4±0.16	2.9±0.18	4.0±0.15	-	-	-
25.0	3.3±0.15	2.7±0.15	2.4±0.16	3.7±0.17	-	-	-
2.0	2.6±0.15	3.9±0.08	3.2±0.11	3.6±0.15	4.0±0.13	3.9±0.08	3.8±0.13
0.2	3.2±0.13	3.8±0.13	3.0±0.00	3.7±0.14	3.1±0.19	3.5±0.15	4.3±0.22
0.02	2.9±0.08	3.9±0.08	2.9±0.08	3.1±0.15	3.5±0.19	3.0±0.00	3.9±0.08
Контроль	3.0±0.05	3.3±0.15	3.2±0.12	3.6±0.18	3.1±0.08	3.0±0.12	3.9±0.08
	Количество новорожденных в одном помете						
50.0	17.1±2.11	13.2±1.07	17.8±1.47	20.2±0.90	-	-	-
25.0	20.0±1.25	20.7±2.77	18.4±1.74	25.8±1.11	-	-	-
2.0	16.8±1.84	34.1±1.40	22.9±1.06	23.6±1.14	23.4±1.26	22.8±1.01	19.3±1.12
0.2	24.6±1.73	41.5±1.62	20.3±1.22	27.1±1.19	24.5±0.95	27.0±1.78	22.0±1.35
0.02	25.3±1.38	26.7±2.00	21.9±1.14	26.7±1.37	21.4±1.23	21.2±1.55	24.6±0.83
Контроль	26.7±1.31	27.2±1.31	26.0±1.64	29.0±1.35	24.3±0.90	22.9±1.73	27.2±1.09

Примечание. Жирным шрифтом выделены показатели, достоверно отличающиеся при $p < 0.05$ от контроля.

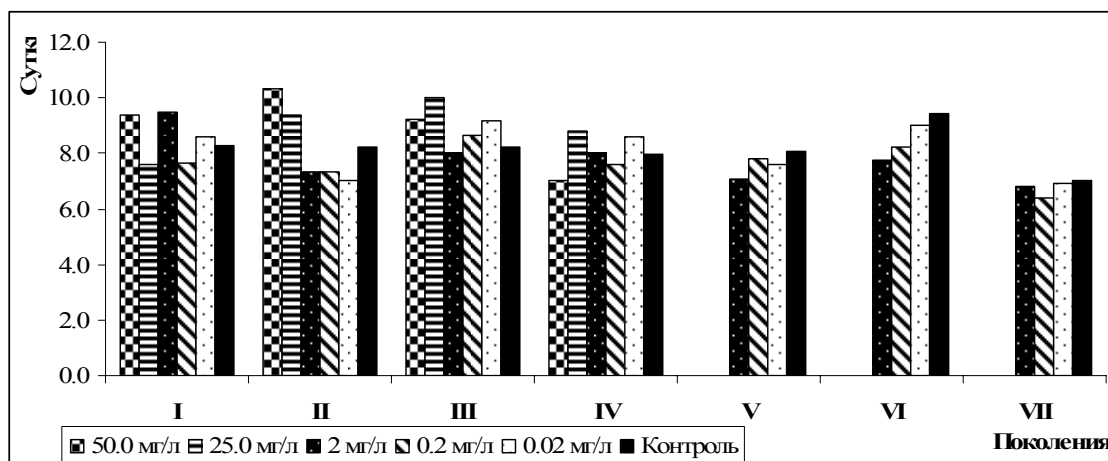


Рис. 1. День появления 1-ого выводка в опытных и контрольном вариантах. По оси абсцисс – поколения, по оси ординат – сутки.

Результаты подсчёта суммарной плодовитости на 1 самку за 15 дней экспозиции в токсиканте концентрацией 0.02, 0.2, 2.0, 25.0, 50.0 мг/л (в пересчете на глифосат) представлены на рис.2. Негативное влияние токсиканта на плодовитость рачков проявилось уже в родительском поколении (I), для которого использовалась молодь, отличающаяся от молоди последующих поколений тем, что она не подвергалась воздействию токсиканта на стадиях оогенеза и эмбриогенеза. В первом поколении при высоких концентрации 50.0, 25.0 и даже 2.0 мг/л плодовитость статистически достоверно ниже по сравнению с контролем. Плодовитость же рачков, экспонируемых в растворе концентрацией 0.02 и 0.2 мг/л, была близка к показателю в контроле. На рис. 2, как и на рис. 1, не отмечены точки со значениями достоверно отличающиеся при $p < 0.05$ от контроля, поскольку из-за наличия большого количества данных графики было бы трудно читать. Во II-ом поколении разница в плодовитости экспериментальных и контрольных самок увеличилась еще больше. При этом при высоких концентрациях токсиканта плодовитость стала еще более низкой, а при концентрации 0.2 и 2.0 мг/л она стала достоверно выше контроля. То есть, токсический эффект у особей, экспонируемых при высоких и при низких концентрациях токсиканта диаметрально противоположный – при высоких концентрациях ощущается сильное угнетающее действие, при низких концентрациях происходит стимулирующий отклик на токсикант. Существенно отличается отклик на токсикант особей родительского (I) и II поколений рачков, что, очевидно, связано с разными условиями их развития. Рачки родительского поколения были помещены в раствор раундапа новорожденными от неэкспонированных в токсиканте матерей, в то время как особи II-го поколения рачков прошли все стадии развития, включая оогенез и эмбриогенез, в токсиканте.

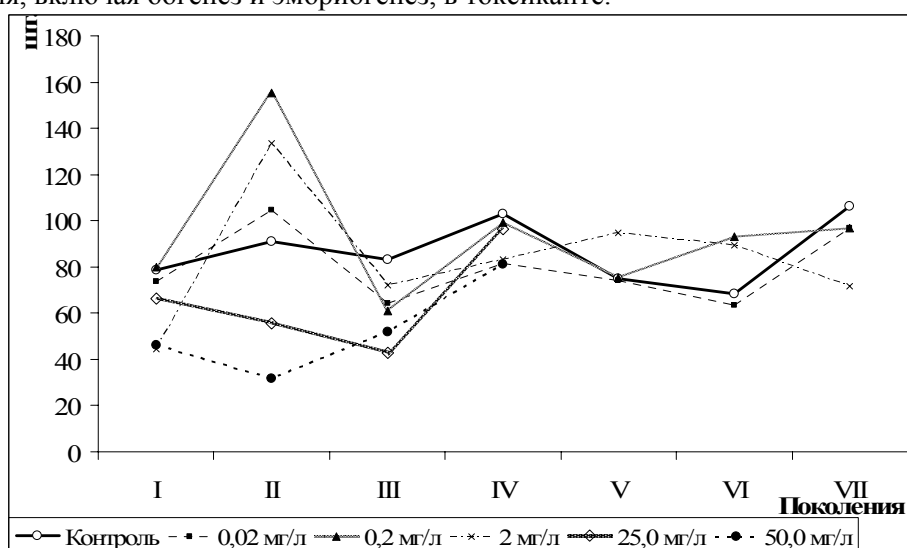


Рис. 2. Динамика плодовитости *Daphia magna* в ряду поколений в опытных и контрольном вариантах. По оси абсцисс – поколения, по оси ординат – суммарное количество потомков на 1 самку за 15 дней, шт.

В III-ем поколении разница между суммарной плодовитостью контрольных особей и экспонированных в токсиканте несколько уменьшилась, но при высоких концентрациях 25.0 и 50.0 мг/л она по-прежнему достоверно ниже контроля. В IV-ом поколении значения суммарной плодовитости сблизились, плодовитость контрольных особей превышает экспериментальные, но это превышение достоверно только при концентрации 50.0 мг/л. Т.е. в четвертом поколении можно было бы говорить о некоторой адаптации дафний к глифосату, если бы не одно обстоятельство. Молодь, появившаяся от особей IV-ого поколения при концентрации токсиканта 25.0 и 50.0 мг/л, была настолько нежизнеспособна, что погибла в первые двое суток, не позволив продолжить эксперимент в этих концентрациях дальше.

В V-VII поколениях суммарная плодовитость оставшихся линий при концентрациях 0.02, 0,2 и 2,0 мг/л сблизилась с контролем и, судя по графику, несколько выровнялась, не образуя острых пиков кривых, как в первых четырех поколениях. Тем не менее, плодовитость самок V-VII поколений, экспонируемых в растворе с концентрацией 2,0 мг/л, достоверно отличалась от контрольных, также как и в VI-ом поколении при концентрации 0,2 мг/л, и не отличалась достоверно от контроля в других вариантах опыта.

Надо отметить, что дафнии, экспонируемые при концентрации 0,02 мг/л, ни в одном из семи поколений не отреагировали на воздействие глифосата.

Несмотря на относительно благоприятную картину кривых для V-VII поколений при концентрациях 0.02, 0,2 и 2,0 мг/л по сравнению с поколениями I-IV (рис. 2), говорить об адаптации рачков к глифосату и в этом случае нельзя. Нарождавшаяся молодежь опытных групп визуально отличалась от контрольных меньшей интенсивностью пигментации (эта бледная окраска сохранялась на протяжении всего эксперимента) и меньшими размерами (в данной работе размеры не рассматриваются). Поэтому в данном случае вряд ли можно назвать наблюдаемый нами процесс адаптацией даже на его начальном этапе, хотя и считается, что на начальном этапе адаптации к интенсивным внешним воздействиям реализуется срочный, но несовершенный набор защитно-компенсаторных реакций, которые позволяют поддерживать адекватную жизнедеятельность за счет усиленного использования функциональных резервов (Кривошеков, 2004).

Список литературы

- Кривошеков С.Г., Леутин В.П., Диверт В.Э., Диверт Г.М., Платонов Я.Г., Ковтун Л.Т., Комлягина Т.Г., Мозолевская Н.В. Системные механизмы адаптации и компенсации // Бюлл. Сибирского отд. РАМН. ГУ СО РАМН. 2004. № 2. С 128-153.
- Папченкова Г.А. Исследование деградации гербицида «Раундап» в острых опытах с *Daphnia magna* // Токсикологический вестник. 2006. № 4. С. 20-23.
- Папченкова Г.А. Исследование хронической токсичности гербицида «Раундап» в ряду поколений *Daphnia magna* // Токсикологический вестник. 2007. № 5. С. 14-17.
- Токсикологические методы контроля // Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. Государственный комитет РФ по охране окружающей среды. М., 1999. 35 с.
- Флеров Б.А. К вопросу о приспособлении гидробионтов к токсическому фактору // Гидробиологический журнал. 1971. Т. VII. № 6. С.61-67.
- Ayres Ed. Roundup-resistant weeds embarrass Monsanto // World Watch. 2003. Vol. 16. № 4. P. 8.
- Cox C. Glyphosate // Journal of Pesticide Reform. Winter. 2004. Vol. 24. No. 4. P. 11-15.
- Duke S.O. Glyphosate // In: Kearney P.C., Kaufman D.D. (eds) Herbicides: chemistry, degradation and mode of action. Marcel Dekker. New York. 1988. P. 1-58.
- Frans L.M. Pesticides Detected in Urban Streams in King County. Washington. 1998-2003 // U.S. Geological survey Scientific Investigations Report 2004-5194. 2004. <http://pubs.usgs.gov/sir/2004/5194/pdf/sir20045194.pdf>
- Jerry L. Michael. Bestmanagement practices for silvicultural chemicals and the science behind them // Water, Air, and Soil Pollution. 2004. № 4. P. 95-117.
- Merivani Y.N. Effect of tillage, glyphosate, and sethoxydim on quackgrass (*Agropyron repens*) in a corn (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*) rotation (bud bank, rhizome profile, adaptation components, growth increments) // Dissertation Abstracts International. 1986. Vol. 46. № 10. P.3273.
- Martin T.K., Tsui L.M., Chu. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors // Chemosphere. 2003. Vol. 52. P. 1189-1197.
- Reinert K.H., Rodgers J.H. Fate and persistence of aquatic herbicides // Rev Environmental Contamination and Toxicology. 1987. V. 98. P. 61-91.
- Sáenz M.E., Di Marzio W.D., Alberdi J.L., Tortorelli M., del Carmen. Effects of Technical Grade and a Commercial Formulation of Glyphosate on Algal Population Growth // Bull. Environmental Contamination and Toxicology. 1997. Vol. 59. P. 638-644.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЯСКИ МАЛОЙ (*LEMNA MINOR*) В ХОДЕ АДАПТАЦИИ К НЕФТЯНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ

Г.А.Петухова, А.В.Нилогова, Е.С.Петухова

Тюменский государственный университет
625003, Тюмень, Россия, gpetuhova@mail.ru

В настоящее время весьма актуальным является анализ возникновения устойчивости природных популяций микроорганизмов, растений и животных к специфическим и неспецифическим воздействиям, а также изучение механизмов, обуславливающих вырабатываемую устойчивость.

Адаптация к неблагоприятным условиям среды – важнейшее свойство организма. Воздействие токсического вещества вызывает ответную реакцию организма, активизируя его защитные системы. Величина воздействия в основном определяется концентрацией вещества и длительностью действия. Малое воздействие может полностью перекрываться компенсационным ответом организма, и эффект не выходит за статистическое значение нормы. При высоких концентрациях токсиканта воздействие превышает компенсационный потенциал организма. Кроме компенсации существует защитная адаптация – функциональные и структурные перестройки в организме, направленные на уменьшение вредного воздействия. Механизмы адаптации могут быть как универсальными, так и специфическими, но возрастание защитных реакций организма запаздывает во времени по отношению к токсическому действию [Филенко, 1988].

В ходе проведенных нами экспериментов на ряске малой (*Lemna minor*) изучали возможность адаптации к хроническому нефтяному загрязнению среды. Для экспериментов брали однолисточковые колонии ряски малой. Воду и грунт (чистый или загрязненный нефтью) добавляли в чашки Петри из расчета 4:1. Эксперимент длился 14 месяцев. Использовали следующие варианты эксперимента:

Контроль – сапрпель из оз. Тараскуль, используемый в бальнеологических лечебницах и являющийся химически незагрязненным.

О1 – хроническое действие нефти в возрастающей концентрации от 1 до 5% (каждые 10 дней растения переносили в чашки с грунтом с концентрацией нефти на 1% больше, чем предыдущая. Растения находились при хроническом действии нефти 5%, начиная с F₅ до F₄₂.

О2 – ряску, начиная с F₂₈ поместили на грунт с 6%-м содержанием нефти. Через каждые 10 дней новое поколение растений пересаживали в чашки с возрастающей концентрацией нефти от 6 до 10 %. Максимальная концентрация была достигнута в F₃₂.

О3 – растения в F₄₀ поместили на чистый грунт с добавлением 0,001% ПАБК и в течение двух поколений (F₄₁ и F₄₂) вели наблюдения за показателями жизнедеятельности.

В каждом варианте было произведено измерения длины щитка, длины корней, концентрации пигментов фотосинтеза.

В другой серии экспериментов оценивали изменение содержания пигментов фотосинтеза и концентрации флавоноидов в ряске после хронического действия 5% концентрации нефти, внесенной в грунт и изменение изучаемых показателей при комбинированном действии нефти (5%) и ПАБК (0,001%). Анализ биохимических показателей проводили по стандартным методикам [Шолодько, 1978; Третьяков и др., 2000].

Изучение возможности адаптации ряда поколений растений к хроническому действию нефти в возрастающих концентрациях проводили с помощью ряски малой (рис.1), позволяющей в течение 8 дней получать новое вегетативное поколение. Полученные в ходе эксперимента результаты свидетельствуют о том, что при хроническом действии нефти в концентрации 5% длина листеца в первых 28 поколениях увеличена по сравнению с контрольной. Начиная с 30 поколения, она не отличается от контроля. Длина корней в этом варианте эксперимента во всех поколениях была выше контрольного уровня, т.е. зарегистрирован стимулирующий эффект действия токсиканта.

Анализ физиологических показателей растений позволил установить, что суммарная концентрация пигментов фотосинтеза снижается при действии токсиканта, внесенного в грунт. Однако рост концентрации нефти в грунте от 1 до 5% приводит к постепенному увеличению концентрации пигментов: если в первом поколении показатели пигментной системы составляли лишь 0,24 от показателей контроля, то к пятому поколению (5% нефти в грунте) они увеличились до 0,35. Хроническое (в течение 37 поколений) содержание в условиях нефтезагрязнения (5%) приводит к дальнейшему росту физиологических показателей: от 0,35 до 0,65, но не выводит показатели суммарной концентрации пигментов фотосинтеза на уровень контроля. Следует отметить, что в ходе адаптации растений к хроническому действию нефти возрастает концентрация как хлорофиллов, так

и концентрация каротиноидов, принимающих участие не только в фотосинтезе, но и участвующих в антиоксидантной защите клеток. Физиологические показатели растений стремятся к стабилизации на уровне контроля, но даже к 42 поколению, увеличившись почти в 2 раза, концентрация пигментов фотосинтеза остается ниже контрольного уровня.

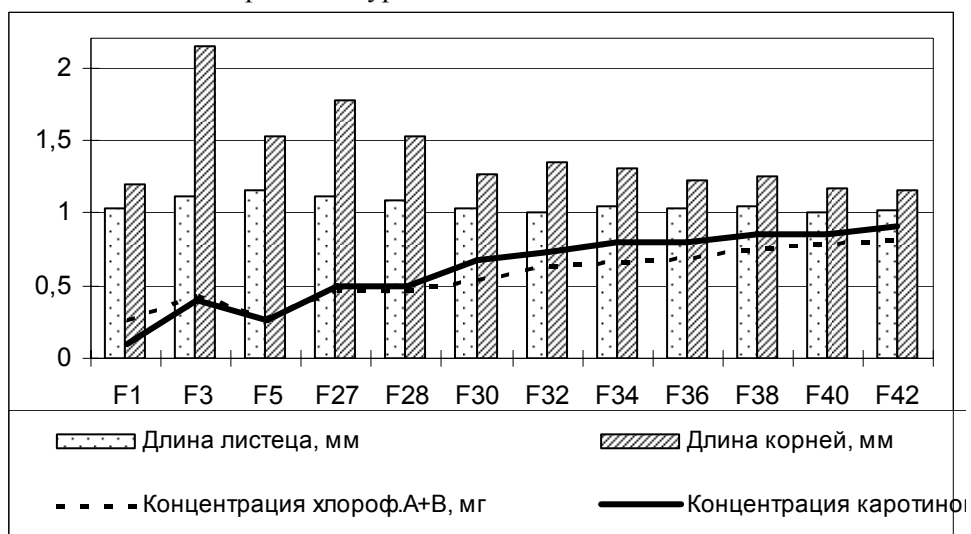
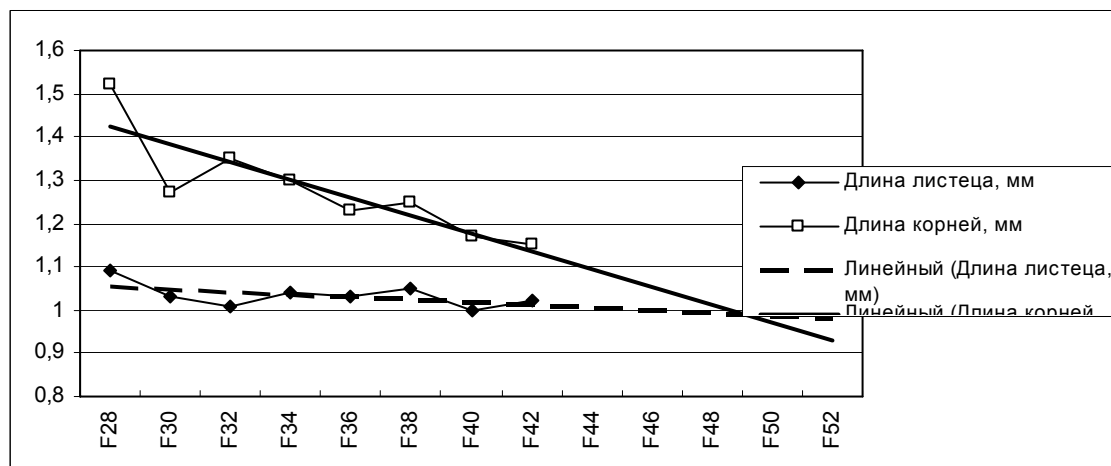
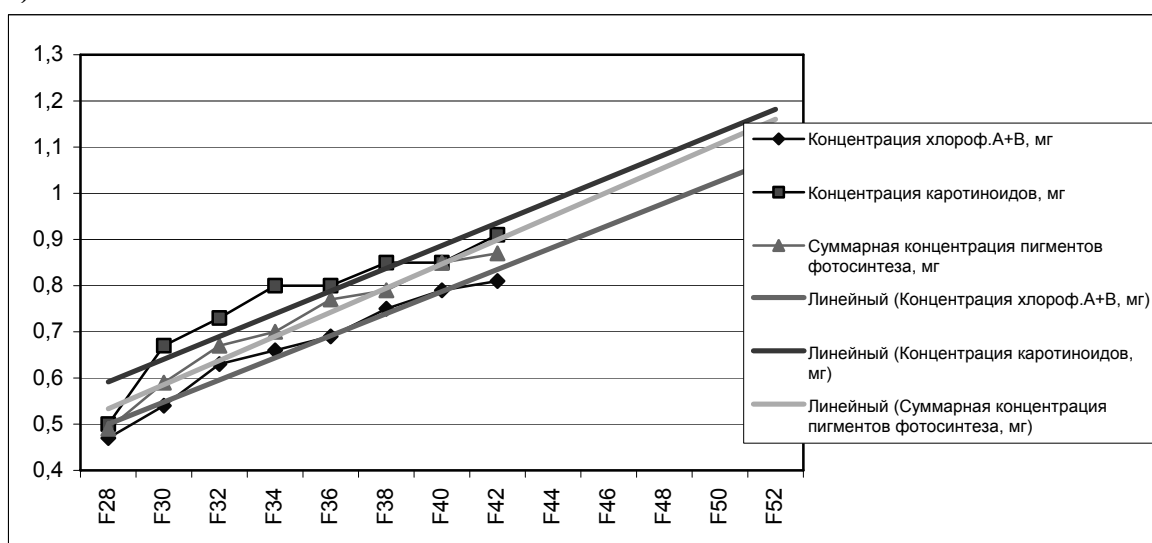


Рис. 1. Морфофизиологические показатели ряски ряда поколений при хроническом развитии в условиях нефтяного загрязнения грунта в концентрации 5%



а)



б)

Рис. 2. Линейная аппроксимация длины листецов и длины корней (а) и показателей фотосинтетической системы (б) у ряски при хроническом действии грунта, загрязненного нефтью

Таким образом, в ходе адаптации к хроническому действию нефти в концентрации 5% у ряски происходит стимуляция ростовых процессов, особенно в корнях и регистрируется постепенная стабилизация работы фотосинтетического аппарата клеток. Линейная аппроксимация полученных показателей выявила, что они вышли бы на уровень контроля к 44-50 поколениям (рис.2). Наиболее высокий темп выхода на плато у каротиноидов (к 44 поколению), а наиболее медленный – у длины листочков (к 50 поколению).

Проведенный анализ хронического действия нефтяного загрязнения грунта показал, что у ряски имеются морфофизиологические возможности приспособления к действию данного токсиканта. Если бы продолжительность эксперимента была увеличена, то в ближайшие 2-4 поколения большинство показателей ряски достигли бы контрольного уровня.

В другом варианте эксперимента продолжали наращивание концентрации нефти в грунте начиная с 5% в 27 поколении до 10% в 32 поколении и дальнейшее содержание (в течение 10 поколений – до 42 поколения) в условиях высокой концентрации нефти в грунте (рис.4). В ходе продолжающегося нарастания нефтяного загрязнения среды у растений увеличиваются размеры листочков и корней, а концентрация пигментов фотосинтеза была значимо снижена не только по сравнению с контрольным уровнем, но и с вариантом с хроническим действием 5% нефти. Начиная с 32 поколения, отмечено некоторое увеличение концентрации пигментов фотосинтеза в клетках, но показатели остаются значительно ниже, чем в варианте с 5% концентрацией нефти в грунте (рис.3).

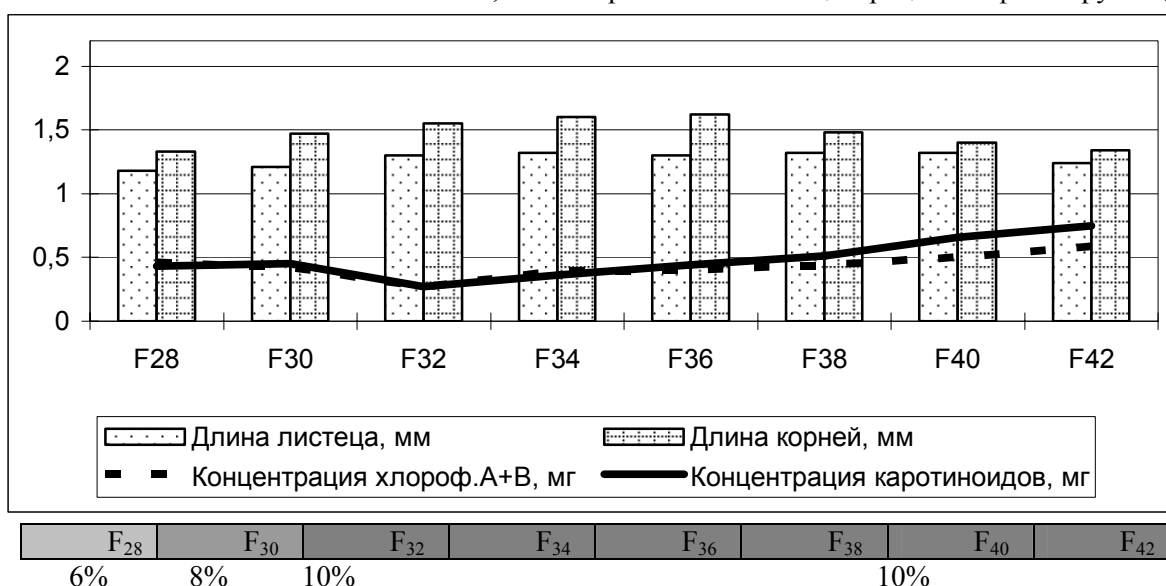


Рис. 3. Морфофизиологические показатели ряски при нарастании нефтяного загрязнения грунта, начиная с 5 до 10% (с 28 по 42 поколения)

Таким образом, морфологические структуры растений в ходе адаптации к нефтяному загрязнению среды отвечают увеличением ростовых процессов, а, следовательно, – увеличением размеров на постепенное нарастание нефтяного загрязнения грунта. Настройка фотосинтетической системы идет как за счет увеличения концентрации хлорофиллов, так и за счет роста концентрации каротиноидов, выполняющих не только фотосинтезирующие функции, но и защищающих клетку от действия повреждающих веществ. Следует отметить, что рост концентрации хлорофиллов идет быстрее, чем увеличение концентрации каротиноидов в клетках.

Таким образом, постепенное нарастание нефти в среде от 1 до 10% приводит к настройке функциональных механизмов адаптации клетки, проявляющихся в увеличении размеров морфологических структур, стимуляции ростовых процессов, увеличению концентрации пигментов фотосинтеза в клетках. ПАБК стабилизирует показатели фотосинтетической системы, что способствует более быстрому протеканию адаптивных процессов.

Хроническое действие нефти в концентрации 5 и 10% приводит к увеличению концентрации пигментов фотосинтеза, что отражает протекание адаптивных процессов в клетках растений. Физиологические процессы, обеспечивая функционирование клеток, протекают с большими скоростями по сравнению с ходом морфологических преобразований, способствуют защите клеток от действия токсиканта и настройке адаптивных процессов в клетках при хроническом действии нефтяного загрязнения.

При использовании нарастающих концентраций нефти в среде у растений отмечена стимулирующая ростовые процессы ответная реакция. Нарастание нефти в среде в 2 раза приводит к

увеличению на 20-30% длины листочков и на 35-55% - длины корней. Ответная реакция корней более выражена, чем у листочков. Система фотосинтеза реагирует на нарастание нефтяного загрязнения снижением концентрации хлорофиллов и каротиноидов. Хроническое содержание в грунте с концентрацией 10% в течение 10 поколений (с F₃₂ по F₄₂) приводит к некоторой стабилизации морфофизиологических показателей – морфометрические показатели постепенно снижаются, а физиологические – увеличиваются, стремясь к контролю. Однако, по всей видимости, 10 поколений адаптации к этой концентрации нефти в грунте оказывается недостаточным, так как к концу эксперимента показатели еще далеки от контрольного уровня.

Большую роль в адаптации организмов играет настройка биохимических механизмов и активизация защитных систем в клетках. К числу таких протекторных систем относится система пигментов фотосинтеза и флавоноидная система клеток. К числу веществ, активирующих защитные системы клеток, относится такой репарарген, как ПАБК.

Содержание хлорофилла А в рыске малой (табл.1) увеличивается по сравнению с контролем в опыте с добавлением ПАБК и в опыте с совместным действием нефти и ПАБК. В опыте с использованием нефти этот показатель снижается по сравнению с контролем. В опыте с комбинированным действием нефти и ПАБК концентрация хлорофилла А увеличивается по сравнению с другими опытными вариантами. Концентрация хлорофилла В в рыске малой увеличивается в опыте с добавлением ПАБК и снижается в опыте с добавлением нефти. При комбинированном действии нефти и ПАБК этот показатель увеличивается по сравнению с опытом при использовании нефти. Содержание каротиноидов в рыске малой увеличивается в опыте с использованием ПАБК и в опыте с комбинированным действием нефти и ПАБК по сравнению с контролем. При использовании нефти этот показатель снижается. Концентрация каротиноидов в опыте с совместным действием нефти и ПАБК увеличивается по сравнению с опытом с использованием ПАБК и опытом с использованием нефти. Повышение концентрации хлорофилла А, В, каротиноидов и суммы пигментов фотосинтеза в рыске малой в опыте с использованием ПАБК свидетельствует о стимулирующем действии парааминобензойной кислоты. Нефть оказывает угнетающее влияние на рыску малую, что подтверждается снижением концентрации пигментов фотосинтеза. При комбинированном действии нефти и ПАБК содержание пигментов фотосинтеза в рыске малой увеличивается, что свидетельствует о защитном влиянии ПАБК при действии нефтяного загрязнения.

Содержание флавоноидов в рыске малой (табл.1) снижается во всех опытных вариантах по сравнению с контролем. В опыте с комбинированным действием нефти и ПАБК этот показатель увеличивается по сравнению с опытом при действии ПАБК.

Таблица 1. Содержание пигментов фотосинтеза и флавоноидов (мг/ 100 г) в рыске малой при действии нефти и ПАБК

Вариант опыта	Хлорофилл А	Хлорофилл В	Каротиноиды	Флавоноиды
Контроль*	13,44±0,31	9,80±0,35	18,78±0,43	0,048±0,004
Опыт 1 (ПАБК)Δ	17,19±0,28*	10,90±0,42*	22,57±0,40*	0,012±0,003*
Опыт 2 (нефть)◇	11,22±0,62*	5,46±0,28*	14,51±0,57*	0,023±0,001*
Опыт 3 (нефть+ПАБК)	20,28±0,42* ^{Δ◇}	9,97±0,28 [◇]	24,32±0,43* ^{Δ◇}	0,027±0,004* ^Δ

Снижение содержания флавоноидов в рыске малой во всех опытных вариантах говорит об угнетенном состоянии растения. Однако, при комбинированном действии нефти и ПАБК содержание флавоноидов выше, чем при раздельном использовании этих двух агентов. Это также доказывает гипотезу о защитном влиянии парааминобензойной кислоты при действии нефтяного загрязнения.

Содержание и развитие растений в условиях нефтяного загрязнения грунта приводит к нарушению их морфофизиологической стабильности. У растений при хроническом действии нефти в ряду поколений проявляются компенсаторные реакции, направленные на снижение повреждающего действия. На фоне такого рода реакций развиваются адаптивные ответы, проявляющиеся в стабилизации показателей жизнедеятельности. Развитие адаптивных реакций ускоряется при постепенном хроническом нарастании концентрации загрязнителя в среде. В ходе адаптации идет отбор устойчивых генотипов и настройка физиологических механизмов на повышение жизнеспособности, улучшение процессов репарации и детоксикации. Использование ПАБК на фоне нефтяного загрязнения среды приводит к активизации работы защитных систем клетки. Способность ПАБК стимулировать работу протекторных систем растений позволяет использовать этот репарарген (наряду с поиском других биологически активных веществ) для защиты растений в условиях нефтяного загрязнения.

Список литературы:

- Третьяков Н.Н., Кошкин Е.И., Новиков Н.Н. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Колос, 2000. – 640 с.
- Филенко О.Ф. Водная токсикология. - Черноголовка 1988. - 155с.
- Шолодько Т.П., Мережко А.И., Малиновская М.В. Изменение активности фотосинтезирующего аппарата водных растений под влиянием ДДТ. // Гидробиолог. журнал, 1978, т. 14, №5. - С. 86-90.

КОМПЛЕКС ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕАЗ ЖИВОРОДКИ РЕЧНОЙ И ЕГО РЕАКЦИЯ НА ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ *IN VIVO*

А.П. Попов, И.Л. Цветков, А.С. Коничев

Московский государственный областной университет
107005, Москва, ул. Радио, д. 10а; Россия, alexpopoff@rambler.ru

Проблема адаптации, являясь одной из центральных в биологии, охватывает широкий круг вопросов приспособления живых систем к изменяющимся условиям среды. Важнейшим направлением в исследовании адаптаций является изучение реакций живых организмов на токсическое воздействие, что особенно актуально в связи с постоянно усиливающимся антропогенным прессингом на окружающую среду. Известно, что адаптация организма к любому травмирующему воздействию происходит, прежде всего, на уровне метаболизма, поэтому исследования в области биохимии токсического стресса у водных животных представляют интерес как в контексте биохимической диагностики их экзогенной интоксикации, так и для выявления адаптационных возможностей отдельных видов и водных экосистем в целом.

Данных о нуклеолитических ферментах гидробионтов в научной литературе немного, и практически не изученными в этом аспекте остаются водные беспозвоночные. Буквально единичные работы посвящены изучению функциональных свойств нуклеаз у водных животных в условиях токсического воздействия. Между тем, ферменты расщепления нуклеиновых кислот, участвующие в обмене ДНК и РНК – важнейших информационных макромолекул клетки, могут играть существенную роль в развитии стресс-реакции, индуцированной интоксикацией. Содержанием настоящей работы явилось изучение изменений в активности и электрофоретических спектрах дезоксирибонуклеаз (ДНКаз) у пресноводного моллюска живородка речная (*Viviparus viviparus* L.) при действии различных токсикантов.

Моллюсков собирали в природном водоеме (р. Вязь Московской области) и в течение месяца акклиматизировали в лабораторных условиях, после чего использовали в острых токсикологических экспериментах. Животных на определенное время помещали в воду, содержащую заданную концентрацию токсиканта (контролем служили моллюски, помещаемые в чистую воду при прочих равных условиях содержания), по истечении времени экспозиции препарировали у них пищеварительную железу (гепатопанкреас) и получали экстракт ее водорастворимых белков. Суммарную активность ДНКаз определяли спектрофотометрически по увеличению поглощения кислоторастворимых продуктов деградации ДНК и выражали в удельных единицах по отношению к содержанию белка (по Лоури). Аналитическое фракционирование ДНКаз проводили методом диск-электрофореза в 7,2%-ном полиакриламидном геле с последующим окрашиванием гелей метиленовым синим. Полностью методики экстракции и определения активности ДНКаз, а также условия токсикологических экспериментов приведены нами в более ранней работе (Попов и др., 2003).

Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют, что воздействие *in vivo* сульфата меди (II) и бензина в трех, отличающихся друг от друга на порядок, концентрациях (0.1, 0.01, 0.001 и 0.5, 0.05, 0.005 мг/л соответственно) вызывает в гепатопанкреасе живородки речной выраженные изменения активности ДНКазы (рис. 1, 2). Уже на ранних стадиях опыта, через 3-6 ч экспозиции, наблюдаются статистически достоверные отклонения активности ДНКазы от контроля во всех опытных вариантах. В дальнейшем нуклеазная активность у подопытных моллюсков претерпевает ряд колебаний, которые носят волнообразный характер, при этом обращает на себя внимание однотипность изменений, происходящих в динамике воздействия разных концентраций токсикантов органической и неорганической природы (рис. 1, 2).

В литературе есть сведения о том, что результирующая токсического эффекта, наблюдаемого в динамике во времени, имеет форму синусоиды (т.е. ряда последовательных фаз временного угнетения и стимуляции активности исследуемой функции), что объясняют особенностями развития процессов

адаптации в организме (Голиков, Голиков, 1987; Филенко, 1988). При этом опубликованные данные касаются главным образом физиологических реакций гидробионтов, такие же биохимические показатели, как активность гидролаз, в этом аспекте практически не исследовались. Мы полагаем, что выявленные нами изменения активности ДНКазы являются одним из проявлений адаптационно-компенсаторных «сдвигов» метаболизма, которые происходят в организме моллюсков в ответ на интоксикацию.

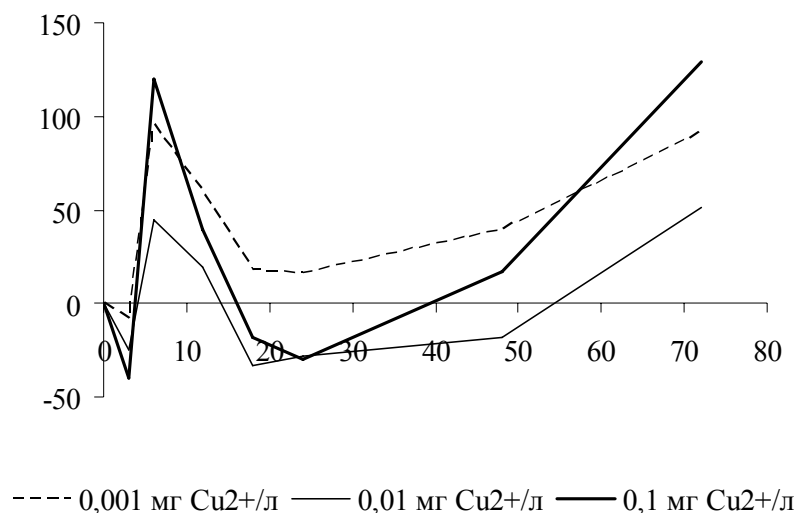


Рис. 1. Изменение активности ДНКазы гепатопанкреаса живородки речной в динамике воздействия различных концентраций сульфата меди (II). Условные обозначения: ось абсцисс – экспозиция опыта (часы), ось ординат – отклонения от контроля (%).

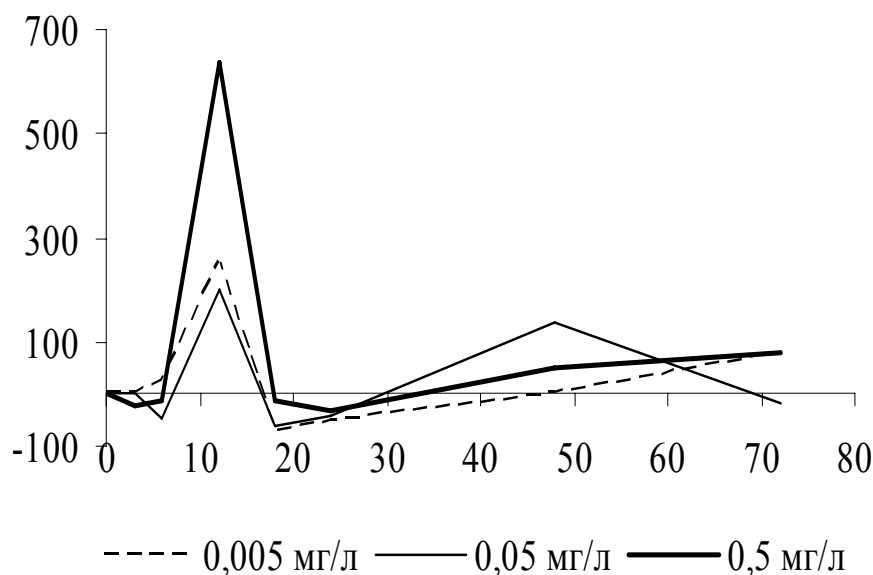


Рис. 2. Изменение активности ДНКазы гепатопанкреаса живородки речной в динамике воздействия различных концентраций бензина. Условные обозначения: ось абсцисс – экспозиция опыта (часы), ось ординат – отклонения от контроля (%).

Характерно, что наблюдаемые нами однотипные изменения общей нуклеазной активности у живородок складываются из разнонаправленных изменений активности отдельных ДНКаз гепатопанкреаса. Так, в норме (у контрольных моллюсков) на электрофореграммах ДНКаз выявляются 4 зоны активности с R_f 0.76, 0.71, 0.33, 0.29, 0.08. Присутствие в воде загрязняющих веществ на начальных этапах опыта не сказывается на гетерогенности ДНКаз, но, начиная с 18 ч

экспозиции, электрофоретический спектр экспериментальных животных значительно обогащается за счет индукции активности ряда ДНКаз, обладающих средней и высокой анодной подвижностью (рис. 3). Одновременно к этому периоду во всех опытных вариантах происходит резкое снижение общей ДНКазной активности (рис. 1, 2) и, следовательно, существенное угнетение активных в норме ДНКаз. При продолжающемся токсическом воздействии состав ДНКазного комплекса претерпевает дальнейшие изменения, которые характеризуются последовательной активацией/инактивацией отдельных «индуцибельных» ДНКаз в гепатопанкреасе моллюсков (рис. 3). Эти изменения отличаются в случае использования разных токсикантов, что также было показано нами ранее при изучении эффекта действия таких веществ, как фенол, галогенпроизводные бензола, синтетические моющие средства, соли кадмия, цинка и железа (Коничев и др., 2005; Попов и др., 2003).

Таким образом, по сравнению с общей нуклеазной активностью, изменения состава ДНКаз у живородки речной носят более специфический характер, так как для действия различных токсикантов характерна собственная динамика активации «индуцибельных» ДНКаз. Формирующийся при этом спектр активных ДНКаз зависит, видимо, от особенностей биотоксического эффекта загрязнителя, его концентрации и длительности травмирующего воздействия.

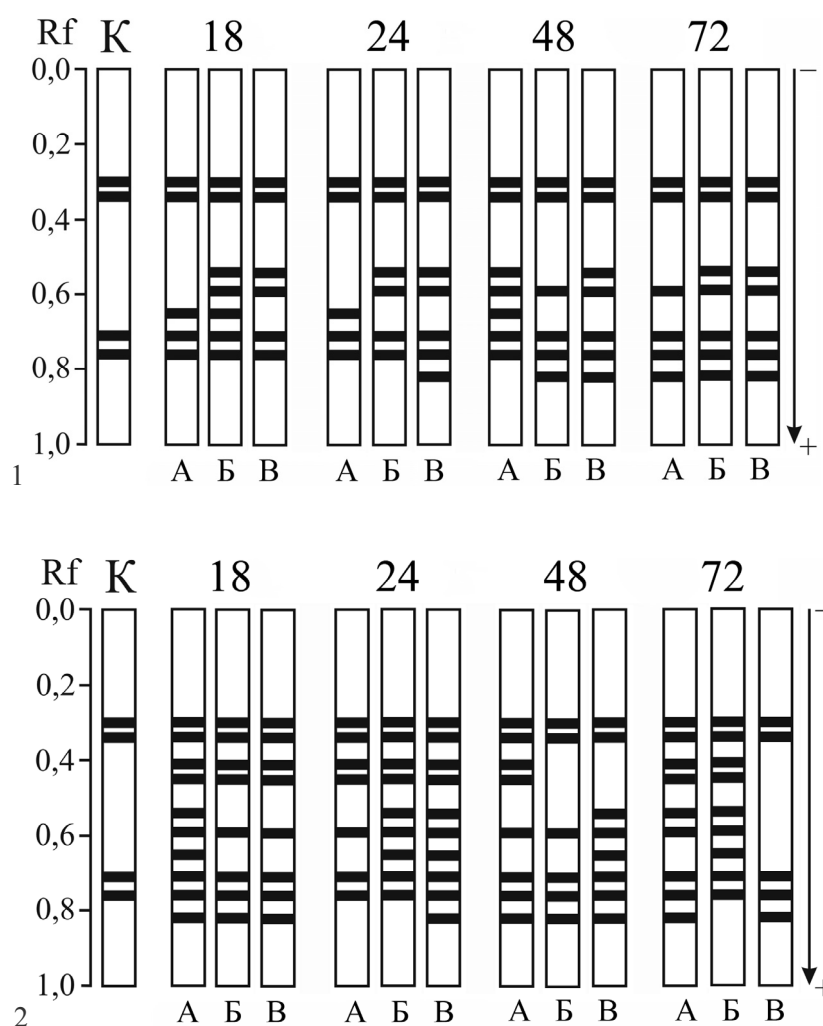


Рис. 3. Схемы энзимограмм ДНКаз гепатопанкреаса живородки речной. 1 – воздействие катионов Cu^{2+} : А – 0.001 мг/л, Б – 0.01 мг/л, В – 0.1 мг/л. 2 – воздействие бензина: А – 0.005 мг/л, Б – 0.05 мг/л, В – 0.5 мг/л. К – контрольные моллюски. 18, 24, 48, 72 – экспозиция опыта, ч.

Субклеточное фракционирование, проведенное нами с помощью дифференциального центрифугирования, показало, что все «индуцибельные» ДНКазы имеют лизосомальное происхождение. При этом ДНКазы 1, 5, 6, 8 и 9 (названные нами так в порядке убывания их электрофоретической подвижности) также хорошо определяются у контрольных моллюсков во фракциях органелл, хотя не обнаруживаются на энзимограммах ДНКаз, экстрагированных из общего гомогената гепатопанкреаса (рис. 4). Очевидно, в норме активность указанных ферментов слишком низка для аналитического электрофореза и может быть выявлена только после частичной очистки и

концентрирования. Интоксикация же приводит к гораздо более выраженной активации указанных компонентов ДНКазного комплекса, что подтверждается при анализе набора ДНКаз, выделенных из тканей моллюсков после воздействия фенола (рис. 4). На энзимограммах ДНКаз из тотального экстракта белков гепатопанкреаса определяются дополнительно по сравнению с контролем три зоны активности (R_f 0,82, 0,65 и 0,54 – ДНКазы 1, 4, 6), кроме того, у подопытных моллюсков число ДНКаз в каждой из субклеточных фракций выше, чем у контрольных. Так, в опыте в постлизосомальной фракции обнаруживается ДНКаз 1, которая в контроле представлена только во фракции клеточных обломков (рис. 4), что может свидетельствовать о выходе данного фермента из субклеточных структур в клеточный матрикс в стрессовой ситуации, связанной с интоксикацией организма. В лизосомах экспериментальных живородок проявляют активность четыре ДНКазы, не выявляемые в этой фракции в норме (рис. 5), две из которых (ДНКазы 4 и 7) не присутствуют ни в одной из субклеточных фракций у контрольных моллюсков, то есть экспрессируются в результате интоксикации *de novo*. Особый интерес представляет первая тяжелая субклеточная фракция, условно названная нами фракцией «клеточных обломков», которая, несомненно, весьма разнородна по составу и может включать любые структуры размером больше клеточного ядра, например, вторичные лизосомы (гетеро- и аутофагосомы), фрагменты клеток, целые клетки и группы клеток. Эта фракция представлена в опыте максимальным числом ДНКаз – 11 (в контроле – 9), кроме того, именно в ней выявляется наиболее высокий уровень ДНКазной активности в ситуации токсического воздействия (в норме – в постлизосомальной фракции) (Попов и др., 2008), что, по нашему мнению, может быть связано с нарастанием деструктивных процессов в клетках и образованием крупных аутофагосом и вторичных лизосом. Таким образом, индукцию активности «индуцибельных» ДНКаз можно связать с общей активацией лизосомального аппарата клеток, которая, как известно, является одним из системных признаков стресса (Высоцкая, Сидоров, 1981; Панин, Маянская, 1987; Покровский, Тутельян, 1976).

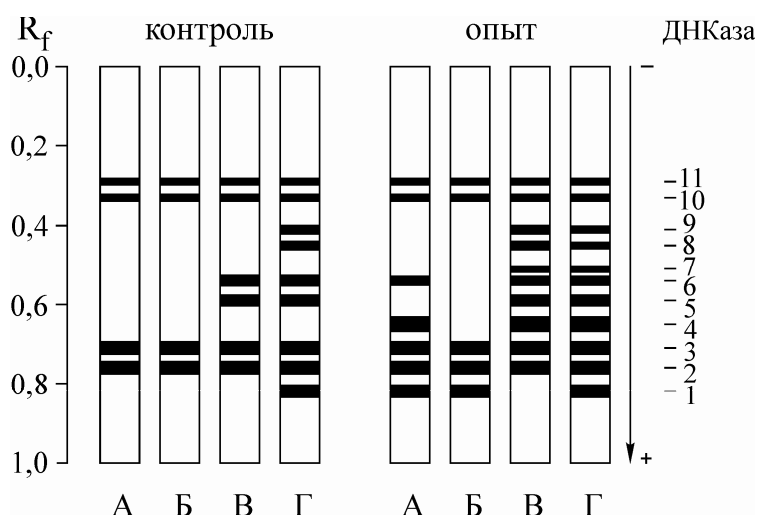


Рис. 4. Схемы энзимограмм ДНКаз из различных субклеточных фракций гепатопанкреаса живородки речной в норме и при модельной интоксикации *in vivo*: контроль – контрольные моллюски, опыт – моллюски, подвергнутые воздействию фенола (0,02 мг/л, 48 ч); А – общий гомогенат, Б – постлизосомальная фракция, В – лизосомальная фракция, Г – фракция клеточных обломков; 1-11 – ДНКазы.

Высокая чувствительность ДНКаз живородки речной к загрязнению воды и адаптивный характер изменений их активности под действием токсикантов обуславливают возможность использования показателей общей активности и спектров ДНКаз в качестве маркера интоксикации моллюсков и, соответственно, биохимической тест-функции для оценки качества вод (Цветков и др., 2007).

Список литературы

- Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. Участие лизосомального аппарата в ответной реакции организма на воздействие антропогенных факторов внешней среды // Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск: Карел. филиал АН СССР, 1981. С. 5-18.
- Голиков А.Н., Голиков Н.В. Угнетение и стимуляция как фазы процесса адаптации // Вопросы теории адаптации. Труды Зоологического ин-та АН СССР. Л., 1987. Т. 160. С. 133-154.

- Коницев А.С., Попов А.П., Цветков И.Л. Влияние катионов металлов на активность и множественные формы ДНКазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) // Труды Центра фундаментальных научных исследований МГОУ. М.: Изд-во МГОУ, 2005. № 1. С. 75-78.
- Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. Новосибирск: Наука, 1987. 198 с.
- Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 382 с.
- Попов А.П., Коницев А.С., Цветков И.Л. Влияние токсичных соединений техногенного происхождения на активность и множественные формы кислой ДНКазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) // Прикладная биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 5. С. 518-523.
- Попов А.П., Цветков И.Л., Коницев А.С. Разделение и характеристика дезоксирибонуклеаз гепатопанкреаса живородки речной в норме и при модельной интоксикации *in vivo* // Биохимия. 2008. Т. 73. Вып. 8. С. 1161-1167.
- Филенко О.Ф. Водная токсикология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 154 с.
- Цветков И.Л., Попов А.П., Коницев А.С. Способ определения токсического загрязнения сточных и природных пресных вод / Патент РФ № 2308719 // Оpubл. 20.10.2007, Бюл. № 29.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И ЭСТЕРАЗ СЕСТОНА В МОДЕЛЬНЫХ И ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Л.М. Предеина, Ю.А. Федоров, М.Н. Предеин

Гидрохимический институт

344091 г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 198, Россия, predeina@front.ru

Соединения тяжелых металлов в поверхностных водах суши относятся к наиболее распространенным загрязняющим веществам, концентрации которых зачастую превышают ПДК, что требует изучения их влияния на разные стороны функционирования гидробиоценозов, в том числе на ферментативные процессы трансформации органических веществ.

Среди большого числа ферментативных превращений важнейшее значение для обеспечения жизнедеятельности гидробионтов играют процессы, влияющие на скорость круговорота биогенных веществ. К числу ключевых ферментов, участвующих в круговороте фосфора и углерода, относятся щелочная фосфатаза (КФ 3.1.3.1) и неспецифичные эстеразы (КФ 3.1.2.1 и 3.1.2.2). Щелочная фосфатаза гидролизует фосфомоноэфиры с образованием ортофосфата, который поглощается планктонными водорослями и микроорганизмами. Эстеразы гидролизуют сложноэфирные связи у многих органических веществ как биогенного, так и антропогенного происхождения, включая пектины, жиры, воски, алкалоиды, пестициды, фталаты и др. При этом образуются низкомолекулярные органические соединения, которые утилизируются планктонными организмами, включаясь в круговорот углерода.

Тяжелые металлы при низких концентрациях могут вызывать активацию некоторых ферментов, при высоких – их ингибирование (Берстон, 1964). С экологических позиций повышение активности ферментов планктонных сообществ рассматривается как один из механизмов, поддерживающих сбалансированность биогеохимического круговорота веществ при загрязнении воды (Абакумов, Семин, 1986), и до определенного предела играет позитивную роль. Снижение активности ферментов при загрязнении, напротив, может вызвать нарушение сбалансированности биогеохимических процессов, изменение структуры гидробиоценозов и, в конечном итоге, деградацию экосистемы.

В этой связи были проведены исследования по влиянию приоритетных для поверхностных вод тяжелых металлов на активность щелочной фосфатазы и эстераз сестона в нижнем течении р. Дон и в модельных экосистемах. Натурные наблюдения проводились в 2002 и 2003 гг. в нижнем течении р. Дон. Пробы воды отбирали совместно с Донской устьевой станцией Росгидромета при проведении плановых работ по мониторингу данного участка реки. Активность щелочной фосфатазы (АЩФ) и эстераз (АЭ) определяли во взвеси сестона, который получали фильтрованием проб воды через мембранный фильтр с диаметром пор 0,3 мкм, используя в качестве субстратов соответственно α -нафтилфосфат и α -нафтилацетат (Предеина и др., 2003). Определяли общую активность ферментов и удельную, рассчитанную на 1 мг взвешенного фосфора (АЩФ/мг $P_{взв}$ и АЭ/мг $P_{взв}$). Ртуть анализировали в фильтрованной и нефилтрованной воде, соответственно определяя растворенные формы металла (Hg_p) и его валовое содержание ($Hg_{вал}$). Данные о концентрациях меди и цинка были

предоставлены Донской устьевой станцией и определялись в фильтрованной воде в соответствии с нормативными документами Росгидромета.

Активность ферментов подвержена значительной сезонной изменчивостью. В этой связи сопоставление активности ферментов с концентрациями меди, цинка и ртути проводили в период биологического лета. Воздействие металлов на ферментативную активность, как известно, зависит от многих факторов, включая концентрации биогенных элементов, жесткость, температуру воды и др. Поэтому корреляционный анализ был проведен для массивов данных, полученных в течение каждого года в отдельности. Это позволило при анализе влияния тяжелых металлов на активность щелочной фосфатазы и эстераз в р. Дон уменьшить влияние других факторов. Диапазоны варьирования активности ферментов сестона и концентраций тяжелых металлов представлены в таблице 1.

При сопоставлении концентраций тяжелых металлов и ферментативной активности между ними выявлены достаточно высокие коэффициенты корреляции. Наиболее устойчивая корреляция для обоих ферментов наблюдалась с концентрациями меди и цинка, в особенности для удельной активности ферментов (табл. 2). В 2002 году выявлена положительная корреляция активности обоих ферментов с концентрациями меди и цинка и отрицательная – с концентрацией ртути. В 2003 году для общей активности щелочной фосфатазы положительная корреляция установлена с медью, цинком, валовой ртутью, для эстераз положительная корреляция выявлена с растворенной ртутью, отрицательная – с цинком, с медью корреляция отсутствовала.

Таблица 1. Диапазоны варьирования активности ферментов сестона и концентраций тяжелых металлов в нижнем течении р. Дон в период биологического лета 2002 и 2003 гг.

Измеряемые показатели	2002 г.	2003 г.
АЩФ, мкмоль/(л·ч) α-нафтола	0.18-2.26	0.26-0.95
АЭ, мкмоль/(л·ч) α-нафтола	1.52-5.41	2.44-4.83
Cu, мкг/л	3-9	1-12
Zn, мкг/л	4-10	1-18
Hg _{р.} , мкг/л	0.10-1.36	0.05-3.20
Hg _{вал.} , мкг/л	0.15-5.25	0.15-13.70

Таблица 2. Статистически значимые коэффициенты корреляции между активностью ферментов и концентрациями тяжелых металлов в нижнем течении р. Дон

Число определений	Показатели активности ферментов	Cu	Zn	Hg _{р.}	Hg _{вал.}
2002 год					
30	АЩФ	0.52	0.42	-0.38	-
	АЩФ/мг Р _{взв}	0.66	0.57	-0.35	-
30	АЭ	0.39	0.37	-0.66	-0.46
	АЭ/мг Р _{взв}	0.64	0.50	-0.56	-0.43
2003 год					
20	АЩФ	0.60	0.39	-	0.38
	АЩФ/мг Р _{взв}	0.66	0.51	-	0.42
20	АЭ	-	-0.57	0.48	-
	АЭ/мг Р _{взв}	-	-	0.52	-

Эффекты активирующего и ингибирующего влияния соединений меди, цинка и ртути на активность щелочной фосфатазы и эстераз в зависимости от концентраций металлов и времени экспонирования выявлены также в модельных экспериментах, которые проводились в мезокосмах и в аквариумах. Мезокосмы устанавливались в реке Мертвый Донец, которая является рукавом р. Дон. Для экспериментов в аквариумах использовали природную воду, отобранную на относительно незагрязненном участке р. Дон.

В этих экспериментах установлено, что ингибирующий эффект на активность ферментов оказывают лишь высокие, превышающие ПДК в десятки раз, концентрации металлов при кратковременном экспонировании, в течение нескольких часов (табл. 3 и 4). Длительное экспонирование, 1 сутки и более, вызывает, как правило, активацию ферментов. При этом с увеличением концентрации металла активирующий эффект возрастает, достигая в некоторых случаях

100 и более процентов. Более чувствительным ферментом к воздействию тяжелых металлов является щелочная фосфатаза.

Таблица 3. Активность щелочной фосфатазы (% к контролю) при моделировании влияния тяжёлых металлов в аквариумах (I-III) и мезокосмах (IV-V)

Металл	Вещество	Исходная кон-центрация металла, мг/л	Время экспонирования						
			1 ч	3 ч	4 ч	1 сут	2 сут	3 сут	8 сут
I. Zn	ZnSO ₄	0.01	-	-	100	141	339	201	
		0.10	-	-	100	147	114	267	
II. Fe	Fe ₂ (SO ₄) ₃	1.0	-	-	170	141	63	106	
		5.0	-	-	185	238	195	1334	
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	0.50	-	100	-	129	100	122	
		1.0	-	120	-	147	100	117	
		2.0	-	128	-	149	100	136	
		5.0	-	160	-	173	179	494	
	Hg	HgCl ₂	0.00025	84	98	-	58	83	76
			0.001	91	95	-	74	93	76
			0.005	84	83	-	76	99	80
			0.015	84	67	-	66	169	167
		Hg(NO ₃) ₂	0.001	85	75	-	73	100	80
			0.005	92	71	-	72	91	112
			0.010	-	-	-	55	104	119
			0.015	-	-	-	50	153	177
			0.020	-	-	-	43	146	172
			0.025	98	62	-	300	223	164
IV. Hg	HgSO ₄	0.008	-	100	-	32	-	100	257
V. Cu	CuSO ₄	0.017	-	69	-	108	-	95	237
		0.060	-	27	-	95	-	335	604

Таблица 4. Активность эстераз (% к контролю) при моделировании влияния тяжёлых металлов в аквариумах (I-III) и мезокосмах (IV-V)

Металл	Вещество	Исходная концентрация металла, мг/л	Время экспонирования						
			1 ч	3 ч	4 ч	1 сут	2 сут	3 сут	8 сут
I Zn	ZnSO ₄	0.01	-	-	80	66	88	85	-
		0.10	-	-	73	62	73	62	-
II Fe	Fe ₂ (SO ₄) ₃	1.0	-	-	114	87	59	51	-
		5.0	-	-	141	100	82	65	-
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	0.50	-	77	-	74	83	142	-
		1.0	-	65	-	54	63	113	-
		2.0	-	70	-	50	36	45	-
		5.0	-	70	-	51	38	38	-
	Hg	HgCl ₂	0.00025	100	100	-	167	118	88
			0.001	100	91	-	131	118	90
			0.005	83	81	-	100	100	88
			0.015	42	41	-	84	187	100
		Hg(NO ₃) ₂	0.001	86	100	-	92	100	100
			0.005	118	100	-	92	111	108
			0.010	-	-	-	89	135	128
			0.015	-	-	-	108	205	185
			0.020	-	-	-	116	212	187
			0.025	52	68	-	134	191	138
IV Hg	HgSO ₄	0.008	-	74	-	93	-	169	141
V Cu	CuSO ₄	0.017	-	83	-	86	-	50	122
		0.060	-	57	-	130	-	307	194

Однако эффекты каждого из металлов имеют и свои характерные особенности. Однократная добавка высокой концентрации ртути (8 мкг/л), как показано в мезокосменных экспериментах вызывает уменьшение активности обоих ферментов по сравнению с контролем через 1 сутки после внесения металла и в конце эксперимента даже при снижении концентрации ртути до фоновых значений, которые составляли 0,1-0,2 мкг/л (Предеина и др., 2006). Высокая концентрация меди (60 мкг/л) после кратковременного периода угнетения приводит, напротив, к устойчивому повышению активности эстераз, несмотря на снижение концентраций металла до фоновых. С этим эффектом может быть связано отсутствие корреляции между активностью эстераз и концентрацией меди в реке Дон в 2002 году и низкий коэффициент корреляции в 2003 году. Кроме того, возможно повышенный уровень общей активности эстераз в р. Дон, наблюдавшийся в эти периоды, также обусловлен постоянным загрязнением воды соединениями меди.

Повышенные концентрации цинка и железа в лабораторных экспериментах вызывали преимущественно повышение активности щелочной фосфатазы и уменьшение эстеразной активности сестона (Предеина и др., 2006), что в целом согласуется с результатами корреляционного анализа данных комплексных исследований, проведенных в нижнем течении р. Дон и водных объектах Ростовской области.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что загрязнение поверхностных вод суши тяжелыми металлами может оказывать существенное влияние на активность важнейших ферментов круговорота соединений фосфора и углерода – щелочную фосфатазу и эстеразы. Направленность и уровень изменений активности ферментов зависят от природы металла, его концентрации и времени воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 06-05-64504 и НШ – 4717.2006.5

Список литературы

- Берстон М. Гистохимия ферментов. – М.: Мир, 1964. – 464 с.
Абакумов В.А., Семин В.А. Гидробиологические аспекты комплексного мониторинга состояния природной среды // Комплексный глобальный мониторинг. Тр. 3-го Междунар.симпоз., Ленинград, 1986. – Л.: Гидрометеоздат, 1986. – С. 191-202.
Предеина Л.М., Бейсуг О.И., Предеин М.Н. Влияние повышенных концентраций цинка и железа на активность внеклеточных эстераз и щелочной фосфатазы в природных и модельных пресноводных экосистемах // Изв. ВУЗов. Сев.-Кав. регион. Естеств. науки. – 2006. – № 7. – С. 69-81.
Предеина Л.М., Федоров Ю.А., Бейсуг О.И., Предеин М.Н. Влияние ионов меди и ртути на показатели активности внеклеточных эстераз и щелочной фосфатазы в водных экосистемах // Биология внутренних вод. – 2006. – № 2. – С. 89-96.
Предеина Л.М., Федоров Ю.А., Морозова Е.В., Уразаев К.К., Предеин М.Н. Показатели активности щелочной фосфатазы и эстераз в мониторинге поверхностных вод – теоретические предпосылки и перспективы использования // Изв. ВУЗов. Сев.-Кав. регион. Естеств. науки. – 2003. – № 4. – С. 88–92.

УЧАСТИЕ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В МЕХАНИЗМАХ СТРЕСС- РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ОЗ. БАЙКАЛ

М.В. Протопопова², Ж.М. Шатилина^{1,2}, В.В. Павличенко², Д.С. Бедулина², М.А. Тимофеев^{1,2}

¹Байкальский исследовательский центр

664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия, brc.contact@gmail.com

²Иркутский государственный университет

664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россия

В результате возрастания хозяйственной деятельности человека стрессовая нагрузка на природные популяции постоянно увеличивается. Особенно остро данная проблема касается гидробионтов древних экосистем, фауна которых длительное время развивалась в специфичных и стабильных условиях среды. В настоящее время все большую актуальность приобретают исследования механизмов стрессовой адаптации у водных организмов. Одним из универсальных биохимических защитных механизмов является синтез белков теплового шока (БТШ). Основной функцией БТШ является предохранение белков от денатурации, которая увеличивается в процессе стрессового воздействия, а также восстановления нативной структуры и функциональной активности поврежденных белков (Sanders, 1993; Feder et al., 1999). В результате длительной изолированной эволюции в уникальных стабильных условиях в оз. Байкал сформировалось большое число эндемичных

организмов, которые могут обладать особенностями функционирования их резистентных механизмов. Таким образом, целью данной работы являлось изучение особенностей участия БТШ в системе стресс резистентности у байкальских эндемичных организмов на примере амфипод.

В качестве объекта исследования были выбраны эндемичные виды амфипод (Crustacea, Amphipoda), обитающие в литорали: *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.) и *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), и глубоководный вид *Ommatogammarus flavus* (Dyb.).

В работе оценивали воздействие температурного (25°C) и токсического факторов (CdCl₂) на содержание БТШ двух семейств: низкомолекулярных БТШ (нмБТШ) и БТШ70.

Определение характера синтеза нмБТШ проводили, используя стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12 % полиакриламидном геле (Laemmli, 1970) с последующим Вестерн-блоттингом (Bers, Garfin, 1985) с антителами к αA/αB-кристаллинам (rabbit anti-αA/αB-crystallin polyclonal antibody, Stressgen Bioreagents). Количество белка в пробах определяли по методу Лоури (1951) при длине волны 750 нм.

Исследования показали наличие конститутивного синтеза нмБТШ и БТШ70 у *E. cyaneus* и *G. fasciatus* и его отсутствие в детектируемых количествах у представителей *O. flavus*. В то же время, как температурное, так и токсическое воздействия приводили к увеличению содержания нмБТШ и БТШ70 у всех исследованных видов. Кроме того, было обнаружено, что содержание нмБТШ у амфипод значительно выше содержания БТШ70.

Известно, что количество нмБТШ в некоторых тканях гораздо выше, чем количество других молекулярных шаперонов (Wang et al., 2000). Денатурация белков происходит очень быстро, а восстановление их нативной структуры возможно только в начале процесса денатурации, поэтому важно, чтобы это состояние белка было стабилизировано. Сравнительно высокое содержание стабилизирующих белков, таких как нмБТШ, необходимо для того, чтобы они смогли быстро связаться с начавшими денатурированными белками и переместить их к другим шаперонам, содержание которых в клетках гораздо ниже (Wang et al., 2000).

Увеличение содержания БТШ в тканях амфипод в результате воздействия температурного и токсического стрессов может свидетельствовать о нарушении структуры клеточных белков. Увеличение содержания БТШ необходимо для восстановления белков, поврежденных в процессе стрессового воздействия.

Наличие конститутивного синтеза БТШ необходимо для поддержания клеточных белков в активном состоянии при нормальных условиях. Известно, что содержание нмБТШ в некоторых тканях может значительно превышать содержание других БТШ. Низкомолекулярные БТШ способны связываться с денатурирующими белками в начальной стадии, когда еще возможен процесс полного восстановления, и перемещать их к другим молекулярным шаперонам, содержание которых в клетках может быть гораздо ниже. Отсутствие конститутивного синтеза БТШ в детектируемом количестве у амфипод *O. flavus*, вероятно, связано с тем, что они обитают в стабильных условиях и не сталкиваются с частыми изменениями условий обитания, следовательно, у них нет необходимости быстро реагировать на стрессовое воздействие. Сравнительно высокий конститутивный уровень БТШ у литоральных видов может быть связан с тем, что данные виды вынуждены постоянно сталкиваться с изменениями условий среды обитания, которые могут оказаться негативными или даже стрессовыми.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что представители обоих рассмотренных семейств БТШ участвуют в механизмах стресс-адаптации у исследованных эндемичных видов. В то же время, отмечена специфика их функционирования, которая, вероятно, зависит от экологических характеристик видов.

Работа поддержана грантами РФФИ: № 08-04-00928-а, №08-04-10065-к.

Список литературы

- Константинов А.С. Общая гидробиология: Учеб. для студентов биол. спец. вузов 4-е изд., перераб. и доп. - М.: Высш. шк., 1986. - 472 с.
- Bers G., Garfin D. Protein and nucleic acid blotting and immunobiochemical detection // BioTechniques. - 1985. - V.3. - P.276-288.
- Downs C.A., Faiths J.E., Woodley C.M. Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: a molecular biomarker system // Mar. Biotechnol. 2001. - V.3. - P.380-397.
- Feder M.E., Hofmann G.E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology // Annu. Rev. Physiol. - 1999. - V.61. - P.243 - 282.
- Lowry O.H., Rosebrought N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. vol.193. - P.265-275.

Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*.- 1970. vol.227. № 5259.-P.680-685.//*Nature*.- 1970.-V.227.-N5259.-P.680-685.

Sanders B.M. Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective // *Crit. Rev. in Toxicol.* – 1993. – V.23, №1. - P.49-75.

Wang, K., and Spector A. Alpha-crystallin prevents irreversible protein denaturation and acts cooperatively with other heat-shock proteins to renature the stabilized partially denatured protein in an ATP-dependent manner// *Eur. J. Biochem*.- 2000.-V. 267.- 4705-4712.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ КАРПА К ИЗМЕНЕНИЮ КОНЦЕНТРАЦИИ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА В ВОДНОЙ СРЕДЕ

В.Д. Романенко, А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский

*Институт гидробиологии НАН Украины,
04210, г Киев-210, пр. Героев Сталинграда, 12, Украина, alport@bigmir.net*

Одним из существенных факторов, определяющих функционирование и продуктивность водных экосистем, является загрязнение внутренних водоемов. В связи с чем изучение физиолого-биохимических механизмов адаптации и обменных процессов у рыб при токсической нагрузки на водные экосистемы является необходимым этапом разработки эффективных методов и способов повышения стойкости организмов к новым условиям существования.

Поскольку аммиак является промежуточным соединением обмена веществ у рыб, конечным продуктом азотистого метаболизма и одновременно при высоких концентрациях он обладает токсическим действием, то следует ожидать, что у рыб в процессе эволюции выработались эффективные защитные механизмы адаптации и внутриклеточные системы регуляции метаболизма, направленные на его нейтрализацию. В водоеме при действии азотистых соединений на рыб соответствие между дозой и эффектом происходит не так однозначно как в эксперименте и зависит от ряда дополнительных факторов. Здесь наблюдается не прямая связь между содержанием действующего агента и результатом его влияния, а действие соединений азота протекает в сложных взаимоотношениях экосистемы водоема в целом. Поэтому изменения физиолого-биохимических показателей у рыб и их ихтиологических характеристик существенно зависят от конкретных условий поступления аллохтонного азота. При этом в ряде случаев прямое его влияние на организм может проявляться менее активно, чем опосредованное.

Целью наших исследований было выяснить степень многолетнего влияния высоких концентраций соединений азота в воде на физиолого-биохимический статус рыб в природном водоеме, загрязненном сточными водами.

Эксперименты были проведены на Белоцерковской экспериментальной гидробиологической станции Института гидробиологии НАН Украины. В пятилетних экспериментах использовали годовиков карпа, завезенных из прудового хозяйства с нормативными гидрохимическими показателями. Рыбы были расселены в три пруда площадью 0.04 га со средней глубиной 1.2 м. Контрольный пруд № 1 обеспечивался водой из р. Рось. Пруд № 2 – из водоподводящего пруда, куда поступали с родниковыми водами стоки, содержащие значительные концентрации минерального азота. В пруд № 3 поступала вода из водоподводящего водоема, а также из родников, имеющих в его ложе. В период исследований для кормления рыб искусственные корма не применялись.

В воде опытных прудов № 2 и № 3 средние значения сухого остатка были 1160–1256 мг/дм³, концентрация хлоридов – 245–387 мг/дм³, сульфатов – 24–144 мг/дм³, фосфатов – 0.006–0.010 мг Р/дм³, кальция – 150–140 мг/дм³. Значительно отличался по этим показателям контрольный водоем (№ 1): сухой остаток – 341 мг/дм³; хлориды – 48–53 мг/дм³; сульфаты – 48 мг/дм³, фосфатов – 0.053 мг Р/дм³, кальция – 70 мг/дм³. Величина рН воды опытных прудов весной колебалась в пределах 7.4–7.6, а летом и осенью – 8.0–8.6, жесткость воды – 9.3 мг-экв./дм³ (№ 2, 3), 4.2 (№ 1) (Киризий и др., 2005; Потрохов и др., 2006).

Содержание минерального азота в воде контрольного пруда составляло: аммонийный азот – 0.088–0.243 мг N/дм³; нитритный – 0.003–0.01; нитратный – 0.1–0.28 мг N/дм³.

В опытных прудах № 2 та № 3 концентрация аммония весной была следующей: 9.1–21.5; 13.6–26.5 N/дм³ соответственно, летом – 13.7–35.7; 15.0–65.4, осенью – 29.2–42.5; 27.9–62.2 мг N/дм³; нитритов (в двух прудах) – весной 0.99–1.46 мг N/дм³, летом 1.75–3.27 мг N/дм³, осенью 0.32–1.83 мг N/дм³. Концентрация азота нитратов в воде весной – 6.27–21.61 мг N/дм³; летом – 8.32–19.04 N/дм³.

Содержание аммиака в тканях рыб определяли по Львову (Львов, 1975), азота по Савроню и др. (Савронь и др, 1967), Содержание липидов определяли тест-методом (Lachema, Чехия) (Knight, Anderson, Rawle, 1972), гликогена – с помощью антронового реагента, количество суммарных белков по Лоури (Практикум ..., 1989), нуклеиновых кислот – спектрофотометрическим определением концентрации ДНК по Спирину, спектрофотометрическим определением концентрации РНК по Флеку и Мурро (Методы ..., 1974). Влияние факторов среды на свободнорадикальные процессы в организме рыб изучалось на основе регистрации диеновых конъюгатов (Стальная, 1977), гидроперекисей липидов (Романова, Стальная, 1977), малонового диальдегида (Стальная, Гаришвили, 1977). Изучение уровня АТФ, АДФ, АМФ и их суммы проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol (Зарубина, Криворучко, 1982).

Активность аланин- и аспартатаминотрансферазы (АлАТ, АсАТ) определяли по Меншикову (Методические ..., 1973). Активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ) определяли по Захаровой (Захарова, 1982). Активность Na, K-активируемой Mg-зависимой АТФ-азы устанавливали по приросту неорганического фосфора в среде инкубации (Кондрашова и др., 1965). Активность кислой и щелочной фосфатазы определяли с использованием стандартных аналитических наборов Human (Германия). Полученные данные обработаны статистически с помощью программы Statistica 5.5.

На основе проведенных исследований выяснены основные метаболические механизмы адаптации рыб к изменению концентрации минерального азота. Так, при значительном росте его концентрации в воде (20-40 ПДК по аммонийному азоту, 4-40 ПДК по нитритному азоту) происходила активация ферментативных процессов в печени, связанных с детоксикацией избыточного поступления азотистых соединений в организм рыб. О чем свидетельствовал рост активности глутаматдегидрогеназы, аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в органах и тканях рыб. Поддержка гомеостаза азотистых соединений в организме в условиях высокой концентрации минерального азота в воде осуществлялась за счет ренальных и экстраренальных органических механизмов выведения избыточного поступления в организм рыб. Оценка обеспеченности энергией клеток тканей и органов рыб под воздействием азотистых соединений указывала на способность рыб регулировать и поддерживать обмен адениновых нуклеотидов а также необходимого уровня аденилатного энергетического заряда (рис.1). Основным источником поступления энергии, обеспечивающим эти процессы, являлся катаболизм белков.

В ответ на действие аллохтонного азота в плазме крови увеличивался общий пул белков и свободных аминокислот (рис. 2), а также возрастало содержание в ней общих липидов и стероидных гормонов. Таким образом, плазма крови, как основа транспорта азотистых соединений от органов и тканей рыб к жабрам и почкам для их последующей экскреции, существенно увеличивала свою емкость и способность к фиксации аммиака.

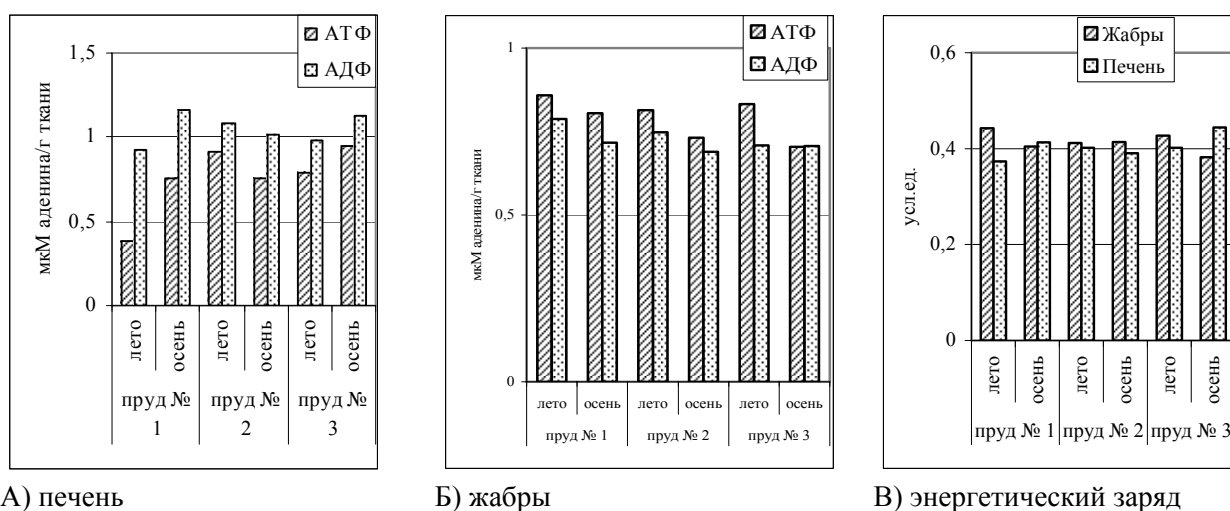


Рис. 1. Влияние аллохтонного азота на обмен адениновых нуклеотидов у карпа

Фиксированные соединения азота преимущественно (до 80–90 %) транспортируется к жабрам рыб, где происходит его активная экскреция, которая нуждается в значительном энергообеспечении (Sayer, Davenport, 1987; Kaushik, Fauconneau, Blanc, 1984). Как показали наши исследования, железистый аппарат жабр по сравнению с другими органами и тканями являлся наиболее стабильным органом на основании оценки активности ряда метаболических процессов, в частности по

показаниям перекисного окисления липидов, содержанию нуклеиновых кислот и активностям фосфатаз, и менее зависел от степени нагрузки аллохтонным азотом. Высокая сопротивляемость и толерантность жабр, органа который в наибольшей степени контактировал с токсичной водной средой, обусловлена высоким энергетическим обеспечением, стабильным составом структурных липидов клеточных мембран и высокой способностью к фиксации избыточного аммонийного азота. В результате жабры содержали меньше аммиака по сравнению с другими органами и тканями рыб (рис. 3).

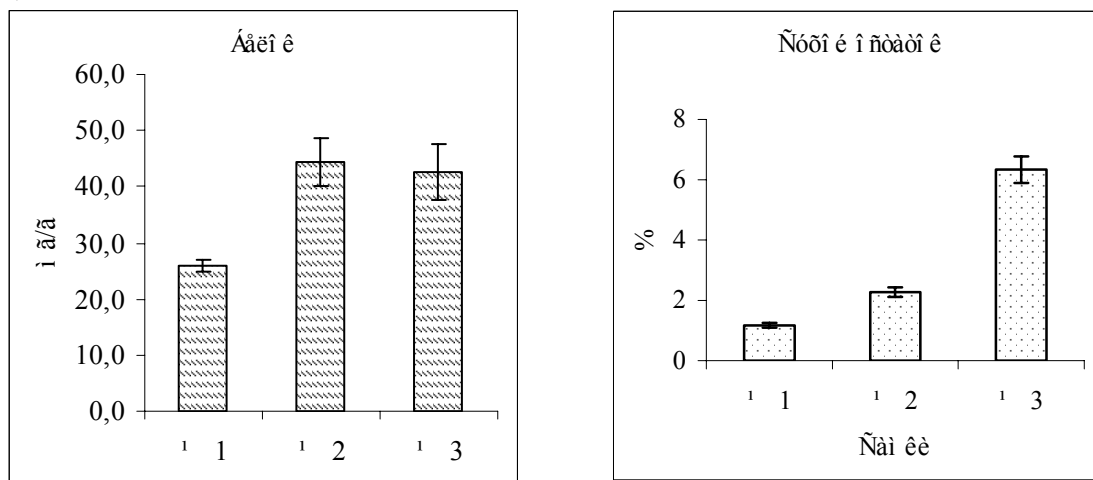


Рис. 2. Содержание белков и сухого остатка в плазме крови карпов под воздействием избыточного поступления минерального азота в водоемы

В условиях сезонных колебаний температуры водной среды изменялась ферментативная активность тканевых структур, что обуславливало сезонные особенности накопления, детоксикации и выведение азота из организма. В более холодный осенне-зимний период, когда снижалась ферментативная активность тканевых и внутриклеточных систем регуляции обмена азотистых соединений, происходил рост их концентрации в крови, железистом аппарате жабр, печени и мышцах в условиях пребывания рыб в водной среде с высоким уровнем минерального азота. В этот период года наблюдалось максимальное угнетение обменных энергоемких процессов по сравнению с контролем. Это приводило к меньшей затрате общих липидов и гликогена мышц и печени рыб, находящихся в условиях избыточного поступления азотистых соединений (рис. 4).

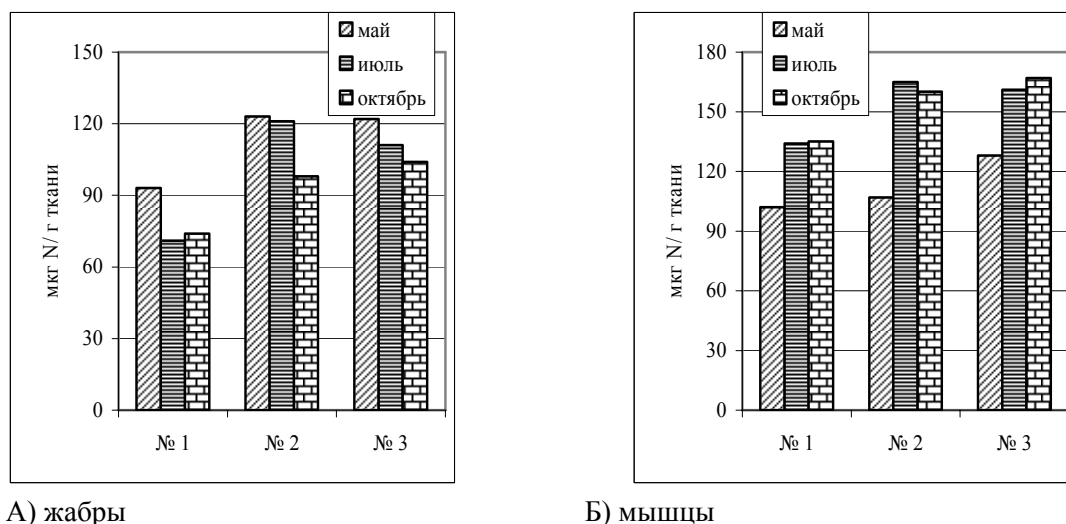
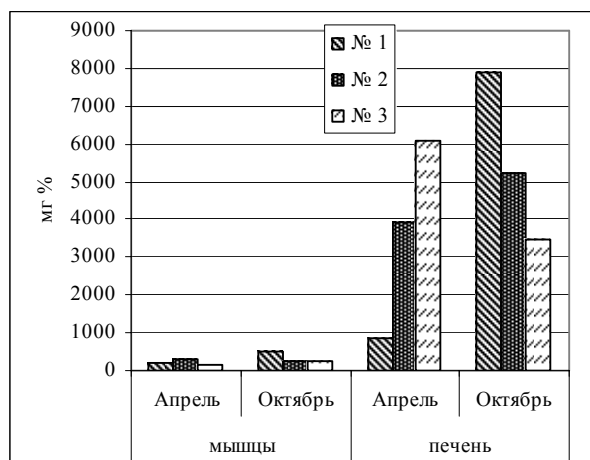


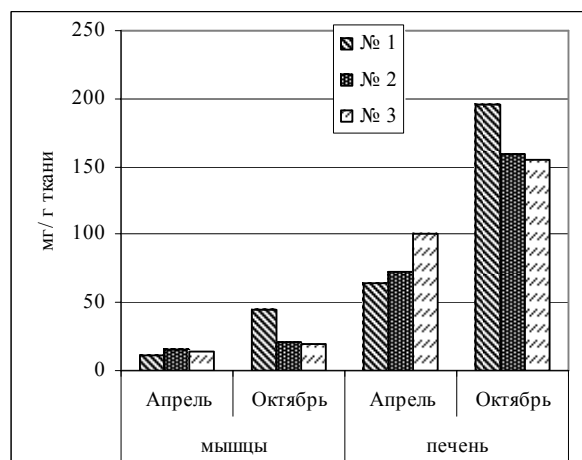
Рис. 3. Среднее за сезон содержание аммиака в тканях карпа под влиянием аллохтонного азота

С повышением температуры воды до оптимальных и при значительном росте активности тканевых ферментов возрастала скорость выведение из организма азотистых соединений, и снижалось их содержание в крови и железистом эпителии жабр карпа. В ответ на действие соединений минерального азота в вегетационный период наблюдалось усиление метаболических процессов, направленных на противодействие его токсичному влиянию. Именно этим объясняется тот факт, что при длительном пребывании карпа в водоеме с чрезвычайно высоким уровнем минерального азота его содержание в биологических жидкостях и тканях рыб в весенне-летний

период не выходило за границы физиологической нормы. Адаптивные изменения активности биохимических процессов в организме в летний период проявлялись в повышении темпов роста карпа, в ускоренном и более эффективном функционировании репродуктивной системы опытных рыб по сравнению с контрольными особями. Следствием такой активизации метаболизма рыб являлись меньшие уровни накопления липидов и гликогена в печени и мышцах при их подготовке к зимовке (см. рис. 4).



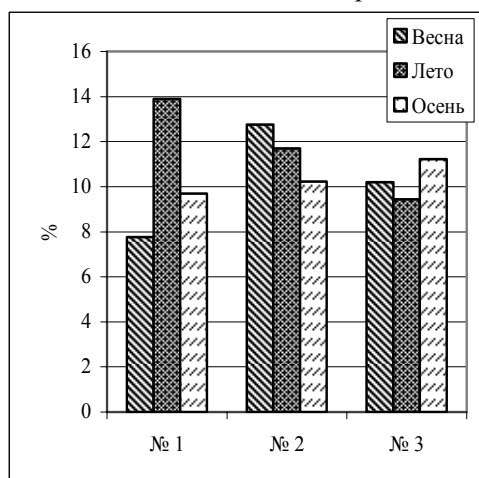
А) гликоген



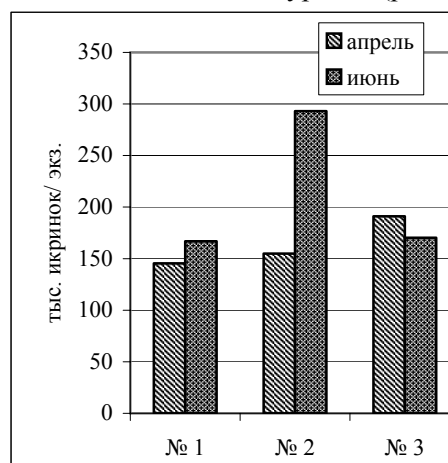
Б) липиды

Рис. 4. Изменение содержания гликогена и липидов в тканях карпа под действием аллохтонного азота

Репродуктивная система рыб в наименьшей степени подвергалась влиянию высоких концентраций азотистых соединений. Общие биохимические показатели ооцитов не зависели от действия высокой концентрации аллохтонного азота. Гонады надежно изолированы от внутренней среды рыб, а репродуктивная способность производителей карпа не снижалась, абсолютная плодовитость даже несколько возрастала, качество потомства осталось на высоком уровне (рис. 5).



А) гонадосоматический индекс



Б) абсолютная плодовитость

Рис. 5. Изменение характеристик репродуктивной системы карпа под влиянием высокой концентрации аллохтонного азота

Таким образом, рыбы способны вырабатывать эффективные механизмы противодействия влиянию высокой концентрации минерального азота. В результате многолетней адаптации к негативному токсическому действию аллохтонного азота физиолого-биохимический статус рыб компенсируется, они сохраняют высокие темпы роста и воспроизводительные способности.

Список литературы

Захарова Л.И. Определение активности глутаматдегидрогеназы в митохондриях тканей животных // Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 250-252.

- Киризий Т.Я., Бабич Г.Б., Самойлова Т.Д. Динамика минерального азота в водоемах Дендропарка «Александрия» // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка, серія Біологія, 2005, 3 (26). – С. 199-200.
- Кондрашова М.Н., Лесогорова М.Н., Шноль С.Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения в ультрафиолете // Биохимия. – 1965. – т. 30, вып. 3. – С. 567-572.
- Львов Н.П. Микродиффузионный метод определения аммиака // Методы современной биохимии. – М.: Наука, 1975. – С. 58-61.
- Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследований / под ред. проф. В.В. Меньшикова. – М., 1973. – 324 с.
- Методы биологии развития. Экспериментально-эмбриологические, молекулярно-биологические и цитологические. – М.: Наука, 1974. – 619 с.
- Потрохов А.С., Зиньковский О.Г., Киризий Т.Я., Худияш Ю.Н. Изменение ряда морфофизиологических показателей карпа под действием повышенной концентрации минерального азота в воде // Гидробиол. журн., т. 42, № 6, 2006. – С.71-90
- Практикум по биохимии / под редакцией Северина С.Е., Соловьевой Г.А. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 510 с.
- Савронь Е.С., Воронянський В.И., Киселев Г.И., Четчина А.В., Докторович Н.А. Практикум по биохимии животных. – М.: Высшая школа, 1967. – 239 с.
- Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
- Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
- Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 65–66.
- Kaushik S.J., Fauconneau B., Blanc I.M. A study of nitrogen excretion and oxygen consumption in live fall – sub families of rainbow trout // *Reprod., nutr., dev.* – 1984. – **24**, № 4. – P. 431–438.
- Knight J.A., Anderson Sh., Rawle J.M. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids // *Clinical chemistry*, v. 18, № 3, 1972. – P. 199-202.
- Sayer M.D., Davenport J. The relative importance of the gills to ammonia and urea excretion in five seawater and one freshwater teleost species // *J. Fish Biol.* – 1987. – **31**, №4. – P. 561–570.

ВЛИЯНИЕ ФУНГИЦИДА КУПРОКСАТА НА АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ АМИНОТРАНСФЕРАЗ МОРСКОГО ЕРША

О.В. Рощина

Институт биологии южных морей НАН Украины

пр. Нахимова, 2, Севастополь, 99011, Украина, roshina_olga@mail.ru

В настоящее время повсеместное использование пестицидов приводит к их накоплению в окружающей среде. Со стоками поливных и бытовых вод они попадают в водные экосистемы, где аккумулируются в грунтах и биоте, что может привести к неблагоприятным последствиям для естественных популяций гидробионтов и создать прямую угрозу здоровью человека, употребляющего в пищу рыбу и морепродукты.

Один из наиболее используемых пестицидов на юге Украины и России – контактный фунгицид купроксат, активным веществом которого является трехосновный сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$). Действие препарата направлено на предотвращение прорастания спор грибов. Ионы меди (Cu^{2+}) воспринимаются спорой в начале развития, накапливаются в ней и при достижении достаточной концентрации приводят к гибели. Широко применяется для обработки сельскохозяйственных культур, в том числе картофеля, томатов, винограда и др. Химические и физические свойства пестицида соответствуют требованиям ФАО, и он считается малотоксичным. Однако в ряде работ показано негативное воздействие данного пестицида на организм как теплокровных животных (Безруков и др., 2003), так и гидробионтов (Руднева и др., 2004, Залевская и др., 2004).

Идеальными объектами для биоиндикации морской среды считаются рыбы, так как, являясь верхним звеном трофических цепей водных экосистем, они обладают способностью концентрировать токсичные вещества в большей степени по сравнению с другими организмами. При этом общие закономерности и механизмы развития интоксикации у рыб, вызванной той или иной группой веществ, сходны с таковыми у теплокровных животных. В то же время рыбы более чувствительны к токсическим компонентам в силу большей зависимости от факторов водной среды (Моисеенко, 2005). Применение биохимических методов для оценки состояния рыб позволяет наиболее быстро и

точно выявить наступающие изменения под влиянием токсического вещества в связи с тем, что в первую очередь нарушения происходят на молекулярном уровне. Существует строгая зависимость между уровнем метаболизма и активностью ферментов, поэтому ферментативная активность характеризует физиологическое состояние рыб.

Аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспартатаминотрансфераза (АсАТ) являются важными ферментами организма. АлАТ и АсАТ играют ключевую роль в белковом обмене (Иванов и др., 1972). Аминотрансферазы, обладая значительной чувствительностью к воздействию различных экологических факторов, все чаще применяются в экотоксикологии в качестве биоиндикаторов (Маляровская, 1979, Basaglia et al., 1996, Oluah, 1999). В связи с этим целью работы явилось изучение влияния пестицида купроксата на активность сывороточных аминотрансфераз морского ерша *Scorpaena porcus*, являющегося мониторингом прибрежных акваторий г. Севастополя (Руднева, 2005).

Объектом исследований служили морской ерш *Scorpaena porcus* Linne, отловленный в акваториях г. Севастополя. Для проведения токсикологических экспериментов рыб помещали в профильтрованную морскую воду из расчета 1 особь на 5 л воды. Руководствуясь тем, что ПДК меди для морской воды составляет 0,001 мг/л, в среду добавляли следующие концентрации купроксата: 1 ПДК в пересчете на медь, 10 ПДК и 100 ПДК. Контролем служили рыбы, содержащиеся в среде без добавления токсиканта. Через 1, 2 и 3 суток после начала эксперимента кровь у рыб брали из хвостовой артерии пастеровской пипеткой. Сыворотку получали путем отстаивания на холоду. В сыворотке крови рыб определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) с помощью калориметрического метода Reitman и Frankel (микрометод) (Иванов и др., 1972). Результаты обрабатывали статистически (Лакин, 1990).

В результате проведенных исследований было установлено изменение активности аминотрансфераз в сыворотке крови морского ерша при действии различных концентраций купроксата. При этом был отмечен эффект четких фаз, зависящих от времени и концентрации пестицида.

Незначительное снижение активности АлАТ в сыворотке морского ерша установлено при концентрации купроксата 1 ПДК уже в первые сутки экспозиции (рис. 1). Затем наблюдается достоверное увеличение активности при концентрации 10 ПДК на 3-и сутки. Далее при концентрации 100 ПДК отмечено вновь снижение данного показателя, который более не повышается.

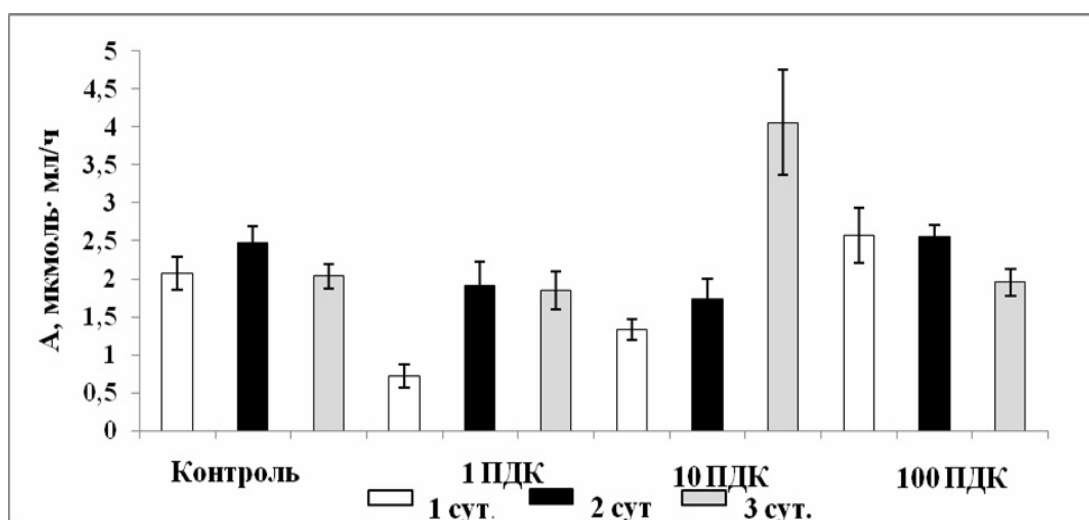


Рис. 1. Изменение активности АлАТ сыворотки крови ерша при действии купроксата.

Для АсАТ установлена аналогичная тенденция (рис. 2). Активность АсАТ снижается при концентрации 1 ПДК, повышается при 10 ПДК и вновь падает при 100 ПДК. Необходимо отметить достоверное увеличение активности уже на 3-и сутки экспозиции при концентрации 1 ПДК ($p \leq 0,05$). Таким образом, в данном случае наблюдается классическая картина синдрома Селье. На начальном этапе действия токсиканта наблюдается инактивация ферментов, первичные повреждения молекулярных структур, нарушение проницаемости мембран (фаза 1, стадия первичных нарушений, или стадия инициации ответа). При проявлении признаков поражения и сохранении их на протяжении некоторого порогового срока активизируются процессы, направленные на компенсацию возникших нарушений (фаза 2, стадия реагирования или нарастания ответа). Компенсаторная реакция, представляющая собой ответ системы на дестабилизирующее воздействие, запаздывает во времени по отношению к нарастанию деструктивных последствий этого воздействия, но возрастает интенсивнее и имеет предельный уровень, определяемый свойствами и состоянием системы. Данная

фаза включает выведение и обеззараживание яда, элиминацию и компенсацию молекулярных повреждений, последующие перестройки внутриклеточных и физиологических процессов, направленные на ослабление неблагоприятного эффекта.

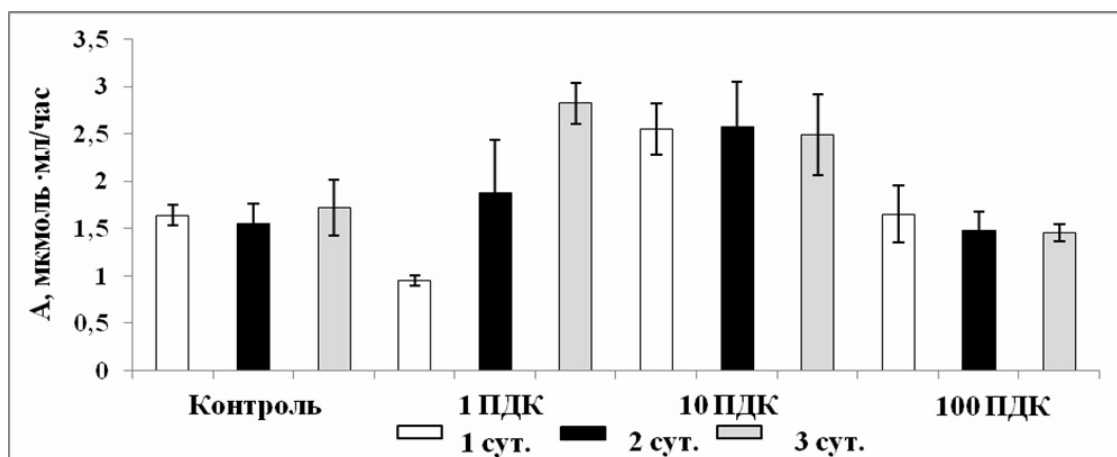


Рис. 2. Изменение активности АсАТ сыворотки крови ерша при действии купроксата.

В результате этого функции системы переходят на новый уровень активности. При этом результирующий эффект в каждый конкретный момент может соответствовать разности между уровнями дестабилизирующего воздействия и ответа. Далее после выхода объема деструктивных изменений за пределы компенсаторного потенциала в системе опять преобладает дальнейшее возрастание видимых проявлений деструктивных процессов (фаза 3, стадия напряженности) (Филенко О.Ф., 2001).

Для большей информативности был рассчитан коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ). Полученные значения подтверждают тенденции, установленные для активности аминотрансфераз (рис. 3).

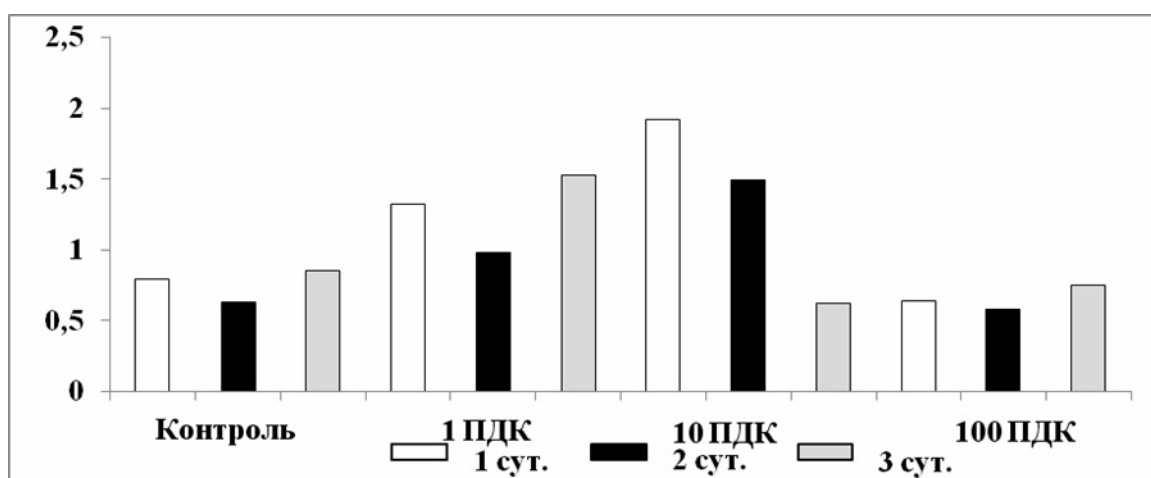


Рис. 3. Изменение значение коэффициента де Ритиса при действии купроксата.

Выводы

1. Изменение активности аминотрансфераз в сыворотке крови морского ерша при действии различных концентраций купроксата имеет четкие фазы, зависящие от времени и концентрации пестицида.
2. Активность аминотрансфераз в сыворотке крови морского ерша, содержащегося в среде с купроксатом, снижается при 1 ПДК в пересчете на медь, возрастает при 10 ПДК и падает при 100 ПДК.
3. Активность сывороточных аминотрансфераз отражает адаптивный и токсический ответ морского ерша при действии различных концентраций купроксата и может служить молекулярным индикатором для оценки токсического действия пестицидов на рыб.

Список литературы

- Безруков О.П., Руднева И.И., Мельникова Е.Б. Відповідні реакції антиоксидантної системи крові щурів на дію фунгіциду купроксат// Медична хімія. – 2003. –5., №2. –С. 70-73.
- Залевская И.Н., Матвеева З.С., Руднева И.И. Оценка токсического действия фунгицида купроксат на *Artemia salina*// Агроэкологічний журнал. -- 2004. -- №3 – 75-78.
- Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Манкелов И.М. Введение в клиническую энзимологию.— Л.: Медицина, 1972.—277с.
- Маляровская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного эвтрофирования водоемов.— Киев: Наук. думка, 1979.—345с.
- Лакин Р.Ф. Биометрия. -- М: Высшая школа, 1990.-- 352 с.
- Моисеенко Т.И. Экоотоксикологический подход к оценке качества вод// Водные ресурсы.—2005. – том 32, № 2. – С. 184-195.
- Руднева И.И., Залевская И.Н., Кузьминова Н.С., Савкина Е.Г. Оценка токсического действия фунгицида купроксат на личинок черноморской атерины// Агроэкологічний журнал. -- 2004. -- №3 – 83-86.
- Руднева И.И., Шайда В.Г., Кузьминова Н.С. Действие фунгицида купроксат на теплопродукцию личинок гидробионтов. Агроэкологічний журнал. -- 2004. -- №3 – 81-82.
- Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Залевская И.Н., Жерко Н.В. Морской ерш (*Scorpaena porcus*) как биомониторный вид прибрежных вод Черного моря// Водные ресурсы – 2005.—Т.32, №2.—С.238-246.
- Филенко О.Ф. Динамика эффекта загрязняющих веществ экотоксикологии// Токсикологический вестник.—2001.— № 2.—С. 2-6.
- Basaglia F., Cucchi C. Phenylhydrazine- induced changes in fructose-bisphosphate aldolase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in *Ictalurus melas* (Siluriformes, Ictaluridae)// Cytobios. – 1996. -- vol. 85, № 342-- p. 137-154.
- Oluah N.S. Plasma aspartate aminotransferase activity in the Catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal zinc and mercury// Bull. Environ. Contam. Toxicol.—1999. -- p. 343-349.

ВЛИЯНИЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ОБСКОЙ И ТАЗОВСКОЙ ГУБ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ *DAPHNIA MAGNA*

Г.Е. Рыбина, И.Н. Семенова

ФГУП «Госрыбцентр»

г. Тюмень, Россия, g-r-c@mail.ru

Большое значение имеет загрязнение углеводородами вод Обской губы и Карского моря. Обь является главной водной артерией Западной Сибири, объединяющей практически всю территорию в один речной бассейн, формируя единую миграционную структуру и единую каскадную ландшафтно-геохимическую систему (Водные экосистемы..., 1995). Интенсивное загрязнение вод бассейна Оби в результате нефтедобычи в Среднем Приобье сказывается на всех звеньях каскадной ландшафтно-геохимической системы, в том числе Ямала. Возникает опасность бассейнового загрязнения пойм, стариц, дельт, донных отложений, как аллювиальных, так и прибрежно-морских, устойчивыми нефтепродуктами (Михайлова, Горшкова, Уварова, 1983; Михайлова, Уварова, Бархович, 1988; Водные экосистемы..., 1995; Матковский, 1997; Рыбина, 2006). Помимо Оби, загрязнению нефтепродуктами подвержены бассейны Пура, Таза, Надыма и других рек, протекающих по территории эксплуатируемых месторождений севера Западной Сибири.

Продолжающееся загрязнение Обского бассейна, разведочное бурение в Обской губе мало способствует сохранению экологического состояния и уникальности водной системы данного бассейна.

Целью исследования явилось изучение влияния донных отложений (ДО) Обской и Тазовской губ на показатели жизнедеятельности планктонных ракообразных – *Daphnia magna* Straus.

Пробы грунтов отобраны в районе бурения: скважина №2 (район впадения Тазовской губы в Обскую) и скважина №3 (верхняя часть Тазовской губы). Пробы исследовали с восточного и южного направлений с расстояний 50, 500 и 5000 м от буровых. Расстояние 5000 м выбрано в качестве фона. Грунты представляют собой глинисто-песчано-илистые массы буроватого цвета. Содержание в донных отложениях нефтепродуктов (НП) и тяжелых металлов (ТМ) представлено в таблице 1.

Готовили исходные суспензии грунтов в соотношении 1:4 (ФР.1.39.2001.00283; Руководство..., 2002). Опыты проводились в трех повторностях. В каждый стакан помещали по 10 одновозрастных (1-суточных) рачков, которых предварительно измеряли под бинокуляром. Растворы на протяжении эксперимента не меняли, по мере необходимости приливали отстоянную воду, дафний кормили

каждый день водорослевой суспензией и раз в неделю дрожжами.

В качестве контроля использовали песок – ил (1:1), отобранных на чистых участках рек и озер в пригородной зоне г. Тюмени

Таблица 1.– Содержание НП и ТМ (мг/кг) в донных отложениях скважин №2 и №3

Расстояние от буровой, м	Zn	Mn	Ni	Cu	Cr	Pb	As	Hg	Fe	НП
Скважина № 2										
Южное направление										
50	24,7	842,6	53,5	14,3	61,2	8,4	4,4	0,04	60887	94,3
500	23,8	796,9	46,5	15,7	107,2	10,7	2,6	0,04	89368	50,7
5000	19,2	757,4	47,6	16,7	97,4	8,1	4,8	0,03	81847	35,4
Восточное направление										
50	29,5	705,3	55,4	16,0	83,5	11,3	5,9	0,03	58161	69,0
500	28,4	710,0	57,8	15,9	140,8	12,4	6,2	0,03	102170	82,7
5000	20,6	827,9	50,6	15,5	126,8	8,3	6,1	0,04	91652	67,6
Скважина № 3										
Южное направление										
50	17,1	686,6	63,8	15,9	121,8	11,4	6,8	0,03	123085	65,0
500	13,2	968,9	57,7	15,9	65,2	8,2	7,0	0,04	83750	66,0
5000	0,00	920,9	34,4	10,5	64,8	9,4	2,6	0,02	69993	81,8
Восточное направление										
50	19,6	644,6	49,8	17,7	130,0	11,4	6,4	0,03	51366	69,3
500	13,4	92,8	71,5	28,1	177,1	16,1	10,5	0,04	147939	93,0
5000	44,6	842,5	66,9	15,6	325,4	11,1	8,2	0,04	147159	58,7

Продолжительность острых опытов – 4 сут, хронических – 30 суток. Изучаемые показатели: выживаемость, поведенческие реакции, изменение линейных размеров, морфофункциональных особенностей и плодовитости.

Каждую декаду опыта проводили измерения морфометрических показателей (рост) и отмечали морфофункциональные изменения параметров (наполняемость кишечника и его содержимое, окраска тела) согласно Методическим указаниям (1998).

Анализ данных показал, что суспензии грунтов со станций 50, 500 и 5000 м от буровой с восточного и южного направлений не оказывали острого токсического действия на *Daphnia magna*, выживаемость на 4 сут эксперимента была 100 % (рис. 1, 2).

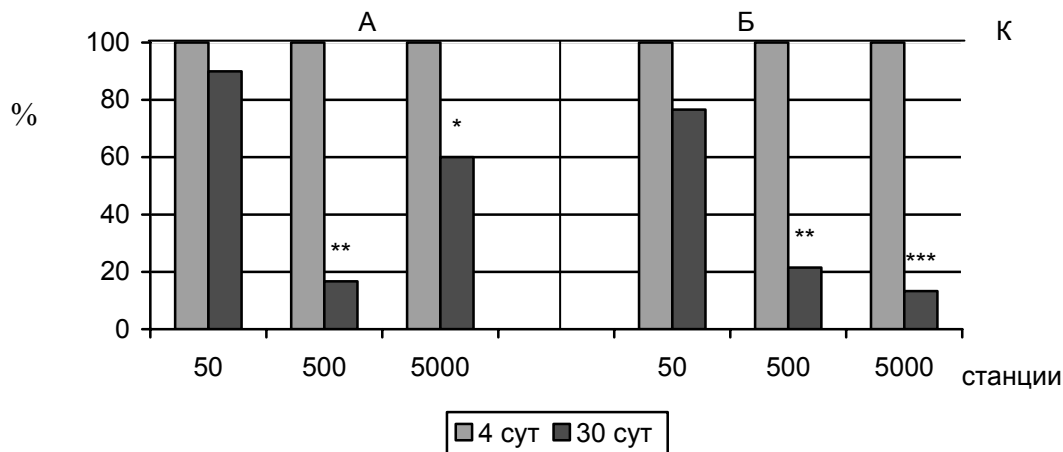


Рис. 1. Выживаемость (в %) *D.magna* в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 2

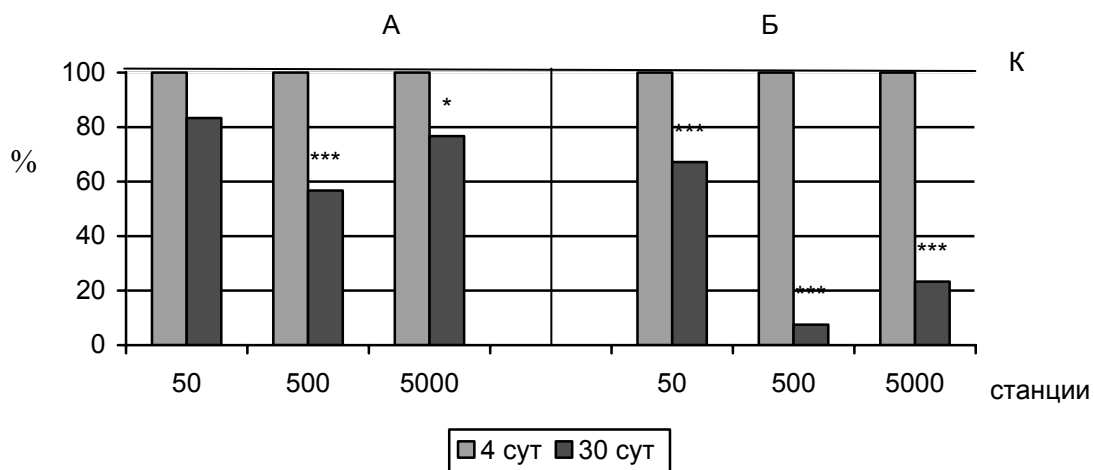


Рис. 2. Выживаемость (в %) *D.magna* в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 3

При удлинении времени экспозиции токсичность грунтов возрастала. Выживаемость рачков в суспензиях ДО скважины №2 восточного направления снижалась на 40.0-83.3%, южного – на 78.5-86.7%, в ДО скважины № 3 восточного направления - на 43.3% и южного – на 32.8-92.5% (рис.1, 2). Наиболее токсичными оказались ДО ст. 500 и 5000 м от буровой, в пробах южного направления скважин № 2 и № 3 было отмечено, что, чем дальше от буровой, тем гибель животных была выше.

Рост рачков и плодовитость *D.magna* в опытах были достоверно снижены на протяжении всего эксперимента в южном и восточном направлении на всех станциях (рис. 3-6). Рост рачков зависит от характера пластического обмена, который складывается из прироста массы тела (соматический рост), периодически сбрасываемого вещества экскрементов (экзувиальный рост) и продуцирования половых продуктов (генеративный рост) (Хмелева, 1988). Опытные рачки максимально прирастали в первые дни жизни – в период до полового созревания (рис.3, 4). Во вторую декаду отмечали сильное снижение скорости линейного роста, поскольку значительная часть пластических веществ использовалась на образование яйцеклеток (к 20 сут в наших экспериментах в опытных вариантах появилась первая молодь), в третью декаду скорость роста незначительно, но увеличивалась, плодовитость снижалась. Однако на протяжении всего эксперимента рачки в опытах вариантах достоверно отличались по ростовым показателям от контрольных особей.

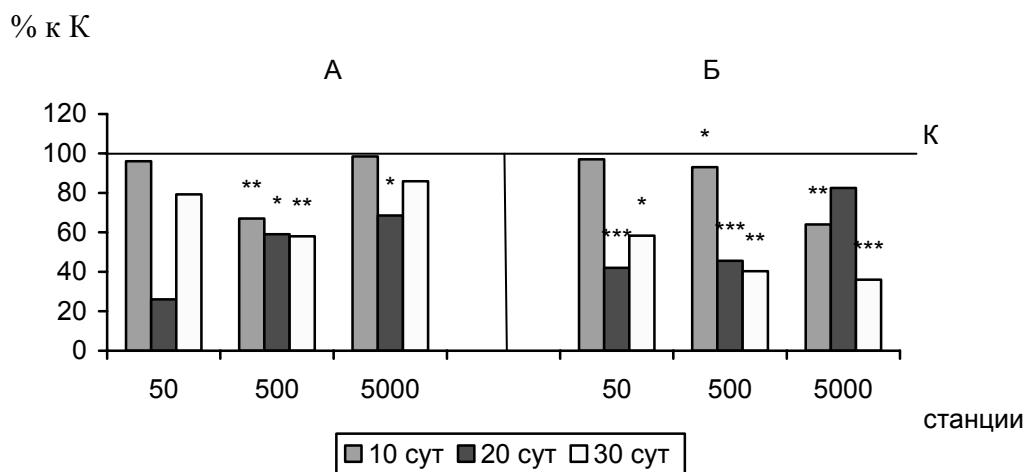


Рис. 3. Изменение темпа роста *D.magna* (% к К) в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 2

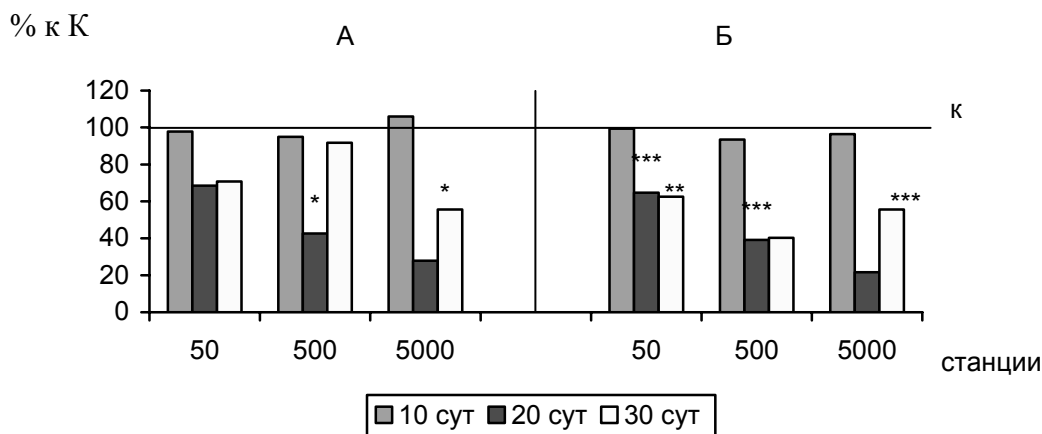


Рис. 4. Изменение темпа роста *D. magna* (% к К) в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 3

На 10 сут опыта темп роста рачков в суспензиях ДО исследуемых проб был на уровне контроля. Снижение отмечали только на скважине № 2 - 500 м от буровой (восточное направление) - в 1,5 раза, 5000 м от буровой (южное направление) – в 1,6 раза.

На 20 сут в суспензиях ДО с территории скважины № 2 восточного направления темп роста рачков был снижен против контроля в 2,4, 2,2 и 1,2 раза, на 30 сут - в 1,7, 2,5, 2,8 раза соответственно со станций 50, 500 и 5000 м от буровой. В грунтах южного направления - во второй и третьей декаде - в 3,8, 1,7, 1,5 раза и в 1,2, 2,5 и 1,3 раза соответственно. Со скважины № 3 восточного направления на 20 сут в опытных грунтах темп роста был снижен против К в 1,5, 2,4 и 3,6 раза, на 30 сут - в 1,4, 1,1 и 1,8 раза соответственно на станциях 50, 500 и 5000 м. При действии грунтов с южного направления во второй декаде темп роста был снижен в 1,5, 2,6 и 4,6 раза, на 30 сут – в 1,7, 2,5 и 2,8 раза в грунтах с расстояния 50, 500 и 5000 м соответственно.

В отличие от К в опытных вариантах молодь появлялась только к концу второй декады, и количество ее снижалось в третьей декаде (рис. 5, 6).

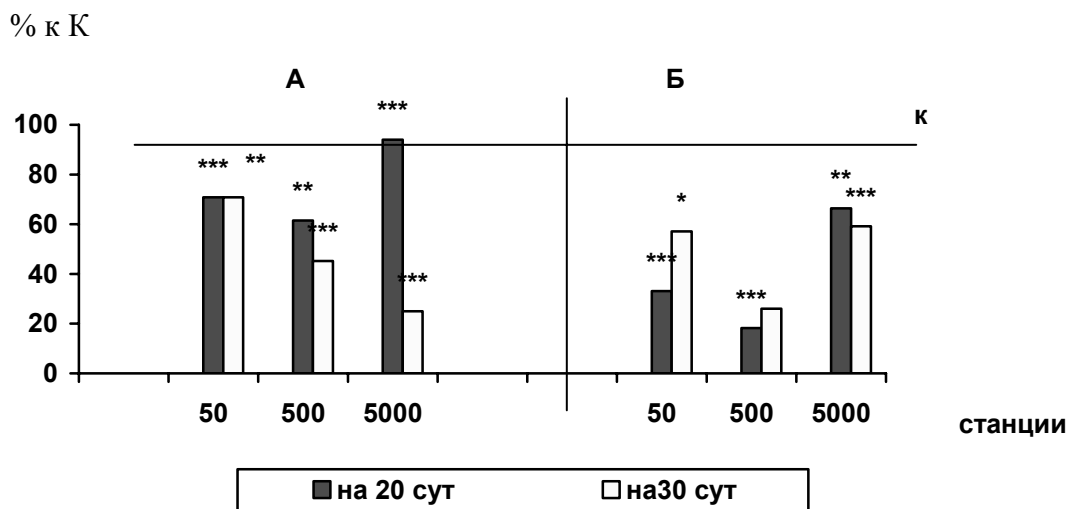


Рис. 5. Изменение плодовитости *D. magna* (% к К) в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 2

Это связано не только с волнообразностью жизненных процессов: при ускорении соматического роста, замедлялся генеративный рост, и наоборот, но и с гибелью рачков. Отмечено, чем выше выживаемость, тем меньше общая и удельная плодовитость у рачков. Это свидетельствует о том, что рачки с высокой выживаемостью направляют пластические и энергетические ресурсы на защиту организма от токсиканта, а менее устойчивые – на воспроизводство (Кюнхольд, 1969).

При максимальной гибели рачков на станции 5000 м (рис. 1, 2) отмечено появление наибольшего количества молодежи, чем на станциях 50 и 500 м (рис. 5, 6). Хотя количество

появившейся молоди было статистически достоверно ниже контроля. За 30 сут на исследуемых станциях количество молоди было достоверно ниже К: на скважине № 2 - на восточном направлении - в 1,5-6,3 раза, на южном - в 2,1-8,6; на скважине № 3 - в 1,3-2,2 и в 1,6-5,2 раза соответственно (рис. 5, 6).

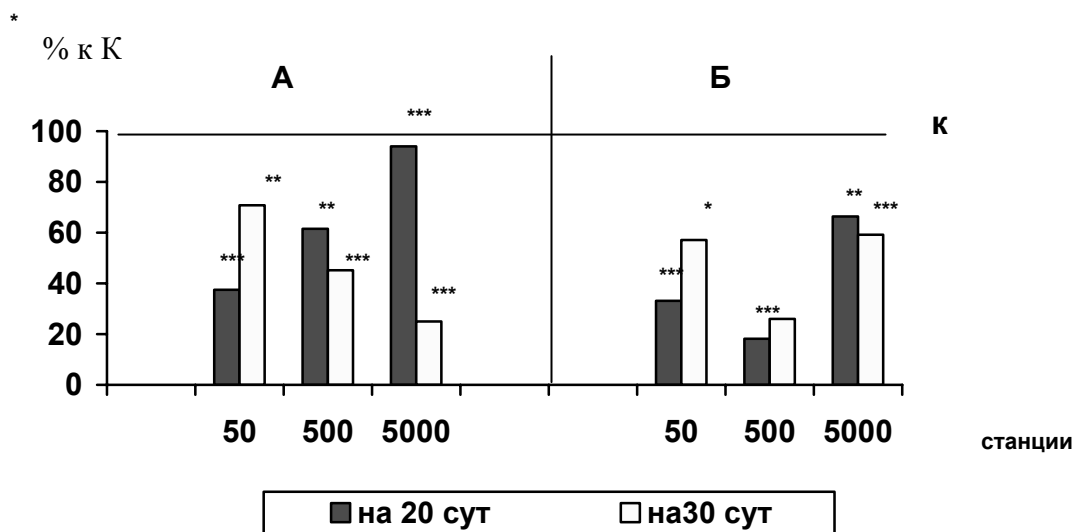


Рисунок 6. Изменение плодовитости *D.magna* (% к К) в грунтах со станций восточного (А) и южного (Б) направлений скважины № 3

Под влиянием ДО отмечали нарушения функциональных показателей у животных. Рачки хорошо питались только в первые сутки опыта, на 20 и 30 сут были нарушены процессы пищеварения, к концу опыта они голодали. В опытных вариантах по мере удлинения воздействия и с расстоянием от буровой тело приобретало диффузно-розовое окрашивание, что говорит о кислородном голодании рачков. В грунтах с южного направления процессы кислородного голодания еще больше усугублялись, наблюдали помутнение, в первую очередь, дыхательных отростков ног и туловища, что обычно свидетельствует о коагуляции плазмы клеток.

Таким образом, исследованные грунты с территорий скважин № 2 и 3 восточного и южного направлений обладали хроническим токсическим действием: нарушали функциональные показатели, ростовые и репродуктивные процессы, вызывали гибель животных. Стация 5000 м от буровой в данном конкретном случае не может служить фоном, поскольку степень загрязнения бассейнов Оби, Таза, Пура очень высокая, происходит соответствующее загрязнение нижней части Обской и верхней части Тазовской губ.

Список литературы

- Водные экосистемы // Природная среда Ямала – Тюмень: Институт Проблем Освоения Севера СО РАН, 1995. - Т.1 - С.10-22.
- Матковский А.К. Современное состояние запасов рыб в водоемах Обь-Иртышского бассейна в изменяющихся условиях антропогенного воздействия // Природные, промышленные и интеллектуальные ресурсы Тюменской области: Материалы научно-практической конференции (Тюмень, 12-13 ноября 1997 г.). – Тюмень, 1997. – С. 78-79.
- Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. – М.: ВНИРО, 1998. – 145 с.
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2001.00283. – М.: «АКВАРОС», 2001. – 47 с.
- Михайлова Л.В., Горшкова Г.А., Уварова В.И. Экологические аспекты влияния углеводородного загрязнения на пресноводные экосистемы Обского бассейна в районе нефтяных разработок // Актуальные проблемы окружающей среды на нефтяных и газовых месторождениях Тюменской области. - Тюмень, 1983. - С. 31-33.
- Михайлова Л.В., Уварова В.И., Бархович О.А. Особенности ионного состава и минерализации воды р. Обь и ее притоков // Водные ресурсы. – 1988. - № 3. - С. 25-35.
- Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. – 117 с.
- Рыбина Г.Е. Токсичность донных отложений в районах нефте- и газодобычи // IX Съезд Гидробиологического общества РАН: Тез. докладов. - Тольятти, 2006. – Т. II. - С.126.
- Хмелева Закономерности размножения ракообразных. – Минск: Наука и техника, 1988. – С 204.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДОРΟΣЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИМИ ГЕРБИЦИДАМИ

А.И. Сакевич, О.М. Усенко

Институт гидробиологии НАН Украины

г. Киев-210, пр-т Героев Сталинграда, 12, 04210, Украина, hydrobiol @ kw.ua

Использование новых препаратов для защиты сельскохозяйственных культур от вредителей и сорняков в настоящее время, и очевидно, в предвиденном будущем будет играть важную роль в повышении урожая этих растений. В связи с этим неизбежно поступление остатков стойких гербицидов из сельскохозяйственных угодий в реки, пруды, водохранилища, озера, а затем в Мировой океан. С каждым годом количество этих препаратов, поступающих на мировой рынок от производителей разных стран, увеличивается.

В настоящее время все больше синтезируются гербициды действующим веществом которых является изопропиламинная соль глифосата. Существует более 90 торговых названий гербицидов на основе глифосата. Они используются в 119 странах мира. Установлено (Edwards, Friplett, 1980), что перенос глифосата сливными стоками в границах водосборного бассейна в случае выпадения дождей сразу же после обработки полей выносятся до 99% препарата от общего выноса в последующее время. Через сутки после обработки полей гербицидом в сливных стоках обнаружено 5.2 мг/л глифосата, а через 4 месяца эта концентрация уменьшалась до 0.002 мг/л. ПДК раундапа, в состав которого входит глифосат, для рыбохозяйственных водоемов составляет 0.001 мг/л, а в водоемах санитарно-бытового использования – 0.01 мг/л (Мельников и др., 1995).

Воздействие глифосата на беспозвоночные и рыбы высветлено в некоторых работах исследователей (Мельничук и др., 2007а; Мельничук и др., 2007 б; Лоханская и др., 2008; Жиденко, Коваленко, 2006). Показано, что летальная доза глифосата для этих гидробионтов колеблется в большом диапазоне. Она обусловлена временем его действия на гидробионты, величинами температуры, рН и жесткости среды. Влияние глифосата на изменение функциональной активности растений изучено значительно меньше.

Известно, что чистая культура *Euglena gracilis* подавлялась глифосатом и погибала при концентрации 1 ммоль, а рост *Chlorella soroniniana* ингибировалась на 50% при 17.5 моль (Carlisle, Trevors, 1988). Изопропиламинная соль глифосата оказывает стимулирующее действие на *Selenastrum gracile* при концентрациях 1–20 мг/л, а угнетающее при 30 мг/л и выше.

В данной работе приведены результаты исследований воздействия некоторых глифосатсодержащих гербицидов на фотосинтетическую активность и рост биомассы некоторых видов альгологически чистых культур синезеленых: *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. HPDP-6, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (Ag.) Gom. HPDP-35, *Oscillatoria neglecta* Lemm. HPDP-25, *Nostoc muscorum* Ag. HPDP-526) и зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. CCAP-211/11b, *Acutodesmus dimorphus* (Turp.) Meyen IBASU-A251. Фотосинтетическая активность культур водорослей определялась по методике Х.Н. Починка (1976). Величины этого показателя рассчитывали с помощью формулы:

$$Гф = -100 \bullet \left(1 - \frac{\Phi_0}{\Phi_k}\right), \text{ где}$$

Г_ф – показатель влияния гербицида на интенсивность фотосинтеза (в % к контролю); Φ_к – интенсивность фотосинтеза контрольных проб; Φ₀ – интенсивность фотосинтеза при действии на водоросли гербицида.

Количество сухой массы клеток этих гидробионтов определяли весовым методом (Методы ..., 1975). Во всех вариантах опытов использовали освещение 3000 лк. Выращивали культуры при температуре 22–24°C. Показатели фотосинтетической активности, а также изменение количества водорослевой массы учитывали через 12 суток их экспозиции с различными концентрациями растворимых в среде гербицидов. Величины содержания в среде глифосата колебались в границах 1–500 мг/л. В некоторых вариантах опытов концентрация действующего вещества уменьшалась до 0.1 мг/л. Это было обусловлено видовыми особенностями реакции водорослей на определенные концентрации внесенного в среду глифосата. Так, например, было установлено, что из всех видов

водорослей использованных в опытах, культура *Microcystis aeruginosa* реагировала на раундап в минимальных концентрациях действующего вещества – 0.1–1.0 мг/л (рис. 1).

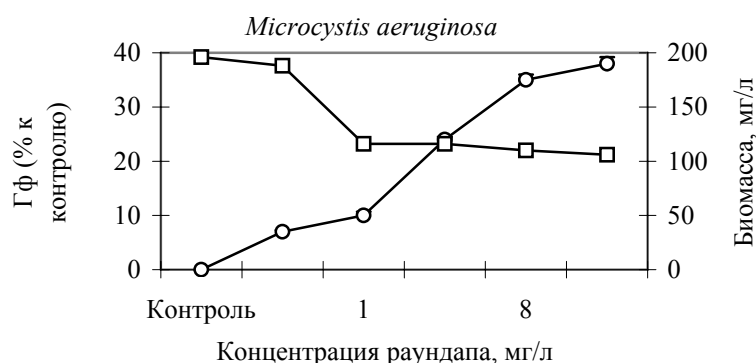


Рис. 1. Изменение фотосинтетической активности и содержания сухой массы клеток культуры под влиянием различных концентраций действующего вещества раундапа

Согласно используемой методики (Починок, 1976) увеличение показателей Γ_f свидетельствует об угнетении фотосинтетической активности культуры водоросли в % к контролю.

Опыты показали, что содержание глифосата в культуральной среде этой водоросли 0.1 мг/л угнетает ее фотосинтетическую активность на 7% по сравнению с контролем. С увеличением концентрации растворенного в среде раундапа увеличивается ингибирование фотосинтеза, который практически полностью прекращается при 10 мг/л действующего вещества. Можно предположить, что в природных водоемах, где клетки этой водоросли собраны в слизистых чехлах, их реакция на глифосат проявляется в значительно больших концентрациях. Это можно наблюдать на примере культуры *Nostoc muscorum*, где слизистых веществ значительно больше, чем в культуре *Microcystis aeruginosa*. Здесь при концентрациях глифосата 10–20 мг/л наблюдается не ингибирование, а стимуляция фотосинтетической активности и роста биомассы культуры. Ингибирование этих функций культуры наблюдалось при концентрациях действующего вещества 50–500 мг/л (рис. 2). Подобные результаты опытов наблюдались и при действии глифосата урагана и чистопола на функциональную активность культур *Oscillatoria neglecta* и *Phormidium autumnale* f. *uncinata*. Концентрации 5–30 мг/л этого вещества стимулировали рост этих культур.

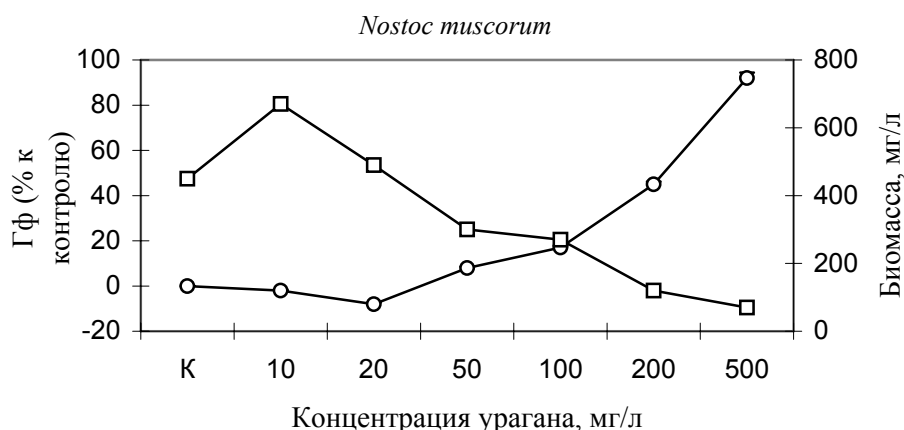


Рис. 2. Влияние различных концентраций глифосата урагана на фотосинтетическую активность и рост и биомассы культуры (К – контроль, обозначения те же, что и на рис. 1)

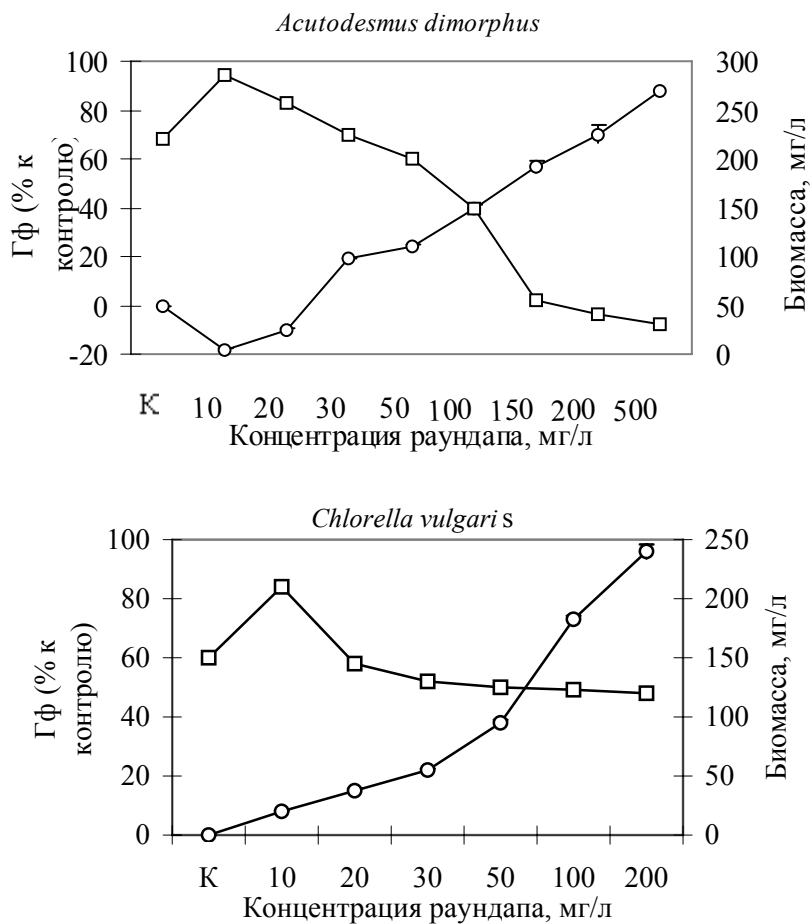


Рис. 3. Влияние различных концентраций глифосата раундапа на фотосинтетическую активность и рост биомассы культур зеленых водорослей (К – контроль, обозначения те же, что и на рис. 1)

Подобным образом влиял глифосат гербицидов и на культуры зеленых водорослей *Acutodesmus dimorphus* и *Chlorella vulgaris*. Концентрации 10–20 мг/л этого вещества не ингибировали, а стимулировали функциональную активность этих видов зеленых водорослей (рис. 3). Разница между реакциями исследованных видов на гербициды состоит в том, что к этим веществам более стойкая культура *Acutodesmus dimorphus*, чем *Chlorella vulgaris*.

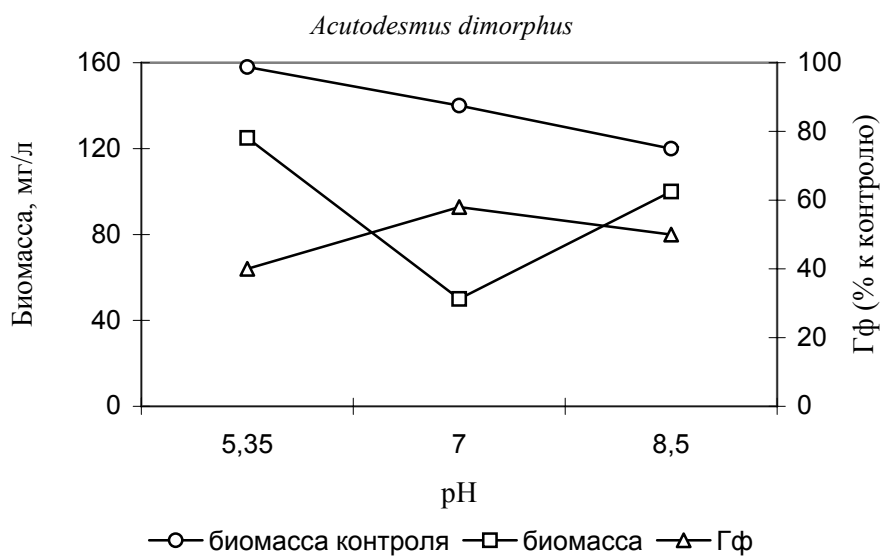


Рис. 4. Действие раундапа на фотосинтез и рост биомассы культуры при различных значениях рН среды.

Если под влиянием раундапа фотосинтез культуры *Chlorella vulgaris* угнетался при содержании гербицида 10 мг/л, то при этой концентрации фотосинтез *Acutodesmus dimorphus* стимулировался, а угнетение его наблюдалось при 30 мг/л.

Показатели изменения влияния гербицидов на функциональную активность водорослей обуславливаются не только концентрацией этих веществ, а и величиной pH среды. Внесение в среду культуры *Acutodesmus dimorphus* 50 мг/л действующего вещества раундапа показало, что при освещении 8000 лк и при pH 7.0 этот гербицид наиболее интенсивно угнетает фотосинтез и рост биомассы водоросли по сравнению с pH 5.35 и 8.50 (рис. 4).

Таким образом, анализ результатов полученных в лабораторных условиях, свидетельствует о том, что глифосатсодержащие гербициды, в зависимости от концентрации, могут стимулировать или ингибировать фотосинтетическую активность синезеленых и зеленых водорослей. Можно предположить, что встречаемые в континентальных водоемах концентрации фосфорсодержащих гербицидов в большинстве случаев не ингибируют, а стимулируют функциональную активность водорослей.

Список литературы

- Жиденко А.А., Коваленко Е.М. Влияние раундапа на динамику гистологических показателей в органах карпа // Гидробиол. журн. 2006. 42. № 6. С. 104–111.
- Лоханская В.И., Щербань Э.П., Мельничук С.Д. Острая токсичность гербицида норвел для рыб и ветвистоусых рачков // Гидробиол. журн. 2008. 44. № 1. С. 79–90.
- Мельников Н.Н., Новожилков В.К., Белан С.Р. Пестициды и регуляторы роста растений: Справочник. М.: Химия, 1995. 575 с.
- Мельничук С.Д., Щербань Э.П., Лоханская В.И. Оценка токсичности гербицидов на основе глифосата методом биотестирования на ветвистоусых рачках // Гидробиол. журн. 2007. 43. № 1. С. 84–96.
- Мельничук С.Д., Щербань Э.П., Лоханская В.И. Воздействие гербицидов факела на жизнедеятельность *Ceriodaphnia affinis* в острых и хронических опытах // Гидробиол. журн. 2007. 43. № 4. С. 88–97.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. и др. Киев: Наук. думка, 1975. 247 с.
- Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. Киев: Наук. думка, 1976. 335 с.
- Carlisle S.M., Trevors J.T. Glyphosate in the environment // Water, Air, and Soil Pollution. 1988. 39. № 3-4. P. 409–420.
- Edwards W.M., Triplett G.B. A watershed study glyphosate transport in runoff // Environmental Quality. 1980. 9. part 4. P. 661–665.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ГИДРОБИОНТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МАЛЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ

Е.И.Сарапульцева

Государственный технический университет атомной энергетики,
249040, г. Обнинск, Калужской обл., Студгородок, 1, кафедра биологии, Россия,
bioeco@iate.obninsk.ru

В лабораторных популяциях инфузорий *Spirostomum ambiguum* при очень малой для объекта дозе радиации 0.01 Гр наблюдается устойчивое снижение спонтанной двигательной активности особей. Повреждение наследуется при вегетативном размножении на протяжении многих клеточных поколений (прослежены до 12–15-го поколения). Изменения проявляются у значительного числа особей. Они отличаются от обычно изучаемых радиационных клеточных эффектов независимостью от величины дозы в широком дозном интервале.

Спиростомы широко распространены в природе. Они обитают в планктонном слое пресноводных водоемов и представляют собой важный источник пищи для рыб. Поэтому снижение численности этих гидробионтов после облучения в диапазоне относительно малых доз представляет интерес в свете проблем нарушения экологического гомеостаза в природных водоемах, загрязненных радионуклидами.

Этих простейших, как и других инфузорий, относят к высоко радиорезистентным объектам. Их гибель наблюдается при дозах порядка сотен и более Грей (Wichterman, 1953; Choppin, Rydberg, Liljenzin, 1995) Между тем ранее (Сарапульцева, 2008) было показано, что уже после облучения в столь малой дозе как 0.1 Гр у подавляющего большинства спиростом через час после воздействия

наблюдается выраженное снижение спонтанной двигательной активности (СДА) по сравнению с контролем. Эти нарушения не возрастали с ростом дозы в очень большом дозовом интервале (вплоть до дозы 850 Гр), что не укладывается в рамки принятых представлений о действии радиации на клетку. Подобные результаты были получены в работах (Бычкова, Очинская, 1978; Бычкова, 1986; Бычкова, Федорцева, Антонов и др., 2006), в которых у разных объектов, в том числе инфузорий других видов (*Paramecium caudatum* и *Climacostomum virens*) помимо традиционно изучаемых клеточных изменений, возрастающих с ростом дозы, обнаружены особые массовые дозозависимые («нестохастические») эффекты, которые индуцируются уже низкими дозами радиации. При этом было показано, что нарушения у простейших имеют место не только в ранние, но и в отдаленные сроки после облучения. В связи с этим нам представилось интересным выяснить, подчиняются ли этим же закономерностям обнаруженные нами у спиростом нарушения СДА, наследуются ли они потомками особей, облученных в диапазоне относительно малых доз. Такие наблюдения могут представить интерес в свете проблемы радиационной опасности для водных организмов и экосистем.

Инфузории *Spirostomum ambiguum* имеют относительно большие размеры (длина 1–3 мм, диаметр 0.3–0.5 мм), что позволяет наблюдать за ними при небольшом увеличении (x17). Эти гидробионты неприхотливы и хорошо размножаются в лабораторных условиях на дехлорированной водопроводной воде. Спиростом культивировали в биологических пробирках при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в виде массовой культуры. Воду отстаивали не менее 3-х сут, а затем отфильтровывали через обеззоленный фильтр. Питание осуществляли пищевыми дрожжами один раз в неделю. Культуру поддерживали в логарифмической фазе роста путем регулярных разбавлений суспензии. Спиростом для облучения брали из массовой культуры через 3 сут после кормления. Их облучали в пробирках в объеме 6 мл. Облучение проводили на установках «Луч-1» (Россия, ^{60}Co), «г-cell» (Канада, ^{60}Co , 18 сГр/мин) и «Исследователь» (Россия, ^{60}Co , 48 Гр/мин) в дозах 0.0021, 0.01, 0.017, 0.038, 0.1; 1; 20; 50, 100; 200; 500; 850; 1000 и 1500 Гр.

СДА исследовали у особей, которых отбирали из массовых культур на разных сроках после облучения и в контроле, а затем помещали в лунки специальной камеры для подсчета. В соответствии с имеющимися методическими разработками (Данильченко, Тушмалова, 1983; Мелехова, Сарапульцева, Евсеева и др., 2008), за каждой из спиростом наблюдали под микроскопом МБС-10, в окуляр которого был помещен визир. Количественной мерой СДА служило число пересечений инфузорией визира окуляра микроскопа за 1 мин. Этот эспресс-метод позволял получать убедительные результаты уже в ранние сроки после облучения.

Результаты обрабатывали статистически с использованием программы Microsoft®Excel'2003 SR-2 Origin® по параметрическому критерию Стьюдента.

Выше уже цитировали работу (Сарапульцева, 2008), в которой при наблюдениях за СДА непосредственно облученных спиростом было обнаружено, что при дозе 0.1 Гр имеет место значительное снижение этого показателя по сравнению с контролем. В таблице представлены результаты изменения СДА в контроле и пяти сериях опытов при еще более низкой дозе – 0.01 Гр. Видно, что и в этом случае средние показатели СДА спиростом достоверно ниже, чем в контроле. Они хорошо воспроизводятся во всех сериях опытов, отличаясь от контроля в среднем на 54 %.

Таблица. Показатели СДА в контроле и после облучения в дозе 0.01 Гр в пяти сериях опытов ($M \pm m$)

№ серии	Контроль	Опыт	Изменения, %
1-я	2.0 ± 0.2	0.8 ± 0.4	$40.0 \pm 11.0^*$
2-я	2.2 ± 0.1	1.4 ± 0.2	$63.6 \pm 10.8^*$
3-я	2.5 ± 0.2	1.1 ± 0.1	$44.0 \pm 11.1^*$
4-я	2.1 ± 0.3	1.4 ± 0.1	$64.3 \pm 10.7^*$
5-я	2.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	60.0 ± 11.0
Среднее значения	2.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2	$54.4 \pm 5.6^*$

* Отличия опыта от контроля достоверны при $p < 0.05$

Рассмотрим результаты изменения СДА после облучения в диапазоне доз 0.0021–1500 Гр. Они представлены на рис.1. Видно, что эффект снижения СДА наблюдается в дозах от 0.01 Гр и сохраняется примерно на одном уровне вплоть до 850 Гр.

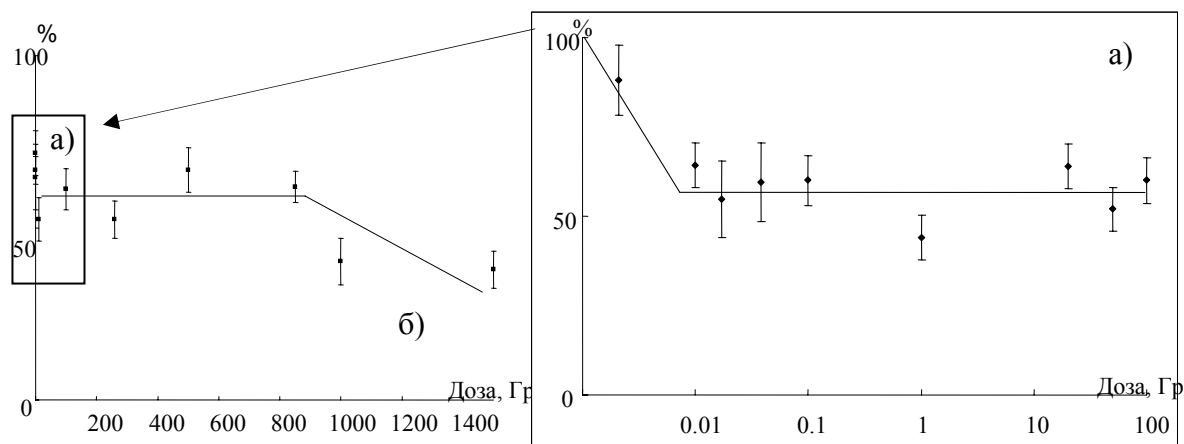


Рис. 1. Зависимость СДА спиростом (в % относительно контроля) от величины дозы радиации от 0.021 до 100 Гр в полулогарифмическом масштабе (а) и от 0.01 до 1500 Гр в линейном масштабе (б)

Теперь рассмотрим данные о СДА спиростом в потомстве облученных клеток. На рис.2 представлена зависимость СДА от величины дозы радиации через 4, 14, 21 и 30 сут после воздействия. Эффект выражен в % по отношению к контролю (в контроле и при каждой из доз на всех временных периодах использовано по 60 особей).

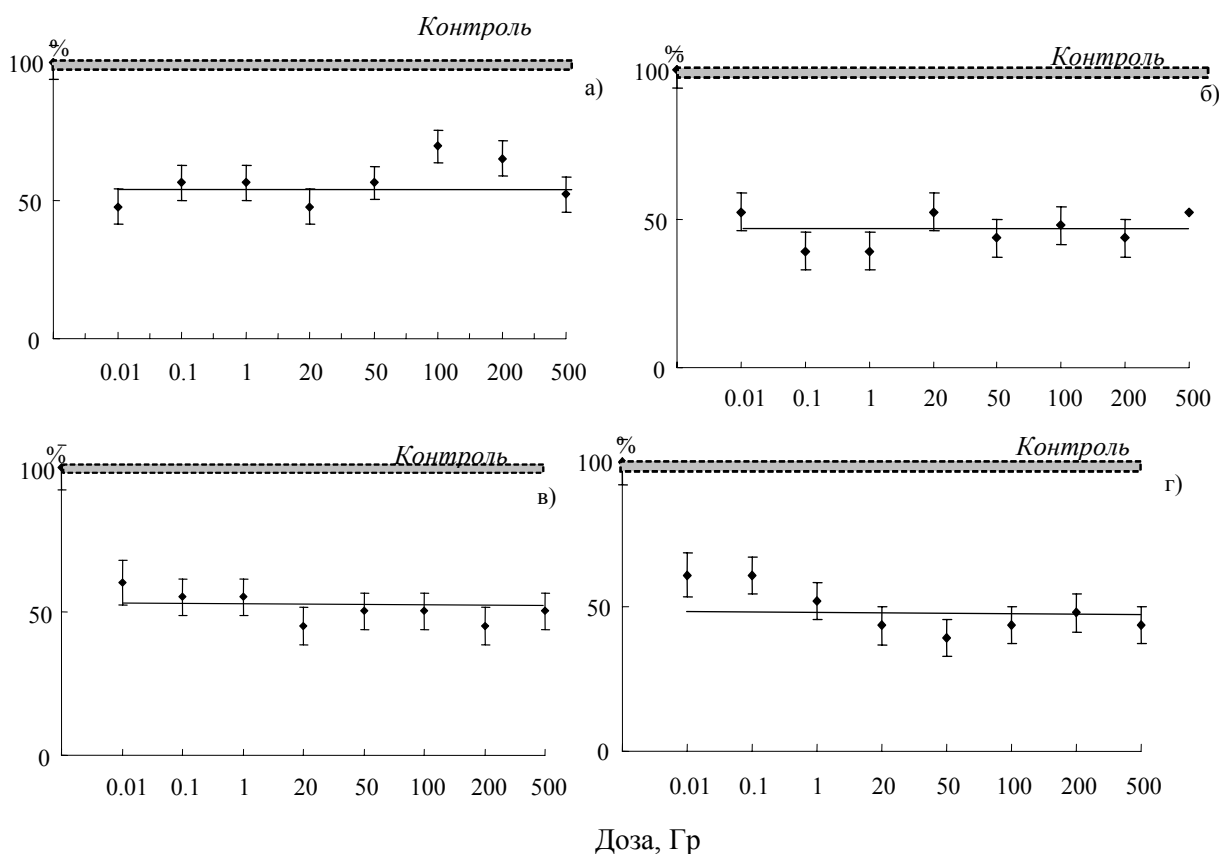


Рис. 2. Зависимость СДА спиростом от величины дозы радиации в диапазоне 0.0021–500 Гр через 4 (а), 14 (б), 21 (в) и 30 (г) сут после воздействия (в % относительно контроля)

Настоящее исследование показало, что изучаемая реакция проявляется не только сразу после воздействия, но и в отдаленные сроки после него, даже через 30 сут, на протяжении которых у спиростом сменилось множество клеточных генераций (средняя продолжительность клеточного цикла у спиростом составляет 3 сут (Wichterman, 1953). Мы видим поразительное единообразие картины во всех случаях. На всех сроках исследования уже при дозе 0.01 Гр наблюдается явное угнетение функции движения инфузорий, степень которого не возрастает с ростом дозы даже при ее увеличении в 50000 раз (до максимальной из использованных в настоящей работе доз – 500 Гр). При этом эффект практически не меняется во времени. Продemonстрированные во всех случаях значительные отклонения СДА от контроля говорят о массовом проявлении изменений описанного типа.

Итак, можно сделать вывод, что изменения СДА, индуцируемые облучением уже в очень малых дозах, наследуются при вегетативном размножении спиростом. Этот вывод подчеркивает опасность действия радиации на исследованных представителей биоты.

Важно подчеркнуть, что примененный метод биотестирования открывает возможности определять малые уровни радиационного загрязнения без количественных оценок дозовых нагрузок уже через 1 ч после воздействия.

Список литературы

- Бычковская И.Б. Проблема отдаленной радиационной гибели клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 160 с.
- Бычковская И.Б., Очинская Г.К. Метод наблюдения за наследованными летальными эффектами у простейших // Цитология. 1978. – Т.20. – №6. – С.700-704.
- Бычковская И.Б., Федорцева Р.Ф., Антонов П.В. и др. Особые клеточные эффекты и соматические последствия облучения в малых дозах. – СПб: СПМКС, 2006. – 150 с. (<http://irbb.ucoz.ru>)
- Данильченко О.П., Тушмалова Н.А. / Теоретич. вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. – С.130-132.
- Мелехова О.П., Сарапульцева Е.И., Евсеева Т.И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. Учебное пособие / Под ред. О.П.Мелеховой и Е.И. Сарапульцевой. – М.: Академия, 2008. – С. 216-220.
- Сарапульцева Е.И. Спонтанная двигательная активность инфузорий *Spirostomum ambiguum* после г-облучения в широком диапазоне доз как информативный метод биотестирования // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. – Т.48. – №3. – С.346-348.
- Choppin G., Rydberg J., Liljenzin J.O. Radiochemistry and Nuclear Chemistry. Butterworth: Heinemann Ltd. 1995. – P.473-512.
- Wichterman R. The biology of paramecium. – NewYork: Blakiston Comp.Inc., 1953. – 398 p.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ СУДАКА *STIZOSTEDION LUCIOPERCA* АЗОВСКОГО БАССЕЙНА

С.Г. Сергеева, О.А. Рудницкая

Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (АзНИИРХ)
344002, ул. Береговая, 21/2, Ростов-на-Дону, Россия, ogbm_korn@rostov.ru

Общая реакция организма на негативное влияние среды начинается с морфо-функционального изменения крови и кроветворных органов, в том числе и печени. Анализируя состояние печени можно судить об общем физиологическом состоянии всего организма, а также, в определенных пределах, о характере патологических изменений в обмене веществ. Морфологические исследования печени производителей судака, проводимые нами в течение многих лет, выявили ряд характерных особенностей в ее строении, свидетельствующих о нарушениях ее структуры под воздействием окружающей среды, в том числе и загрязнения.

Материал для анализа собирали в рейсах по Азовскому морю и из уловов береговых орудий лова в преднерестовый период (март – апрель), в период летнего и осеннего нагула, в предзимовальный и зимовальный периоды.

Гистологическую оценку состояния печени проводили по общепринятым методикам (Роскин, 1951; Пирс, 1961). Образцы фиксировались в 10% растворе формалина. На основе парафиновой заливки делались фиксированные препараты тканей, которые окрашивались по методу Маллори. Фиксированные препараты срезов тканей микроскопировали на приборах «Olympus» (Япония) и «Jenamed» (Германия). Выбор увеличения при рассмотрении объектов зависел от конкретных задач — от 40[×] до 100[×]. При микроскопировании обращали внимание на признаки наличия/отсутствия морфологических изменений в клетках и ткани, имеющих прогностическое значение для определения функционального состояния органа. Микроскопированием определяли структуру паренхимы и соединительной ткани, диаметр ядер гепатоцитов, состояние кровеносных сосудов, состояние цитоплазмы гепатоцитов. Цитометрические исследования проводили с помощью окуляр-микрометра с ценой деления, определенной для каждого микроскопа индивидуально.

Многолетние исследования печени судака *Stizostedion lucioperca* Азовского бассейна позволили описать ее нормальную структуру и выявить ряд характерных изменений в ее строении. Эти изменения свидетельствуют о нарушении обменных процессов, которые приводят к развитию липидной и гидропической дистрофии, накоплению пигментов и некротическим изменениям.

Нормальная морфология печени судака. Функциональной единицей является образованная гепатоцитами печеночная трубочка с центральным печеночным капилляром. Печеночные трубочки

разделены синусоидами. Желчные протоки встречаются редко и выглядят как трубочки с кубическим эпителием, окруженные соединительной тканью разной толщины. В печень врастают ткани панкреатической эндокринной железы, которые распределены относительно равномерно. Меланомакрофаговые центры небольшие, расположены около кровеносных сосудов и желчных протоков. Морфология гепатоцитов чаще всего зависит от количества липидов и гликогена. Одновременно отмечается инфильтрация стенок сосудов, скопления лимфоцитов в синусах. Среди лимфоцитов встречаются небольшие группы миелоидных элементов. На рисунке 1 представлена нормальная структура печени судака.

Зернистая дистрофия. Часть гепатоцитов увеличена в размерах. В ядре отмечаются многочисленные ядрышки и зернистая цитоплазма. Описанные изменения свидетельствуют о высокой функциональной активности печеночных клеток без каких-либо признаков их повреждения и являются морфологическим выражением адаптации гепатоцитов к недостатку кислорода.

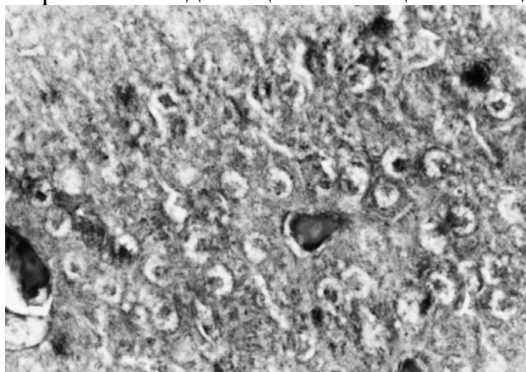


Рисунок 1. Печень судака, норма. Ув. 100×10^x

Гидропическая дистрофия. Гепатоциты печени содержат вакуоли неправильной формы. Встречаются клетки, цитоплазма которых полностью замещена одной вакуолью. Ядра таких клеток пикнотичные или лизированные. Эти морфологические изменения соответствуют гидропической дистрофии, свидетельствуют о снижении синтеза белка и могут привести к развитию некрозов паренхимы.

Стромальные изменения, как при зернистой, так и при гидропической дистрофии проявляются в набухании и округлении клеток синусоидов. Строма при этом не изменяется, а портальная соединительная ткань представлена узкими полосками волокон. Изредка отмечается фиброз стромы.

Жировая дистрофия. Носит очаговый или диффузный характер. Происходит переключение обмена клеток печени, содержащих жир, на метаболический путь прямого окисления, более адекватный в условиях интоксикации. Тяжесть повреждения печени при её ожирении определяется выраженностью дистрофических изменений в гепатоцитах, не содержащих жир.

Описанные выше изменения могут привести к более интенсивной гиперемии печени: что проявляется в расширении по периферии органа мелких лакуноподобных капилляров, а в центре – крупных венозных лакун. Наиболее распространенным типом патологии является накопление липидов в паренхиме печени.

Патологические изменения в печени судака представлены в основном паренхиматозной дистрофией. К ней относятся липидная и гидропическая дистрофия различной силы тяжести. При таких нарушениях цитоплазма гепатоцитов заполнена жировыми вакуолями округлой формы с четкой границей. Ядро с конденсированным хроматином располагается эксцентрично. В целом гепатоциты гипертрофированны (рисунок 2). У рыб встречается гидропическая дистрофия гепатоцитов и эпителиальных клеток желчных протоков. Чаще у самцов наблюдаются диффузно расположенные вакуолизированные клетки. Форма клеток неправильная, ближе к овальной. Цитоплазма заполнена полностью одной прозрачной вакуолью. Ядра пикнотичные и оттеснены на периферию клеток. Вне зоны гидропической вакуолизации структура печеночной ткани относительно сохранена. Довольно часто отмечается накопление пигментов.

При гистологическом исследовании печени судака выявляется наличие в цитоплазме гепатоцитов разной величины жировых вакуолей. Наблюдается дискомплексация балочной структуры, гепатоциты имеют округлую форму (рисунок 3). Ядра смещены на периферию, гетерохромны и уплощены. Границы клеток и очертания ядер различимы с трудом. В цитоплазме гепатоцитов отмечаются скопления мелкой ацидофильной зернистости. Центролобулярная гидропическая вакуолизация представляет собой изолированные группы из двух-шести клеток в центре печеночных трубочек (рисунок 4).

Проведенные нами исследования показали, что при хронических поражениях печени происходит активный метаболизм коллагена в органе. Активация патологического процесса в печени всегда сопровождается усилением синтеза коллагена, что приводит к ухудшению состояния паренхимы (рисунок 5). У рыб с хроническим заболеванием печени отмечается низкое содержание лейкоцитов из-за скопления их в селезенке, которая при этом увеличивается в размере.

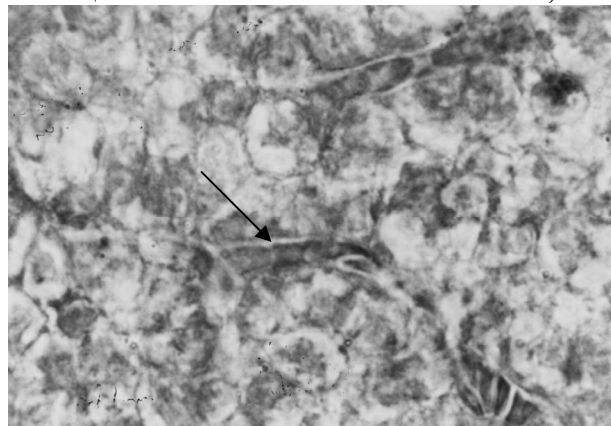


Рисунок 2. Печень судака, крупноклеточная вакуолизация гепатоцитов (жировая дистрофия). Ув. 100×10^x

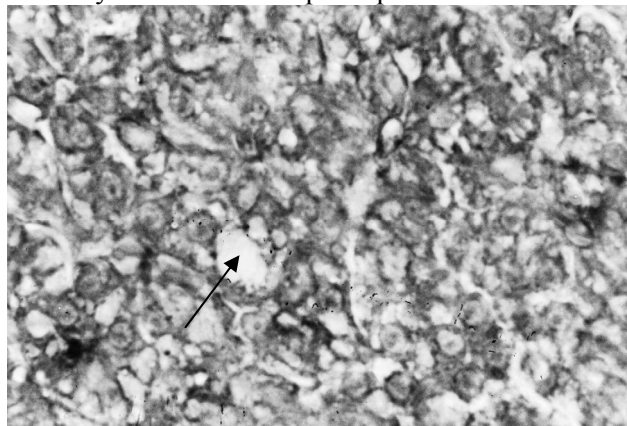


Рисунок 4. Печень судака, межклеточная вакуолизация гепатоцитов. Ув. 100×10^x

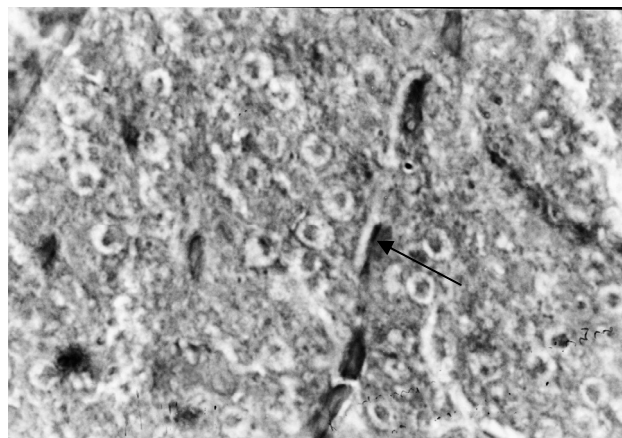


Рисунок 3 Печень судака, расширение межбалочных пространств. Ув. 100×10^x



Рисунок 5. Печень судака, деструкция коллагена вокруг сосуда. Ув. 100×10^x

При воспалительной реакции в печени отмечается выраженная гиперплазия фолликулов с появлением крупных реактивных центров, в них увеличена количество бластных клеток. Иногда наблюдается возрастание числа зрелых и незрелых плазматических клеток и умеренное расширение синусоидов. При хроническом заболевании печени отмечается гиперплазия фолликулов: объем белой пульпы увеличивается до 80 %. В тоже время синусоиды расширяются, в ряде случаев до венозной гиперемии.

Ткань печени судака обладает высокой способностью к быстрому восстановлению. Так, накопление пигментов снижается с 35 – 40 % в декабре до 20 % в июне. Некротические изменения держатся на одном уровне, но деструкция коллагена, связанная с компенсаторным восстановлением эндотелия сосудов возрастает с 30 % до 90 %. Очаги регенерации также увеличиваются с декабря к июню (9 – 50 %). С завершением нереста и повышением температуры снижается количество рыб с жировой и гидропической дистрофией. Снижение патологических изменений от зимы к лету связано с важнейшей ролью печени - преобразованием питательных веществ в энергию. Повышенная температура воды обеспечивает постоянный отток жировых веществ из паренхимы и предотвращает чрезмерное отложение жира в гепатоцитах.

Для выявления степени патологии (деструкции) печени предложена модифицированная пятибалльная шкала (по Земкову Г.В.), в которой приведено описание и оценка характерных изменений в ткани этого органа (таблица 1).

Таблица 1. Шкала для оценки морфологических изменений печени

Характер морфологических изменений	Балл
Дискомплексация печеночных балок. Обширные клеточные инфильтраты вокруг портальных трактов и сосудов. Фибриноидное набухание стенок сосудов.	5
Крупновакуолизированные гепатоциты, выраженные инфильтраты вокруг сосудов и портальных трактов. Полнокровие, стазы. Утолщение и гиалиноз сосудистых стенок	4
Вакуольная дистрофия печеночных клеток. Периваскулярные и перипортальные инфильтраты. Утолщение стенок сосудов.	3
Мелковакуолизированные гепатоциты, небольшие островки пигмента. Сосуды без изменений	2
Отсутствие изменений	1

Отмеченные нарушения и отклонения в клетках печени происходят вследствие воздействия некоторых загрязняющих веществ (наиболее тяжелую форму токсической гепатопатии вызывают отравления хлорорганическими пестицидами (ХОП), а также влияния резких изменений абиотических факторов, таких как температура и соленость воды, продолжительность ледостава и других.

Список литературы

- Земков Г.В. Морфофункциональные критерии толерантности рыб при кумулятивном токсикозе. - Автореферат на соиск. уч. степ. д.б.н. Астрахань, 2003. 60 с.
 Роскин Г.И. Микроскопическая техника. М.: Изд-во «Советская Наука», 1951. 447 с.
 Пирс Э. Гистохимия. 1962. М.: Изд. иностр. лит-ры. - 929 с.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СПИКАРЫ, ОБИТАЮЩЕЙ В ПРИБРЕЖНЫХ РАЙОНАХ Г. СЕВАСТОПОЛЯ (ЧЕРНОЕ МОРЕ)

Е.Н. Скуратовская, Н.С. Кузьмина

Институт биологии южных морей НАН Украины

пр. Нахимова, 2, Севастополь 99011, Украина, skuratovskaya2007@rambler.ru

В связи с усилением антропогенной нагрузки на морские акватории в современных исследованиях особое внимание уделяется изучению влияния неблагоприятных факторов на состояние гидробионтов. Все большую популярность приобретают методы комплексной экотоксикологической оценки водной среды, основанные на анализе ответных реакций обитателей на действие различных неблагоприятных факторов. Поиск и область применения биомаркеров и биоиндикаторов для экологической характеристики водных объектов является перспективным направлением, позволяющим быстро получить адекватную информацию о состоянии среды по откликам биоты (Моисеенко, 2005, Руднева, 2006).

Рыбы как представители высшего трофического звена в прибрежных сообществах играют важную роль и в наибольшей степени потребляются человеком, что заслуживает особого внимания ученых. В мониторинговых исследованиях в качестве биомаркеров состояния рыб и среды их обитания используют показатели различного уровня (Овен и др., 2000, Руднева, 2006). Однако при изучении влияния загрязнения на биомаркеры рыб многие исследователи не уделяют должного внимания их сезонным вариациям, что не позволяет судить о корректности полученных результатов. В то же время сведения о колебаниях морфофизиологических и биохимических показателей рыб в течение года в литературе ограничены.

Одним из массовых прибрежных видов черноморских рыб является спикара. Специального промысла, и, соответственно орудий лова спикары не существует, однако ее прилов с хамсой, сельдью и другими черноморскими рыбами весьма высок. Так, с 1920 – по 1922 год ее добыча по всему Кавказскому побережью Черного моря исчислялась в 950 ц, что в то время составляло 2.5 % к общему вылову (Пробатов, Москвин, 1940). Только в прибрежной части г. Севастополя в бухтах Карантинной и Севастопольской процент встречаемости спикары от общей численности всех видов рыб составлял в течение 2003 – 2007 гг. от 6.42 до 21.75 %. Цель настоящей работы заключается в анализе сезонной динамики величин индексов печени и селезенки, упитанности, гонадо-

соматического индекса, а также активности антиоксидантных ферментов эритроцитов крови спикары, обитающей в прибрежных районах г. Севастополя (Черное море).

Объектом исследований являлась спикара *Spicara flexuosa* (Rafinesque), отловленная с помощью донных ловушек с июля 2002 по июль 2008 г. Изучение морфофизиологических параметров проводили на рыбах, обитающих в двух бухтах г. Севастополя (Карантинная и Мартынова). Биологический анализ, а также расчет индексов печени (ИП) и селезенки (ИС), гонадо-соматического индекса (ГСИ), упитанности (Упит.) проводили по методам, описанным ранее (Правдин, 1966; Шварц и др., 1968). Сезонная динамика ИП изучена на 1178 экз., ИС – 360 экз., ГСИ – 1365 экз., Упит. – 1476 экз., активность антиоксидантных ферментов – 75 экз.

Кровь отбирали из хвостовой артерии, получали гемолизаты, в которых определяли активность антиоксидантных ферментов каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы, глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГТ) спектрофотометрическими методами (Руднева, 1997). Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0.05$.

Для выявления общих закономерностей функционирования антиоксидантной ферментной системы эритроцитов крови рыб был рассчитан интегральный показатель ферментной антиоксидантной активности (ИП ФАОА), представляющий арифметическую сумму активностей всех исследуемых ферментов (Руднева и др., 2005).

На основании наших предыдущих исследований было установлено, что ИП спикары незначительно изменяется у особей разных размерных групп, зависит от пола (у самок выше) и имеет максимальные величины у рыб в период нереста (Кузьмина, 2005).

Показано, что, несмотря на то, что ИП широко используется в качестве биоиндикатора негативного влияния условий обитания (Герман и др., 2002; Герман, 2003; Кузьмина, 2006), у спикары этот показатель четко не отражает действие антропогенного фактора. Это, по-видимому, связано с биологией вида, а именно с тем, что спикара высокоподвижный, придонно-пелагический вид, имеющий весьма широкий спектр питания (Салехова, 1979), что формирует подверженность печени различным факторам. В то же время высказано предположение, что увеличение ИП у самцов спикары из более загрязненной акватории свидетельствует об их большей чувствительности и, соответственно, уязвимости (Кузьмина, 2005).

Высокая величина ИП летом 2002 – 2008 гг. (рис. 1) частично может быть связана с адаптивными процессами, происходящими в печени в период наибольшей антропогенной нагрузки. При анализе сезонной зависимости величины ИП можно предположить, что весной и летом увеличение ИП связано с репродуктивным периодом, то есть участием печени в синтезе белков, необходимых для построения генеративного материала.

Осенью отметили спад этого показателя до $10.65 \pm 0.17 \%$, что объясняется окончанием нереста. Несмотря на то, что осенью и зимой величины ГСИ самые низкие, ИП спикары зимой высокий. Этот факт может быть обусловлен тем, что спикара в холодный период года имеет наибольший индекс наполнения желудка и высокую жирность (Салехова, 1979; Смирнов, 1959). Подобная зависимость между ИП и пищевым рационом рыб была отмечена другими исследователями (Грант, Браун, 1999; Торариссон и др., 1994; Зоккарато и др., 1996). Это подтверждается и данными об упитанности спикары: в летний период этот показатель минимален, а осенью-зимой имеет наибольшие значения (рис. 1). Такая тенденция была отмечена для этого вида и ранее, причем годовая динамика упитанности совпадала с таковой по жирности (Салехова, 1979).

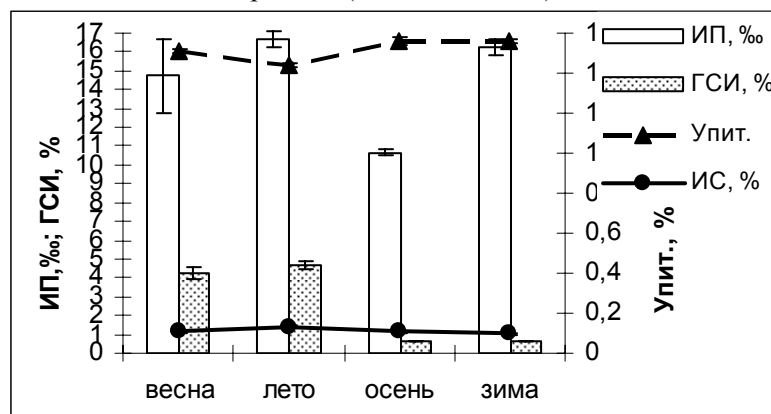


Рис. 1. Сезонные вариации некоторых морфофизиологических параметров спикары (*Spicara flexuosa* (Rafinesque)), обитающей в прибрежной зоне г. Севастополя в 2002 - 2008 гг.

Изменения ГСИ в течение годового цикла в 2002 – 2008 гг. закономерны. Следует отметить, что максимальные величины ГСИ в указанный период наблюдали в мае – июле; самый продолжительный нерест отметили в 2005 и 2007 гг.

Сезонная зависимость ИС аналогична таковой по ИП, однако в первом случае величины индекса изменяются незначительно (рис. 1). Интенсификация кроветворной функции спикары подтверждается тем, что содержание гемоглобина и эритроцитов у этого вида максимально именно во все летние месяцы (Котов, 1973).

В табл. 1 приведены значения активности исследуемых ферментов в эритроцитах крови спикары. Активность каталазы минимальна у рыб в осенний период по сравнению с остальными сезонами ($p < 0.05$). Для пероксидазы максимальные значения установлены в эритроцитах крови спикары в зимний период ($p < 0.05$). Активность СОД, ГР и ГТ не имеет достоверных отличий в разные сезоны года, однако отмечена тенденция увеличения активности СОД и ГТ, а также ИП ФАОА в эритроцитах крови рыб в весенне-летний период (табл. 1).

Изменение активности антиоксидантных ферментов в течение года может быть связано как с существованием сезонных физиологических ритмов, обусловленных колебаниями температурного режима, так и с различным уровнем антропогенной нагрузки в каждый период года. При этом обе группы факторов тесно взаимосвязаны между собой. С одной стороны, с повышением температуры наблюдается интенсификация обменных процессов в организме рыб, подготовка к нересту и нерест. Преднерестовый и нерестовый периоды характеризуются высоким уровнем метаболизма у спикары и сопровождается интенсивным питанием. В это время у рыб отмечен максимальный уровень тканевого дыхания (Шульман, 1972). С другой стороны, в связи с повышением температуры, увеличивается рекреационная нагрузка на прибрежные акватории, что способствует попаданию в организм высоких концентраций биогенов и ксенобиотиков. Все это приводит к росту активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови рыб в теплый период года.

Таблица 1. Активность антиоксидантных ферментов (на мг Нб/мин, $M \pm m$) в эритроцитах крови спикары в разные сезоны года

Фермент	Зима n=24	Весна n=20	Лето n= 9	Осень n=22
Каталаза, мг H_2O_2	0.48±0.05**	0.62±0.10**	0.68±0.15**	0.33±0.02
СОД, усл. ед.	156.91±17.19	219.78±44.61	232.87±52.53	150.07±24.40
Пероксидаза, опт. ед.	25.47±3.65	5.38±0.72*	9.82±5.55*	9.23±2.57*
ГР, нмоль НАДФН	3.61±0.82	3.78±1.01	3.12±1.11	1.83±0.40
ГТ, нмоль ХДНБ	10.58±3.67	18.42±3.18	17.19±7.45	12.53±4.01
ИП ФАОА	197.05	247.98	263.68	173.99

Примечание:

* – различия достоверны по сравнению с показателями зимнего, - ** – осеннего периода ($p < 0.05$);
n – количество особей

Зимой, в связи с падением температуры воды, уровень метаболизма у рыб снижен, потребление кислорода и тканевое дыхание гораздо меньше, чем в остальные сезоны; питание в значительной степени сокращено (Шульман, 1972). Рекреационная нагрузка на акватории снижается, в связи с чем активность ферментов в крови в данный период года падает.

Аналогичные данные получены другими исследователями. В частности, отмечено увеличение активности каталазы и ГТ в печени горбыля *Micropogonias furnieri* в летний период по сравнению с зимним (Амандо и др., 2006). Этими же исследователями установлены максимальные значения активности каталазы в печени бразильской камбалы *Paralichthys orbignyanus* весной по сравнению с другими периодами года. Однако для ГТ сезонных изменений в активности не обнаружено (Амандо и др., 2006). У байкальского омуля также отмечены сезонные вариации параметров СОД: в весенний период активность фермента в эритроцитах повышается, возможно, за счет большей аэрации воды и соответственно большого потребления кислорода (Дубинина и др., 1988).

В наших исследованиях обращает на себя внимание увеличение активности пероксидазы в эритроцитах крови спикары зимой и ее низкие значения в весенне-летний периоды в отличие от

других ферментов. Как известно, пероксидаза чувствительна к нефтяному загрязнению, и ее активность увеличивается с ростом концентрации углеводородов нефти, попадающих из морской среды в организм гидробионтов (Королев и др., 1980). Низкие значения активности фермента в крови рыб в теплое время года могут быть связаны с высокой численностью нефтеразрушающих микроорганизмов в воде, интенсивно утилизирующих и разлагающих нефтепродукты.

Таким образом, результаты исследований позволили установить, что изученные параметры спикары подвержены сезонным вариациям. Это связано как с существованием физиологических ритмов (преднерестовый и нерестовый периоды), так и с изменением интенсивности рекреационной нагрузки на морские акватории в течение года. Для корректного применения данных параметров в качестве биомаркеров состояния рыб и среды их обитания исследования следует проводить в единый сезон.

Список литературы

- Дубинина Е.Е., Данилова Л.А., Ефимова Л.Ф. и др. Активность супероксиддисмутазы и содержание метгемоглобина в эритроцитах человека и животных // Журн. эволюц. биохим. и физиол. – 1988. – Т. 24, № 2. – С. 171 – 175.
- Герман А.В. Применение гепатосоматического индекса рыб в целях биоиндикации и биомониторинга. 2-й съезд токсикологов России. Тез. докл. 10 – 13 нояб. 2003г., - М.–2003.-С.75–76.
- Герман А.В., Чуйко Г.М., Флеров Б.А., Тиллитт Д., Зайчек Д. Морфометрические и физиолого-биохимические показатели рыб как биоиндикаторы загрязнения водоемов // Современные проблемы водной токсикологии. Всерос. конф. с участием специалистов из стран ближнего и дальнего зарубежья, 19 – 21 ноября 2002 г., Борок. – 2002. - С. 31 - 32.
- Королев А.М., Семина Т.К., Мазманиди Н.Д. Влияние водорастворимой фракции нефти на некоторые характеристики сыворотки крови черноморской смариды // Биология моря. – 1980. – №1.–С.69–79.
- Котов А.М. Сезонная динамика морфологического состава и углеводного обмена крови у ряда черноморских рыб // Экологическая физиология рыб: Тез. докл. всесоюз. конф. по экологич. физиологии рыб, 24 – 26 янв. 1973 г. – 1973. – С. 169 – 170.
- Кузьминова Н.С. Зависимость индекса печени спикары от физиологического состояния рыб, а также условий обитания // Системы контроля окружающей среды. Средства и мониторинг: Сб. науч. трудов. - Севастополь, 2005. - С. 302 – 304.
- Кузьминова Н.С. Оценка токсического действия хозяйственно-бытовых сточных вод на морские организмы: Дис. канд. биол. наук: 03.00.16 / МГУ. – М., 2006. – 168 с.
- Моисеенко Т.И. Экотоксикологический подход к оценке качества вод // Водные ресурсы. – 2005. – Т. 32, №2 – С. 184 – 195.
- Овен Л.С., Руднева И.И., Шевченко Н.Ф. Ответные реакции морского ерша *Scorpaena porcus* на антропогенное воздействие // Вopr. ихтиологии. – 2000. – Т. 40, № 1. – С. 75 – 78.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищ. пром., 1966. – 376 с.
- Пробатов А.Н., Москвин Б.С. Материалы к систематике и биологии смариды (*Smaris S.spicara chryselis* Cuvier et Valenciennes) северо-восточной части Черного моря // Тр. Новорос. биол. ст. им. В.М. Арнольди. – 1940. – Т. II, вып. 3. – С. 191 – 208.
- Руднева И.И. Применение биомаркеров рыб для экотоксикологической диагностики водной среды // Риб. госп-во Укр. – 2006. - № 1. – С. 20 – 23.
- Руднева И. И., Залевская И. Н., Мельникова Е. Б. // Заповедники Крыма: заповедное дело, биоразнообразие, экообразование: Материалы III науч. конф., 22 апр., 2005 г. – Ч. II. - Симферополь, 2005. - С. 223 – 228.
- Салехова Л.П. Смаридовые рыбы морей Средиземноморского бассейна. – К.: Наукова Думка, 1979. – 169 с.
- Смирнов А.Н. Материалы по биологии рыб Черного моря в районе Карадага // Тр. Карадаг. биол. станции АН УССР. – 1959. - Вып. 15. – С. 31 – 109.
- Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // Тр. Ин-та экологии растений и животных. – 1968. - Вып. 58. – 386 с.
- Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. – М.: Пищ. пром., 1972. – 368 с.
- Amando L. L. et al. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects // Mar. Pollut. Bull. - 2006. – Vol. 52. – P. 199 – 206.
- Amando L. L. et al. Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil) // Mar. Pollut. Bull. - 2006. – Vol. 52. – P. 207 – 213.
- Grant S.M., Brown J.A. Variation in condition of coastal Newfoundland 0-group Atlantic cod (*Gadus morhua*): field and laboratory studies using simple condition indices // Mar. Biol. – 1999. - Vol. 133, № 4. – P. 611 – 620.

- Rudneva I. I. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts // Comp. Biochem. Physiol. – 1997. – Vol. 118 C, № 2. P. 255 – 260.
- Thorarisson R., Landolt M.L., Elliott D.G., Pascho R.J., Hardy R.W. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence of *Renibacterium salmoninarum* infection in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Aquaculture – 1994. - Vol. 121, № 4. – P. 343 – 358.
- Zoccarato I., Gasco L., Sicuro B., Palmegiano G.B., Boccignone M., Bianchini M.L., Luzzana U. Use of a by-product from poultry slaughtering in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeding // Riv. Ital. Acquacolt.– 1996. - Vol. 31, № 3. – P. 127 – 134.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ТКАНЕЙ ГИДРОБИОНТОВ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ЭКОДИАГНОСТИКИ (ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ)

А.А. Солдатов, О.Л. Гостюхина, И.В. Головина

Институт биологии южных морей НАН Украины
пр. Нахимова, 2, Севастополь 99011, Крым, Украина, gostolga@yandex.ru

Большинство известных ксенобиотиков реализует свое токсическое действие через механизмы перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к окислительному повреждению клеток [13, 14, 15, 23]. Считается, что изучение окислительного стресса и систем, обеспечивающих его контроль, позволяет оценивать биологические эффекты загрязнения и качество окружающей среды [14, 15, 23]. Особое место в этих исследованиях занимает изучение молекулярных систем детоксикации и защиты тканей, среди которых одна из ведущих ролей принадлежит ферментативной антиоксидантной системе (АОС) [13, 15, 23]. В связи с этим параметры АО комплекса и ПОЛ гидробионтов широко применяются в качестве биомаркеров при диагностике состояния и качества водной среды [6, 9, 13, 15].

Идеальный биомаркер токсичности должен реагировать только на действие ксенобиотиков [20]. Однако на практике большинство биомаркеров не соответствуют этим критериям. Не составляет исключение и АО комплекс. Показано, что компоненты АОС и процессы ПОЛ у гидробионтов проявляют высокую вариабельность, так как зависят от физиологических состояний организма (репродуктивные циклы, возраст) и действия естественных абиотических факторов (температуры, концентрации кислорода, солености и других) [14, 17, 20, 22]. Кроме того, уровень АО активности и ПОЛ имеет и тканеспецифические особенности [1, 10, 11, 19].

Следует отметить, что многие авторы, занимающиеся экодиагностикой, не всегда учитывают естественную динамику активности АО ферментов и процессов ПОЛ, анализируют состояние различных тканей. Такой подход может привести к неадекватной трактовке полученных результатов, особенно если естественные флуктуации состояния АОС и уровня ПОЛ могут не только накладываться, но в ряде случаев и перекрывать эффекты ксенобиотиков [17, 20].

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения влияния естественного и искусственного окислительного стресса на АО ферментативный комплекс тканей и процессы ПОЛ у двусторчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam.

Объектом исследования служили взрослые особи *Mytilus galloprovincialis* Lam. (черная морфа) обоего пола и одного срока оседания. Длина раковины – 50-60 мм. Моллюски собраны с коллекторных установок НИЦ «Государственный океанариум» в бухте Казачья и с коллекторов ЧП «Морепродукт» в Севастопольской бухте (район Севастополя, Черное море).

Препарирование тканей у моллюсков осуществляли на холоду с использованием ледяной бани при температуре 0-4°C. Образцы тканей гепатопанкреаса, жабр и ноги упаковывали в фольгу и хранили в жидком азоте. Определяли активность следующих ферментов АО защиты клеток: глутатионпероксидазы (ГП) по накоплению окисленного глутатиона (GSSG) [7], глутатионредуктазы (ГР) по убыли НАДФ·H₂ [7], супероксиддисмутазы (СОД) по восстановлению нитросинего тетразолия [7] и каталазы (КАТ) по снижению концентрации H₂O₂ [2]. Температура инкубационной среды поддерживалась на уровне 25,0±0,5°C. Одновременно оценивали содержание в тканях восстановленного глутатиона (GSH) по реакции с аллоксановым реактивом [8], ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [18] и белка по методу Лоури [16].

Выполнено 2 серии модельных экспериментов, посвященных изучению влияния на состояние АО комплекса моллюсков естественного (нерест) и искусственного (действие тетрадецилтриметиламмоний бромида, далее ТДТМА) окислительного стресса.

- Нерест индуцировали в лаборатории методом температурного шока. О состоянии нереста судили по факту выброса половых продуктов. Моллюсков разделили на 2 группы. К первой группе отнесли особей, не выметавших половые продукты (II-III стадии зрелости гонад). Во вторую группу вошли моллюски IV стадии зрелости (собственно нерестовая стадия).

- Для моделирования антропогенного окислительного стресса в качестве токсического агента использовали катионный детергент ТДТМА. Данное соединение способно индуцировать ПОЛ в клеточных мембранах и способствует развитию у моллюсков состояния окислительного стресса. Животных подвергали воздействию раствора ТДТМА в концентрации $0,8 \text{ мг л}^{-1}$ в течение 8 суток.

Цифровой материал обработан статистически с использованием t-критерия Стьюдента. О нормальности распределения значений в выборочных совокупностях судили на основе сопоставления значений моды и средней арифметической. Результаты в таблице и на рисунках представлены как $M \pm m$.

Естественный окислительный стресс

Сравнительный анализ показал, что уровень ТБК-АП в жабрах в период нереста повышался на 92.7% ($p < 0.001$), а в гепатопанкреасе – на 54.3% ($p < 0.01$) (рис. 1). В ноге животных статистически значимых различий найдено не было. Одновременно активность ГП в гепатопанкреасе увеличивалась в 1.75 раза ($p < 0.001$), а КАТ на 45.5% ($p < 0.05$) (рис. 2). Значительный рост активности КАТ и ПЕР отмечен также в ноге животных – в 1.7 и 1.8 раза ($p < 0.001$) соответственно (рис. 2). В жабрах активности всех исследованных ферментов сохранялись на уровне контрольных величин.

Рост активности КАТ, обнаруженный в ткани гепатопанкреаса и ноги, может быть обусловлен наличием среди различных видов активных форм кислорода значительной доли H_2O_2 , специфически инактивируемой данным ферментом. Гидроперекисные соединения в сравнительно низких концентрациях эффективно обезвреживаются ГП и ПЕР, о чем свидетельствует повышение активности данных фермента в нерестовый период [5]. Однако в случае лавинообразного нарастания продуктов ПОЛ в защитные реакции организма включается КАТ, что, вероятно, и наблюдается в гепатопанкреасе и ноге моллюсков в период нереста.

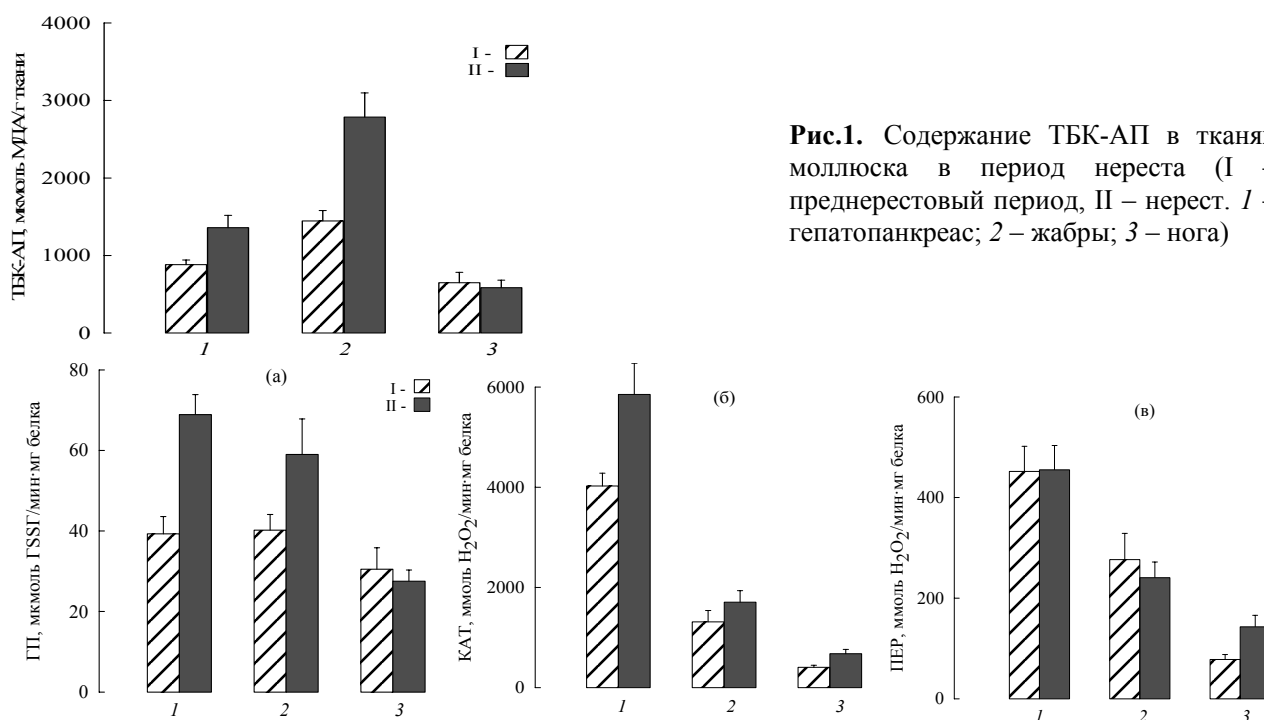


Рис.2. Активности ГП (а), КАТ (б) и ПЕР (в) в тканях моллюска в период нереста (I – преднерестовый период, II – нерест; 1 – гепатопанкреас, 2 – жабры, 3 – нога)

Отсутствие защитных реакций ферментов пероксидазного комплекса жабр может объясняться, с одной стороны, низкой эффективностью КАТ и ПЕР в данном органе [12, 21], а, с другой стороны, высокой инактивирующей способностью ряда активных кислородных метаболитов по отношению к белкам. Показано ингибирующее действие супероксидного анион-радикала, H_2O_2 и OH^\cdot на активность каталазы и ГП [4]. Это позволяет допустить, что результатом их комплексного воздействия является нарушение структуры, а следовательно, и функциональных свойств глутатионпероксидазных ферментов жабр, работающих исключительно с низкими концентрациями H_2O_2 .

Таблица 1. Влияние ТДТМА на содержание ТБК-АП в тканях мидий (n – число особей)

Ткани	ТБК-АП, мкмоль МДА/мг белка			
	контроль		опыт	
	n	M ± m	n	M ± m
Гепатопанкреас	17	445.9±59.9	14	432.4±32.0
Жабры	17	260.1±28.5	14	379.9±36.8
Нога	17	227.5±38.7	14	480.8±117.5

Искусственный окислительный стресс

Стресс создавался путем введения в морскую воду ТДТМА в концентрациях близких к естественным (0.8 мг/л; экспозиция 8 суток). На этом фоне производилась оценка состояния АО ферментной системы.

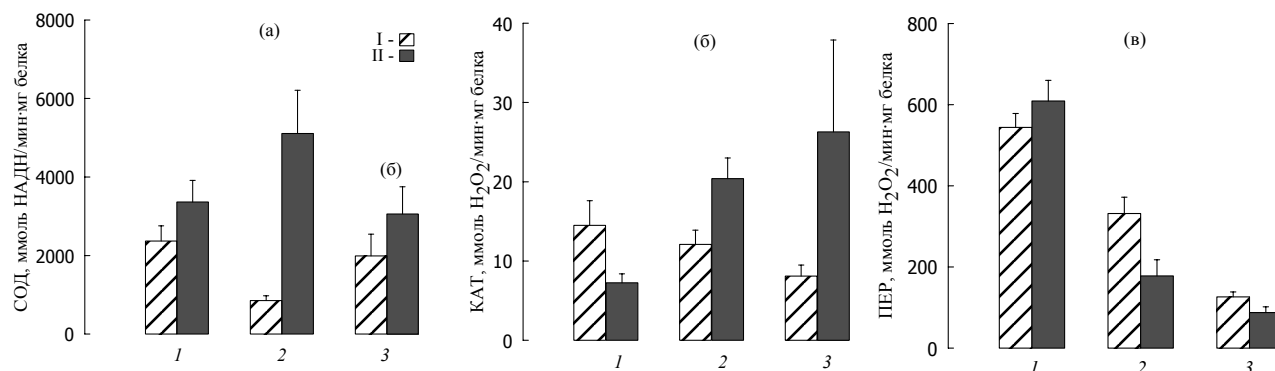


Рис. 3. Влияние ТДТМА на активность СОД (а), КАТ (б) и ПЕР (в) в тканях моллюска (I – контроль, II – опыт, 1 – гепатопанкреас; 2 – жабры; 3 – нога)

Значительные изменения происходили на уровне периферических тканей моллюска, которые непосредственно контактировали с ТДТМА. Уровень ТБК-АП в жабрах и ноге повышался соответственно на 46.1 и 111.3 % ($p < 0.01$) (табл. 1). В гепатопанкреасе изменения не были выражены. На этом фоне отмечали существенное увеличение активности СОД, нейтрализующей O₂⁻ (рис. 3). В жабрах активность фермента повышалась в 6 раз ($p < 0.001$). Одновременно увеличивалась активность КАТ в 1.7 и 3.2 раза ($p < 0.05$) соответственно в жабрах и ноге моллюска. Активность ПЕР, нейтрализующей низкие концентрации перекисей, напротив, понижалась соответственно на 56.3 и 30.6 % ($p < 0.05$) (рис.4).

ГПС не принимала участие в компенсации окислительных процессов. Об этом свидетельствовало снижение активности ГП в жабрах на 36.8 % ($p < 0.05$) (рис. 4). В ноге и гепатопанкреасе изменения не были выражены. При этом активность ГР повышалась в жабрах и ноге на 44.6 % ($p < 0.01$) и 70.5 % ($p < 0.05$), что приводило к значительному увеличению содержания глутатиона в этих тканях.

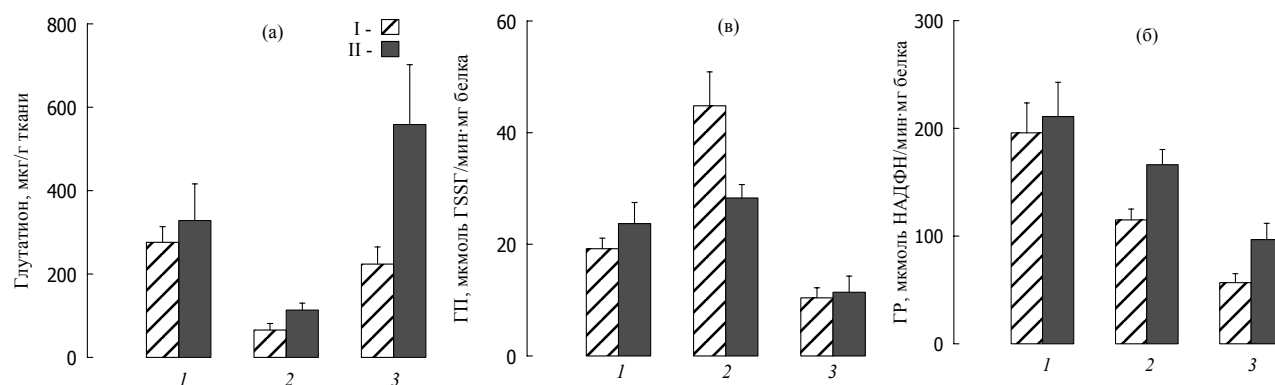


Рис. 4. Влияние ТДТМА на состояние глутатионпероксидной системы: ГСН (а), ГП (б), ГР (в), моллюска (1 – гепатопанкреас, 2 – жабры, 3 – нога)

Высокая активность КАТ и низкие активности ГП и ПЕР свидетельствует о наличии повышенных концентраций H_2O_2 в периферических тканях моллюска. Наращивание ресурсов глутатиона можно рассматривать, как подготовку тканей к нейтрализации низких концентраций перекисей, когда работа КАТ станет малоэффективной [3].

Из представленных результатов исследований видно, что реакции АО комплекса гепатопанкреаса и жабр моллюсков в условиях обоих типов окислительного стресса были противоположными. АО система гепатопанкреаса проявила наибольшую чувствительность к естественным состояниям моллюсков, а жабр – напротив, к влиянию антропогенной токсической нагрузки. Изменения же активностей ферментов без учета их тканевой специфики в условиях естественного и искусственного окислительного стресса были сопоставимы. Это означает, что для целей экодиагностики у гидробионтов следует выбирать тканевые структуры малочувствительные к естественным состояниям. У моллюсков таким органом являются жабры.

Список литературы

- Александрова О.Л., А.А. Солдатов, И.В. Головина Особенности глутатионпероксидной системы в тканях двух цветовых морф черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. – 2001. – Вып. 58. – С. 22-26.
- Гири С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лаб. диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45-46.
- Гостюхина О.Л., Солдатов А.А., Головина И.В. Влияние тетрадецилтриметиламмоний бромида на состояние ферментативной системы антиоксидантной защиты тканей черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Доп. НАН України – 2007. – № 11. – С. 147-151.
- Дубинина Е.Е., И.В. Шугалей Окислительная модификация белков // Усп. соврем. биол. – 1993. – Т. 113, вып.1. – С. 71-81.
- Меньшикова Е.Б., Н.К. Зенков Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. соврем. биол. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 442-455.
- Овен Л.С., И.И. Руднева, Н.Ф. Шевченко Использование биомаркеров для оценки состояния черноморской спикары *Spicara flexuosa* (Centracanthidae) // Вопр. ихтиологии. – 2000. – Т. 40, № 6. – С. 810-815.
- Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20-23.
- Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Методы биохим. исслед.- Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – С.183-186.
- Руднева И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов // Усп. соврем. биол. – 2003. – Т. 123, № 4. – С. 391-400.
- Руднева-Тимова И.И. Соотношение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в тканях черноморской мидии // Гидробиол. журн. – 1996. – Т. 32, №5. – С. 50-57.
- Солдатов А.А., О.Л. Александрова, И.В. Головина, Столбов А.Я. Ферментативная система антиоксидантной защиты у черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. с пигментированными и депигментированными тканевыми структурами // Доп. НАН України – 2003. – № 5. – С. 162-166.
- Солдатов А.А., Гостюхина О.Л., Головина И.В. Состояние антиоксидантного ферментативного комплекса тканей черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях естественного окислительного стресса // Журн. эволюц. биох.физиол. – 2008. – Т. 44, № 2. – С. 150-155.
- Di Giulio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress // Environ. Toxicol. Chem. – 1989. – Vol. 8. – P. 1103-1123.
- Gorinstein S., Moncheva S., Katrich E. Antioxidants in the black mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as an indicator of Black Sea coastal pollution // Mar. Poll. Bull. – 2003. – Vol. 46. – P. 1317-1325.
- Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // Mar. Pollut. Bull. – 2001. – Vol. 42, № 8. – P. 656-666.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – № 266. – P. 75.
- Niyogi S., Biswas S., Sarker S. Antioxidant enzymes in brackishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences // Sci. Tot. Environ. – 2001. – Vol. 281. – P. 237-246.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analyt. Biochem. – 1979. – Vol. 95, № 1. – P. 351-358.
- Pena-Llopis S., Ferrando M.D., Pena J.B. Impaired glutathione redox status is associated with decreased survival in two organophosphate-poisoned marine bivalves // Chemosphere. – 2002. – Vol. 47, № 5. – P. 485-497.
- Sheehan D., Power A. Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve mollusks // Comp. Biochem. Physiol. – 1999. – Vol. 123C. – P. 193-199.

- Soldatov A.A., Gostyukhina O.L., Golovina I.V.* Antioxidant enzyme complex of tissues of the Bivalve *Mytilus galloprovincialis* Lam. under normal and oxidative-stress conditions: a review // *Appl. Biochem. Microbiol.* – 2007. – Vol. 43, №5. – P. 556-562.
- Vidal M.-L., Basseres A., Narbonne J.-F.* Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of *Corbicula fluminea* (Muller) // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2002. – Vol. 131C. – P. 133-151.
- Winston G.W., Di Giulio R.T.* Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // *Aquat. Toxicol.* – 1991. – Vol. 19. – P. 137-161.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ МЕХАНИЗМА МНОЖЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КСЕНОБИОТИКАМ (MXR) У ПРЕСНОВОДНЫХ АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTRIS* ПО ИНТЕНСИВНОСТИ ВЫВЕДЕНИЯ РОДАМИНА С

М.А. Тимофеев^{1,2}, Д.С. Бедулина², В.В. Павличенко²,
Т.Е. Путилина³, М.В. Протопопова², Ж.М. Шатилина^{1,2}

¹Байкальский исследовательский центр

664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия, brc.contact@gmail.com

²Иркутский государственный университет

664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россия

³Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН

Иркутск, 664033, ул. Лермонтова, 132, Россия

Большинство организмов обладают механизмами множественной резистентности к ксенобиотикам (Minier et al., 1999; Eufemia, Epel, 1998, 2000; Bard, 2000). В основе данного неспецифического процесса, известного также под названием MXR (MultiXenobiotic Resistance), лежит активность ABC- транспортеров - транспортных белков, функционирующих за счет энергии АТФ (ATP-binding cassette (ABC) transportes) (Higgins, 1992; Eufemia, Epel, 2000; Smital et al., 2003). Важнейшим белком семейства ABC-транспортеров является Р-гликопротеин. Р-гликопротеин являясь мембранным белком-переносчиком с широкой специфичностью, выводит из клеток обширный спектр ксенобиотиков (Eufemia, Epel, 2000; Smital et al., 2003 и др.). Выводящая активность Р-гликопротеина часто принимается в качестве ключевого показателя активности всей системы множественной резистентности клетки или организма (Epel, 1998; Smital, Kurelec, 1997, 1998; Smital et al., 2003).

В последнее время механизмы, лежащие в основе множественной резистентности к ксенобиотикам, привлекают внимание токсикологов. Особенно актуально данное направление для гидробиологических исследований. Так в ряде работ обсуждаются перспективы использования активности механизма MXR для оценки неблагоприятных изменений внешних условий среды (Smital, Kurelec, 1997, 1998; Eufemia, Epel, 1998; Kurelec, 1991; Smital et al., 2003). Рассматривается возможность применения показателя активности механизма MXR у водных организмов в качестве биомаркера антропогенных загрязнений водоемов (Minier et al., 1999; Kurelec, 1991).

При проведении работ по оценке активности механизма MXR наиболее часто применяют сложные иммунохимические методы - блоттинг с антителами на белки, родственные гликопротеинам или электрофорез нативных белков. Другое направление исследований включает флуориметрические методы с использованием красителей, обладающих флуоресцентной активностью. Так, при изучении функциональной активности механизма MXR широко применяют родамин С (Smital, Kurelec, 1997, 1998). Родамин С имеет флуоресцентную активность и является субстратом ABC-транспортеров, в частности Р-гликопротеина. При проникновении во внутреннюю среду организма родамин С индуцирует выводящую активность белков-переносчиков, в результате чего препарат выводится из клеток, а затем и из организма. По характеру выведения родамина С оценивают активность механизма множественной резистентности к ксенобиотикам у того или иного вида.

Флуориметрические методы оценки активности механизма множественной резистентности с использованием родамина С нашли широкое применение в медицинских исследованиях (Stein et al., 2002; Madureira et al., 2004). Напротив, в экотоксикологических работах использование данных методов ограничивалось морскими организмами, из пресноводных видов исследованы только моллюски (Kurelec et al., 1998; Smital et al., 2003). По нашему мнению, среди пресноводных организмов наиболее перспективным объектом для подобных работ являются ракообразные. Ракообразные населяют практически все виды водных экосистем и могут успешно использоваться в качестве тест- объектов для экотоксикологической оценки. Наиболее подходящей для этих целей

группой среди ракообразных являются амфиподы (Amphipoda, Crustacea). Амфиподы - типичные обитатели большого количества континентальных водоемов, успешно содержатся в лабораторных условиях, а также обладают достаточно крупными размерами, что позволяет использовать в экспериментах строго ограниченное количество особей.

Целью работы являлась проверка возможности применения метода оценки накопления/выведения родамина С для определения активности механизма множественной резистентности к ксенобиотикам (MXR) у пресноводных амфипод.

В качестве объекта исследования нами были выбраны амфиподы вида *Gammarus lacustris* Sars., обитающие практически во всех мелких пресноводных водоемах Палеарктики. Рачков отлавливали в небольшом озере прибрежной зоны оз. Байкал (пос. Большие Коты). Перед экспериментами амфипод предварительно преаклимировали к условиям лаборатории в течение 2-3 дней при температуре 6°-8°C.

В работе применяли метод, близкий к описанному в работе (Smital, Kurelec, 1998) с авторскими дополнениями (Timofeyev et al. 2007). Рачков на 1-3 ч. помещали в воду, содержащую родамин С в концентрации 2.5 ммоль/л. В ходе предварительной экспозиции (преэкспозиции) родамин С, обладая хорошей растворимостью в воде, накапливался в определенном количестве в тканях рачков. После преэкспозиции рачков вынимали из раствора препарата и не менее 3-х раз ополаскивали чистой водой. Далее часть преэкспонированных рачков забирали и фиксировали, остальных помещали в чистую воду (контрольная группа) или в условия токсического стресса. Токсический стресс индуцировали растворами CdCl_2 с концентрациями 0,05 мг/л. Эксперименты проводили в условиях, аналогичных условиям предварительной акклимации. Длительность экспериментов составляла 3 суток, в течение которых в определенные периоды времени из опыта забирали и фиксировали часть рачков. Фиксированных рачков в течение 24 ч. высушивали при 30°C, а затем гомогенизировали в бидистиллированной воде. Гомогенат центрифугировали, в отобранном супернатанте определяли уровень содержания родамина С с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5000 при 590 нм.

Как показали полученные результаты, выведение родамина С в контрольных условиях (в чистой воде) к трем суткам составило 70%(±3) от уровня первоначального накопления, что свидетельствует об активации механизма MXR. В растворах хлорида кадмия и гуминовых веществ также наблюдалось постепенное снижение содержания родамина С в тканях рачков, однако уровень его выведения к трем суткам составил соответственно 60%(±3). Таким образом, показано, что хлорид кадмия достоверно снижает активность механизма MXR у *G. lacustris*, но не инактивирует его полностью.

Представленные материалы позволяют говорить о том, что у исследованных амфипод *G. lacustris* существует механизм множественной резистентности к ксенобиотикам. Предварительная экспозиция рачков в растворах родамина С, являющегося субстратом активности белков-переносчиков, ведет к индукции активности неспецифической резистентности к ксенобиотикам. В результате препарат достаточно эффективно выводится из организма, что позволяет уже через несколько часов определить снижение его концентрации. Интоксикация рачков хлоридом кадмия ведет к снижению активности процесса выведения родамина С.

Влияние солей кадмия на MXR активность ранее было показано в работе (Achard et al., 2004). В данной работе исследовали влияние солей кадмия и цинка на активность MXR у моллюсков *Corbicula fluminea*. Было показано увеличение активности MXR механизма, однако наибольшее количество белка обнаружили у особей, подверженных воздействию растворов с наименьшей концентрацией кадмия. Так же описаны случаи, когда воздействие ряда субстратов (даже нетоксичных) вызывали ингибирование Р-гликопротеина (Kurelec et al., 1995, 1998). Материалы, полученные в нашем исследовании, также подтверждают возможность изменения MXR активности. Причины, лежащие в основе снижения эффективности выведения родамина С, могут заключаться как в непосредственном деструктивном воздействии на АВС-транспортёры, вызывающем сбой в реализации множественной резистентности, так и в повышении нагрузки на транспортные белки, что связано с дополнительной необходимостью выведения токсических компонентов из клетки.

Примененная нами методика определения активности механизма множественной резистентности к ксенобиотикам несколько отличается от общепринятых. Так, в подавляющем большинстве работ активность механизма множественной резистентности определяют измерением выведенного родамина С в воде, в которой содержатся исследуемые организмы, либо оценкой накопления препарата в присутствии ингибиторов Р-гликопротеина, либо с использованием иммунохимических методов. Мы использовали метод измерения содержания родамина С в тканях организмов, что на наш взгляд является более продуктивным, так как содержание препарата в воде может быть в крайне малых количествах, что может повлечь за собой ошибку при анализе.

Таким образом, приведенный метод определения MXR активности прост и показателен, и может успешно применяться в экотоксикологических работах для выявления интоксикации

организмов. В тоже время указанный метод не позволяет точно выявить клеточные механизмы снижения MXR активности. Для более детальной оценки, необходимо дополнительное применение иммунохимических и молекулярно-биологических подходов, позволяющих сопоставить не только активность, но количественную экспрессию транспортных белков.

Работа поддержана грантами РФФИ: № 08-04-00928-а, №08-04-10065-к.

Список литературы

- Achard M., Baudrimont M., Boudou A., Bourdineaud J.P.*, Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metals exposure. *Aquat. Toxicol.*, 2004, 67(4), P.347-357.
- Bard S.*, Multixenobiotic resistance as a cellular defense mechanism in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, 2000, 48, P.357-389.
- Epel D.*, Use of multidrug transporters as first lines of defense against toxins in aquatic organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1998, A. 120, P.23-28.
- Eufemia A., Epel D.*, The multixenobiotic defense mechanism in mussels is induced by substrates and non-substrates: Implications for a general stress response. *Mar. Environ. Res.*, 1998, 46, P.401-405.
- Eufemia A., Epel D.*, The multixenobiotic defense mechanism in mussels is induced by substrates and non-substrates: Implications for a general stress response. *Mar. Environ. Res.*, 1998, 46, P.401-405.
- Eufemia A., Epel D.*, The multixenobiotic defense mechanism in mussels is induced by substrates and non-substrates: Implications for a general stress response. *Mar. Environ. Res.*, 1998, 46, P.401-405.
- Higgins C.*, ABC transporters: from microorganisms to man. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1992, 8, P.67-113.
- Kurelec B., Pivcevic B., Muller W.E.G.*, Determination of pollutants with multixenobiotic resistance inhibiting properties. *Marine Environmental Research*, 1995, 39 (1-4), P.261-265.
- Kurelec B., Britvic S., Pivcevic B., Smital T.*, Fragility of multixenobiotic resistance in aquatic organisms enhances the complexity of risk assessment. *Marine Environmental Research*, 1998, 46 (1-5), P.415-419.
- Kurelec B., Pivcevic B.*, Evidence for a multixenobiotic resistance mechanism in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.*, 1991, 19, P. 291-302.
- Madureira A.M., Spengler G., Molnar A., Varga A., Molnar J., Abreu P.M., Ferreira M.J.U.* Effect of cycloartanes on reversal of multidrug resistance and apoptosis induction on mouse lymphoma cells. *Anticancer Research*, 2004, 24 (2B), P. 859-864.
- Minier C., Eufemia N., Epel D.*, The multi-xenobiotic resistance phenotype as a tool to biomonitor the environment. *Biomarkers*, 1999, 4, P. 442-454.
- Smital T., Kurelec B.*, Inhibitors of the multixenobiotic resistance mechanism in natural waters: In vivo demonstration of their effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1997, 16, P.2164-2170.
- Smital T., Kurelec B.*, The activity of multixenobiotic resistance mechanism determined by rhodamine B-efflux method as a biomarker of exposure. *Mar. Environ. Res.*, 1998, 46, P.443-447.
- Smital T., Sauerborn R., Hackenberger B.*, Inducibility of the P-glycoprotein transport activity in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* and the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Aquat. Toxicol.*, 2003, 65, P.443-465.
- Smital T., Sauerborn R., Hackenberger B.*, Inducibility of the P-glycoprotein transport activity in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* and the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Aquat. Toxicol.*, 2003, 65, P.443-465.
- Stein U., Lage H., Jordan A., Walther W., Bates S.E., Litman T., Hohenberger P., Dietel M.*, Impact of BCRP/MXR, MRP1 and MDR1/P-glycoprotein on thermoresistant variants of atypical and classical multidrug resistant cancer. *International Journal of Cancer*, 2002, 97 (6), P.751-760.
- Timofeyev M., Shatilina Z.M., Bedulina D.S., Menzel R., Steinberg C.E.W.* Natural organic matter (NOM) has the potential to modify the multixenobiotic resistance (MXR) activity in freshwater amphipods *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb) and *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerst.). *Comparative biochemistry and physiology*, 2007, Part B146, P. 496-503.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ, ПОСТУПАЮЩИХ С ПИЩЕЙ, НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS* (L.)

Н.В. Ушакова, В.В. Кузьмина, Г.М. Чуйко

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

Известно, что полихлорированные бифенилы (ПХБ), включенные в список приоритетных загрязняющих веществ, ингибируют окислительное фосфорилирование, блокируют АТФазную активность, снижают активность холинэстераз и оказывают негативное воздействие на другие жизненно важные процессы, протекающие в организме позвоночных животных и, в частности, рыб (Герман, Козловская 1999; Chuiko et al., 2007). Однако, несмотря на осознание их негативного воздействия на различных представителей фауны, содержание ПХБ в окружающей среде, в том числе в донных отложениях (ДО) водоемов и водотоков продолжает оставаться значительным. В наибольшей степени ПХБ аккумулируются ДО, особенно серыми глинистыми илами. Так, общее количество ПХБ, аккумулированное в верхнем слое ДО глубоководной части Шекснинского плеса Рыбинского водохранилища в случае серого глинистого ила достигает 111, илистого песка – 90, песчанистого ила – 1 кг (Герман, Законнов, 2003). Поскольку ПХБ поступают в организм рыб преимущественно по пищевым цепям, важно отметить, что наиболее уязвимыми оказываются типичные и факультативные бентофаги. (Герман, Козловская, 2001; Герман, Законнов, 2003). Действительно, накопление ПХБ тканями леща и плотвы в 2-4 раза выше по сравнению с таковым планктофага синца (Герман, Законнов, 2003). При этом степень накопления ПХБ у леща Рыбинского водохранилища в зависимости от местообитания может различаться почти в 60 раз (Chuiko et al., 2007). Наибольшая концентрация токсиканта, зарегистрированная в печени рыб в 1992 г., составляла 9.2 мг/кг сырой массы (Герман, Козловская, 2001). Однако и меньшие концентрации ПХБ могут негативно влиять на физиолого-биохимический статус рыб (Chuiko et al., 2007). В связи с тем, что ПХБ поступают в организм рыб с пищей, основу которой составляют белковые компоненты, а у бентофагов помимо кормовых объектов всегда присутствует грунт (Житенева, 1957), представляется важным получение сведений об их влиянии на ферменты пищеварительного тракта, обеспечивающие гидролиз белков и полипептидов.

Цель работы - изучение влияния ПХБ, поступающих с пищей, на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника и химуса плотвы двух возрастных групп.

Работа проведена в 2007-2008 г.г. Объект исследования – сеголетки (0+) и двухлетки (1+) плотвы *Rutilus rutilus* (L.) Рыбинского водохранилища, средней массой – 3.4 ± 0.3 и 20.9 ± 2.7 г, и средней длиной – 6.5 ± 0.4 и 11.6 ± 0.6 см, соответственно. Схема эксперимента: рыб в течение 2-4 недель кормили фаршем из мышц рыб, отловленных в относительно незагрязненном ПХБ Моложском (3.7 нг/г сырой массы) плесе Рыбинского водохранилища. В течение опыта часть рыб (контроль) продолжали кормить незагрязненным фаршем, остальным рыбам (опыт), отсаженным в другие аквариумы, давали фарш из загрязненного ПХБ (50.8 нг/г сырой массы) Шекснинского плеса водохранилища. Рыб кормили 3 раза в неделю (10% от массы тела). Кроме того, в аквариумы с опытной группой сеголетков были внесены ДО из Шекснинского плеса с концентрацией ПХБ 425.6 нг/г сухой массы, с контрольной – ДО из Моложского плеса с концентрацией ПХБ 24.8 нг/г сухой массы. Параметры воды в эксперименте варьировали: температура $12-18^{\circ}\text{C}$, pH $7.0-7.8$, растворенный кислород на уровне насыщения. Материал в случае сеголеток собирали на протяжении 8 мес, в случае двухлеток – 5 мес (по 6 особей в каждой временной точке). Определяли активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, а также влияние на нее меди и цинка (0.1 , 1.0 , 10 , 25 и 50 мг/л) у плотвы, питавшейся загрязненным кормом.

У рыб на холоду изымали кишечник, очищали его от жира и промывали. Готовили суммарные пробы. Гомогенаты готовили при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный до $2-4^{\circ}\text{C}$ раствор Рингера для холоднокровных животных (109 mM NaCl, 1.9 mM KCl, 1.1 mM CaCl_2 , 1.2 mM NaHCO_3) в соотношении 1:99. Определение проводили при pH 7.4 и температуре 20°C . Субстрат и ферментативно активный препарат (по 0.5 мл) инкубировали в течение 30 мин. Для оценки влияния цинка и меди *in vitro* на активность пищеварительных гидролаз опытных и контрольных рыб проводили предварительную преинкубацию ферментативно активных препаратов (1:49) в присутствии тяжелых металлов: в пробирки приливали 0.25 мл раствора соли тяжелого металла ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ или $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) в концентрации 0.1 , 1 , 5 , 10 или 25 мг/л и 0.25 мл гомогената. Затем содержимое пробирок инкубировали в течение 1 ч при непрерывном перемешивании. После этого в

каждую пробирку добавляли 0.5 мл субстрата и содержимое пробирок вновь инкубировали в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Активность протеиназ определяли по приросту тирозина методом Ансона (1938) в некоторой модификации. Для определения протеолитической активности (преимущественно активность трипсина, КФ 3.4.21.4) использовали 1% раствор казеина. Ферментативную активность определяли в 5-ти повторностях для каждой точки с учетом фона и выражали в мкмоль/(г·мин). Данные обрабатывали статистически с использованием программы Statistica 6. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок. Достоверность различий оценивали, используя критерий t-Стьюдента при $p = 0.05$ (Sokal, Rohlf, 1995).

У сеголеток плотвы активность протеиназ до начала опыта в слизистой оболочке кишечника и химусе достоверно не различалась (табл. 1). В слизистой оболочке кишечника у опытных рыб уже через 40 сут. наблюдается достоверное по сравнению с контролем снижение уровня активности протеиназ, которое сохраняется в течение всего эксперимента, исключая 284 сут. В химусе достоверных различий между опытом и контролем не обнаружено. Расчеты показали, что коэффициенты C/X (активность протеиназ в слизистой оболочке по отношению к химусу) у контрольных рыб в большинстве случаев равны 0.9, за исключением 96 сут., когда его значение равнялось – 1.4. У опытных рыб величины C/X в целом были ниже, чем у контрольных: 0.7 и 1.1, соответственно.

Таблица 1. Активность протеиназ в слизистой оболочке и химусе у сеголеток плотвы, питавшейся кормом с низким (контроль) и высоким (опыт) содержанием ПХБ

Время экспозиции, сутки (месяц)	Слизистая		Химус	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0 (январь)	5.89±0.11		6.37±0.26	
40 (февраль)	5.42±0.11	4.88±0.12*	–	–
96 (апрель)	6.93±0.19	5.51±0.15**	5.06±0.18	4.82±0.26
218 (август)	6.96±0.13	5.17±0.06**	7.42±0.16	6.96±0.13
284 (октябрь)	5.46±0.21	5.95±0.34	5.86±0.36	–

Примечание: активность протеиназ представлена в виде средних значений ± стандартных ошибок ($\bar{x} \pm SE$) и выражена в мкмоль/(г·мин); * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$; «-» химус в кишечнике отсутствует.

У двухлеток плотвы и в контроле и в опыте активность протеиназ в течение всего эксперимента была ниже, чем у сеголеток (табл.2).

Таблица 2. Активность протеиназ в слизистой оболочке и химусе у двухлеток плотвы, питавшейся кормом с низким (контроль) и высоким (опыт) содержанием ПХБ

Время экспозиции, сутки (месяц)	Слизистая		Химус	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0 (январь)	4.52±0.17		5.35±0.28	
52 (март)	4.41±0.17	3.63±0.18*	6.14±0.23	5.22±0.22*
169 (июль)	4.55±0.28	3.97±0.13	4.23±0.13	6.57±0.23**

Примечание как в табл. 1.

В слизистой оболочке кишечника у опытных рыб по сравнению с контрольными через 52 сут. питания кормом с высоким содержанием ПХБ наблюдалось достоверное уменьшение протеиназной активности. К концу эксперимента (169 сут) эти различия хотя и сохранялись, но были уже не достоверными. В химусе активность протеиназ у опытных рыб сначала снизилась (52 сут), а затем превысила контрольный уровень (169 сут). Величины C/X у контрольных и опытных рыб в течение эксперимента были близкими и варьировали в пределах 0.7-0.8, исключая 169 сутки, когда их значения равнялись 1.1 и 0.6, соответственно.

При исследовании влияния меди и цинка *in vitro* на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника плотвы, питавшейся загрязненным кормом, в ряде случаев не выявлены эффекты металлов и во всех случаях не обнаружена концентрационная зависимость. При этом у сеголеток плотвы достоверное ($p < 0.05$) уменьшение (от 5.42±0.22 до 4.52±0.15 мкмоль/(г·мин)) наблюдается лишь при воздействии цинка в концентрации 50 мг/л. У двухлеток отмечено достоверное ($p < 0.001$) увеличение показателя при действии обоих металлов (от 4.52±0.17 до 5.79-6.58 мкмоль/(г·мин)).

Прежде, чем обсуждать полученный материал, следует отметить, что максимальная степень загрязнения ПХБ донных отложений в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища (7.16 мкг/г сухой массы) (Козловская, Герман, 1997) сопоставима с таковой наиболее загрязненных водоемов в районе Блек Рок Харбор (Коннектикут, США) - 7.17 мкг/г сухой массы (Gardner et al., 1991, цит. по: Chen, White, 2004). При этом концентрация ПХБ в ДО Шекснинского плеса в 17 раз выше, чем в Моложском плесе. Концентрация ПХБ в мышцах леща, отловленного в этих районах, различалась примерно в той же степени (14 раз). Эти результаты хорошо согласуются друг с другом. Протеолитическая активность слизи оболочки кишечника плотвы в данном эксперименте была выше, чем у рыб из Волжского плеса. У пойменно-придонной (преимущественно моллюсковоядной) и, особенно, прибрежной (со смешанным спектром питания) плотвы, отловленной в весенний период, активность составляла 1.83 ± 0.30 и 0.64 ± 0.14 мкмоль/(г·мин), соответственно (Столбунов и др., 2008). Однако полученные значения были существенно ниже по сравнению с активностью у моллюсковоядных особей, отловленных в летний период – 9.5 ± 0.2 мкмоль/(г·мин) (Кузьмина и др., 2005). Также обращает на себя внимание незначительная вариабельность уровня ферментативной активности в разные сезоны года, особенно у рыб контрольных групп, что, по всей вероятности, обусловлено относительно стабильными физико-химическими и нутритивными условиями эксперимента. Кроме того, важно отметить возрастные различия в степени влияния ПХБ на ферменты, функционирующие в составе химуса и слизи оболочки кишечника рыб. Так, у сеголеток плотвы достоверное уменьшение протеолитической активности практически на протяжении всего эксперимента отмечено для слизи оболочки. У рыб старшей возрастной группы, напротив, большая степень достоверности различий выявлена при исследовании химуса.

Также заслуживает внимания тот факт, что у сеголеток, получавших с пищей ПХБ, в абсолютном большинстве случаев, как в слизи, так и в химусе, наблюдается уменьшение активности протеиназ. Для двухлеток характерны однонаправленные эффекты загрязненной пищи в случае слизи оболочки (снижение ферментативной активности) и разнонаправленные – в случае химуса (уменьшение активности ферментов в марте и увеличение в июле). Расчеты показали, что соотношение коэффициентов С/Х (активность протеиназ в слизи оболочки и химусе) у контрольных и опытных рыб зависит от возраста. Так, величина С/Х контрольных сеголеток и в апреле и в августе выше таковой опытных рыб в 1.3 раза. У двухлеток на фоне более высоких значений С/Х, напротив, выявлены или равные величины показателя у тех и других, или в 2 раза меньшие величины С/Х у контрольных рыб. Если снижение уровня активности протеиназ может быть обусловлено прямым влиянием ПХБ на молекулы ферментов и интенсивность их синтеза, то увеличение ферментативной активности интерпретировать сложнее. Не исключено, что у рыб старшей возрастной группы более развиты локальные регуляторные механизмы, и наличие токсических веществ в пищеварительном тракте стимулирует увеличение продукции панкреатического сока, способствующее более быстрому их выведению.

Особо следует отметить неожиданные результаты (отсутствие эффекта или стимуляция активности), полученные при исследовании влияния металлов на активность протеиназ у плотвы, питавшейся загрязненным кормом. Ранее было показано, что цинк и медь в концентрации 10 мг/л снижают казеинлитическую активность слизи оболочки кишечника плотвы на 23.9 и 25.3%, в концентрации 50 мг/л – на 63 и 88% соответственно (Кузьмина и др., 2005). Позднее были зарегистрированы несколько иные эффекты под действием более низкой концентрации тяжелых металлов (10 мг/л): в присутствии цинка активность протеиназ по казеину снижалась на 6%, в присутствии меди – на 32% (Кузьмина, Ушакова, 2007а). В настоящее время не ясно, чем вызваны различия в действии металлов, выявленные в этих работах. Не исключено, что это связано с разной композицией пищи и разной степенью ее загрязненности тяжелыми металлами. Известно, что в большинстве случаев тяжелые металлы поступают во внутреннюю среду организма рыб с пищей (Bury et al., 2003), а интенсивность накопления их в тканях гидробионтов (потенциальных объектов питания бентофагов) различна. При этом для разных таксономических групп гидробионтов характерна разная степень накопления одних и тех же металлов. В частности, в ряде водоемов Европейской России у представителей зоопланктона содержится ~2 мг/кг сырой массы меди и цинка, у хирономид – 8 и 18, у олигохет – 10 и 16, у дрейссены – 13 и 61 мг/кг сырой массы соответственно (Соболев, 2006). Следовательно, использованные в работе концентрации близки встречающимся в естественных условиях.

Кроме того, при исследовании влияния тяжелых металлов на активность протеиназ слизи оболочки кишечника по казеину и гемоглобину у целого ряда видов рыб было выявлено усиление их эффектов при сочетанном действии с низкой температурой и кислыми значениями pH (Кузьмина, Ушакова, 2007а, б). Учитывая вышесказанное, логично было ожидать, что сочетанные эффекты ПХБ

и тяжелых металлов будут выше эффектов их отдельного воздействия. Неожиданные результаты, по всей вероятности, обусловлены тем, что трипсин, будучи сериновой протеиназой, является аллостерическим ферментом. При этом известно, что некоторые соединения, а также ионы, в частности галоиданионы, влияют на кинетику гидролиза субстрата, в ряде случаев активируя эти ферменты (Антонов, 1983). Поскольку в пищеварительном тракте рыб обнаружены ПХБ, содержащие до 8 атомов хлора (García et al., 2000), не исключено, что эти соединения, благодаря наличию хлора, взаимодействуют с регуляторными сайтами и активируют молекулы фермента.

Таким образом, полихлорированные бифенилы могут не только влиять на активность протеиназ пищеварительного тракта рыб, но и модифицировать эффекты других токсических соединений, в частности тяжелых металлов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 06-04-48170 и № 08-05-00805).

Список литературы

- Антонов В.К. Химия протеолиза. М.: Наука. 1983. 367 с.
- Герман А.В., Законов В.В. Аккумуляция полихлорированных бифенилов в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища // Водные ресурсы. 2003. Т. 30. №5. С. 571-575.
- Герман А.В., Козловская В.И. Содержание полихлорированных бифенилов в леще *Abramis brama* Рыбинского водохранилища // Вопр. ихтиол. 1999. Т.39. №1. С. 139-142.
- Герман А.В., Козловская В.И. Гепатосоматический индекс и биохимический состав печени леща *Abramis brama* Шекснинского плеса Рыбинского водохранилища при различных уровнях накопления органических токсикантов // Вопр. ихтиол. 2001. Т.41. №2. С. 249-252.
- Козловская В.И., Герман А.В. Полихлорированные бифенилы и полициклические ароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Водные ресурсы. 1997. Т.24. №5. С. 563-569.
- Кузьмина В.В., Ушакова Н.В. Влияние температуры, pH и тяжелых металлов (медь, цинк) на активность протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта рыб бенто- и планктофагов // Биол. внутр. вод. 2007а. Т. 47. № 4. С. 71-79.
- Кузьмина В.В., Ушакова Н.В. Влияние температуры, pH и тяжелых металлов (медь, цинк) на активность протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта типичных и факультативных ихтиофагов // Вопр. ихтиологии. 2007б. Т. 47. № 4. С. 566-573.
- Кузьмина В.В., Шишин М.М., Корюкаева Н.В., Наумова М.А., Ботяжова О.А. Влияние цинка и меди на эффективность гидролиза белковых компонентов пищи у ряда видов пресноводных костистых рыб в условиях *in vitro* // Биол. внутр. вод. 2005. №4. С. 102-109.
- Соболев К.Д. Загрязнение тяжелыми металлами естественных и искусственных кормов и его влияние на рыб в условиях сбросных теплых вод // Автореф. дис. канд. биол. наук. СПб. 2006. 24с.
- Столбунов И.А., Голованова И.Л., Кузьмина В.В., Филиппов А.А., Ушакова Н.В. Морфологические и физиолого-биохимические показатели различных экологических групп плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Комплексный подход к проблеме сохранения и сохранения биоресурсов Каспийского бассейна. Астрахань. 2008. (в печати)
- Bury N. R., Walker P. A., Glover Ch. N. Nutritive metal uptake in teleost fish // J. Exp. Biol. 2003. V. 206. P. 11-23.
- Chen G., White P.A. The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review // Mutation Research 2004. V.567. P.151-225.
- Chuiko G.M., Tillitt D.E., Zajicek J.L., Flerov B.A., Stepanova V.M., Zhelnin Y.Y., Podgornaya V.A. Chemical contamination of the Rybinsk Reservoir, northwest Russia: Relationship between liver polychlorinated biphenyls (PCB) content and health indicators in bream (*Abramis brama*) // Chemosphere. 2007. V. 67. P. 527-536.
- García L.M., Porte C., Albaigés J. Organochlorinated pollutants and xenobiotic metabolizing enzymes in W. Mediterranean mesopelagic fish // Mar. Pollut. Bull. 2000. V.40. №9. P. 764-768.

АКТИВНЫЙ БИОМОНИТОРИНГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРЭСНОВОДНОГО ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *DREISSENA POLYMORPHA*

Г.И. Фальфушинская¹, Л.Л. Гнатишина¹, О. Дедоурже-Джеффард²,

А. Джеффард², С. Биаджианти-Рисбоург², О.Б. Столяр¹

¹Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь, 46027, Украина, oksana.stolyar@gmail.com

²Университет Реймса, BP 1039, 51687, Реймс, Франция

Двустворчатые моллюски рекомендованы в качестве индикаторных организмов при биотестировании состояния водоемов, что обусловлено их оседлостью, фильтрацией водных коллоидов в процессе питания, широким распространением в водоемах (Де Лафонтейн и др., 2000). За последние десятилетия в Украине наблюдается прогрессирующее уменьшение количества популяций двустворчатых моллюсков, оскудение их состава и ухудшение физиологических показателей представителей. Поэтому все большую ценность для использования в биомониторинге приобретают эксперименты с моллюсками, переселенными на новое место жительства (активный мониторинг), делающие возможным контроль состояния водоемов, в которых естественные популяции моллюсков отсутствуют или генетически адаптировались к условиям существования. Дрейссена *Dreissena polymorpha* является удобным тестовым объектом в экспериментах с переселением в пресных водоемах. Вместе с тем, оптимальное время переселения дрейссены для отображения специфики сайта переселения не выяснено.

Адекватными маркерами раннего выявления угрозы гидробионтам считаются биохимические показатели. Нами исследовался набор биохимических маркеров у двустворчатого моллюска *Dreissena polymorpha* после переселения на 14, 28, 60 и 120 дней в новую местность. Участки исследования находились на верхних левых притоках р. Днестр на территории Тернопольской области (Украина) и отличались по качеству водного окружения. Контролем служили моллюски, отобранные в верхнем течении р. Серет (условно чистая местность). В начале июня их переносили в местность с высоким уровнем сельскохозяйственной активности (Борщов), ниже по течению от спиртзавода (Скалат) и ниже областного центра в месте сосредоточения железнодорожных и автомобильных магистралей (Остров). Во всех местах переселения отсутствуют или находятся в неудовлетворительном состоянии системы очистки муниципальных и производственных стоков. Моллюсков содержали в контейнерах, изготовленных из капроновой сетки, размером 0.240.340.3 м, под водой на глубине около 0.5 м. Пробы брали одновременно во всех группах. В Острове после 28 суток инкубации контейнеры исчезли и были заменены новыми, поэтому срок 60 суток для других групп моллюсков соответствовал в этой группе 14 суткам.

Для анализов использовали гомогенат мягких тканей моллюска, приготовленный с добавлением 0,1 мМ фенилметилсульфонилфторида. Набор маркеров включал показатели оксидативного стресса и маркер загрязнения тяжелыми металлами (содержание металлотионеинов). Активность супероксиддисмутазы [КФ 1.15.1.1] определяли по снижению скорости восстановления нитратетразолия синего, содержание восстановленного глутатиона – неферментативным методом с помощью реактива Элмана, окислительную модификацию белков – по способности образовывать 2,4-динитрофенилгидразоны, образование супероксид аниона – по восстановлению цитохрома c, содержание металлотионеинов – по количеству сульфгидрильных групп в их составе. Делали морфологические измерения. Результаты обрабатывали статистически с определением *t*-критерия Стьюдента. Сравнение рядов данных проводили методом факторного дисперсионного анализа с использованием компьютерных программ Statistika v 5.5 и Excel для Windows-2000.

Полученные результаты (табл. 1, 2) свидетельствуют, что для каждого биохимического показателя характерна динамика, общая для контрольной и всех переселенных групп. Очевидно, она отражает сезонную зависимость показателей. В пользу этого вывода говорит и то, что замена моллюсков в Острове не привела к изменению общей тенденции временных изменений. На 60-е и 120-е сутки эксперимента, соответствующие осеннему периоду, многие показатели достигают в каждой группе наивысших значений. Факторный анализ подтвердил эффект сезона на все измеряемые биохимические показатели за исключением активности супероксиддисмутазы в Острове.

Вместе с тем, сравнение разных групп моллюсков в один и тот же период показывает, что в каждой группе проявляются свои, специфические для различных групп, отличия от моллюсков естественной популяции, особенно после 14 суток содержания в контейнерах. Поскольку смертность у переселенных моллюсков в это время не отмечена, можно считать, что биохимические показатели отражают раннюю реакцию адаптации организма к особенностям водного окружения. У моллюсков

из Борщова наблюдается уменьшение активности супероксиддисмутазы без изменения содержания глутатиона, металлотионеинов и показателей окислительной деструкции в тканях. У моллюсков, переселенных в Скалат и Остров, в это время происходит заметная активация антистрессорных систем – возрастает активность супероксиддисмутазы и содержание металлотионеинов в тканях. Но, вместе с тем, в два раза увеличивается и образование супероксид аниона и окислительных модификаций белков, что характеризует состояние окислительного стресса. Таким образом, условия в аграрной местности можно считать более благоприятными для дрейссены, а в обеих зонах промышленной активности – неблагоприятными по сравнению с контрольной группой. Стабильный уровень восстановленного глутатиона в этот срок подтверждает вывод об адаптивном характере изменений у переселенных моллюсков.

В последующие сроки, особенно на 60-е сутки переселения, характер изменений в различных группах унифицируется, – уменьшается содержание глутатиона и металлотионеинов в тканях, увеличивается образование супероксид аниона, а кроме того, во всех группах наблюдается довольно высокая смертность. Однако и в это время прослеживаются отличия между группой из Борщова и двумя другими по активности супероксиддисмутазы, образованию окислительных модификаций белков. Смертность моллюсков в Скалате и Острове (в последнем даже после краткосрочного переселения) выше, чем в Борщове. Она составляет 10 – 30 % в Борщове и 65 – 85 % в Скалате после 28 – 120 дней инкубации. Таким образом, различие качества водного окружения отображается биохимическими показателями и уровнем смертности переселенных моллюсков и в отдаленные сроки переселения. Вместе с тем, морфологические показатели не остаются стабильными в разных группах моллюсков даже после длительного периода переселения.

Таблица 1. Влияние переселения на показатели моллюска *Dreissena polymorpha*, $M \pm m$ ($n=6$ для биохимических показателей, $n=35$ для морфологических показателей)

Параметр	Группа	Срок переселения, сутки			
		14	28	60 ¹	120
Активность супероксиддисмутазы, у.е./мг белка	Контроль	5.6±2.2	1.7±0.3	5.3±1.0	4.9±0.5
	Борщов	2.6±0.9*	1.9±0.2	6.5±1.5	5.1±1.0
	Скалат	7.1±2.1*	2.3±0.2*	9.9±1.1*	–
	Остров	5.1±1.0	–	7.3±1.6*	–
Содержание глутатиона, мкмоль/г ткани	Контроль	0.36±0.08	0.68±0.13	1.62±0.19	0.50±0.14
	Борщов	0.43±0.09	0.59±0.08	1.33±0.11*	0.31±0.11*
	Скалат	0.45±0.16	0.36±0.06*	0.96±0.03*	–
	Остров	0.41±0.08	–	0.81±0.10*	–
Содержание металлотионеинов, мкг/г ⁻ ткани	Контроль	14.6±4.0	136.7±21.9	194.9±40.9 ^c	96.1±28.2
	Борщов	18.1±6.2	178.2±25.8*	121.6±22.1*	101.1±26.7
	Скалат	32.8±11.2*	182.9±42.2	106.4±17.1*	–
	Остров	61.8±21.1*	–	108.0±19.9*	–
Образование супероксид-аниона, нмоль/мин мг белка	Контроль	0.26±0.07	0.46±0.05	1.20±0.31	1.61±0.31
	Борщов	0.26±0.08	1.35±0.28*	2.90±0.61*	2.02±0.40
	Скалат	0.45±0.13*	0.73±0.06*	1.91±0.20*	–
	Остров	0.49±0.15*	–	1.72±0.31	–
Окислительные модификации белков, мкмоль/мг белка	Контроль	29.8±8.6	37.7±3.7	77.9±15.4	61.4±7.4
	Борщов	25.1±6.8	44.5±12.5	47.8±14.3	35.4±5.3*
	Скалат	47.8±5.7*	35.9±10.6	89.9±12.8	–
	Остров	45.8±8.1*	–	101.7±38.5	–
Соотношение веса раковины и общего веса моллюска	Контроль	0.73±0.08	0.75±0.09	0.82±0.06	0.81±0.06
	Борщов	0.71±0.09	0.75±0.09	0.77±0.05*	0.82±0.06
	Скалат	0.75±0.09	0.81±0.05	0.77±0.06*	–
	Остров	0.73±0.11	–	0.81±0.06	–
Кондиционный фактор (соотношение общий вес/длина раковины) ³	Контроль	11.0±2.8	14.0±2.9	13.3±3.9	20.3±5.4
	Борщов	12.7±2.7	12.3±2.7	13.0±2.9	18.0±3.2
	Скалат	11.3±2.7	12.6±3.1	13.6±2.5	–
	Остров	11.3±2.6	–	14.0±2.8	–

Примечание. * – отклонение от контроля достоверно, $p < 0.05$; 60¹ – срок переселения в Острове составлял 14 суток.

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа с учетом результатов, полученных во все сроки исследования (табл. 2) подтверждается, что группы, переселенные в Скалат и Остров, по большому числу параметров отличаются от контроля, чем группа в Борщове. Для каждого из изучаемых биохимических показателей характерна своя динамика, которая отражает как зависимость от срока пребывания в контейнере, так и сезонные особенности. Морфологические показатели моллюсков при этом мало зависят как от места, так и от времени переселения.

Таблица 2. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния переселения и сезона на показатели моллюска *Dreissena polymorpha*

Показатель	Влияние среды существования		Влияние срока исследования		Среда Ч Срок	
	F	p	F	p	F	p
Борщов						
Вес раковины/общий вес	3.2	0.079	5.1	0.004	1.0	0.411
Кондиционный фактор	3.3	0.078	5.6	0.002	1.5	0.240
Супероксиддисмутаза	1.1	0.301	28.2	0.000	7.8	0.000
Глутатион	4.0	0.053	345.3	0.000	6.0	0.002
Металлотионеины	0.7	0.424	88.3	0.000	11.5	0.000
Супероксид анион	61.0	0.000	69.4	0.000	14.8	0.000
Окислительные модификации белков	22.9	0.000	27.5	0.000	9.6	0.000
Скалат						
Вес раковины/общий вес	1.2	0.289	2.3	0.119	0.6	0.537
Кондиционный фактор	0.1	0.817	0.5	0.636	3.8	0.033
Супероксиддисмутаза	19.2	0.000	43.5	0.000	5.7	0.008
Глутатион	52.7	0.000	196.8	0.000	28.8	0.000
Металлотионеины	0.8	0.380	95.4	0.000	20.8	0.000
Супероксид анион	53.3	0.000	168.9	0.000	10.3	0.000
Окислительные модификации белков	7.5	0.010	80.5	0.000	2.9	0.069
Остров						
Вес раковины/общий вес	0.0	0.866	7.6	0.012	0.06	0.807
Кондиционный фактор	0.0	0.882	1.2	0.286	5.0	0.036
Супероксиддисмутаза	1.3	0.264	2.4	0.147	4.1	0.057
Глутатион	67.6	0.000	311.5	0.000	86.0	0.000
Металлотионеины	3.7	0.067	121.4	0.000	42.5	0.000
Супероксиданион	14.7	0.001	120.7	0.000	1.8	0.192
Окислительные модификации белков	5.1	0.035	34.8	0.000	0.2	0.669

Применение активного мониторинга состояния водоемов обусловлено, во первых, сложностью поиска или же отсутствием естественных популяций индикаторного вида в исследуемой местности. Наши предыдущие исследования моллюсков были проведены на естественных популяциях *Colletopterum pictinale* и *Anodonta cygnea* (Столяр и др., 2003; Столяр и др., 2008), однако, хотя исследуемые виды проявляли чувствительность к качеству водного окружения, при этом возникали периодические сложности их поиска в зависимости от сезона или перемены места обитания, которых мы избежали в представленной работе. Другое и не менее важное преимущество активного мониторинга – избегание эффекта адаптации к условиям обитания. Во многих экспериментах с использованием естественных популяций моллюсков было показано, что сезонные закономерности являются более заметными по сравнению с эффектом сайта, не смотря на заметное отличие в качестве водного окружения (Леинио и Лехтонен, 2005). В экспериментах с переселенными моллюсками используются различные сроки их выдерживания в контейнерах – от 14 суток до года (Де Лафонтейн и др., 2000; Джеффард и др., 2005). При этом, в некоторых экспериментах моллюсков переносят только в одну местность, что, несмотря на подтверждение различия в химическом составе

воды, оставляет сомнения в том, что наблюдаемые изменения могут быть следствием самой процедуры переселения. В нашем исследовании сравнение моллюсков в различных местностях и в различные сроки убедительно доказало, что срок 14 суток переселения оказался оптимальным для дифференциации качества водного окружения.

Как известно, металлотионеины принято относить к специфическим маркерам загрязнения среды обитания ионами тяжелых металлов, в первую очередь, кадмия (Виаренго и др., 2000), поскольку их повышенное содержание в живых клетках индуцирует экспрессию металлотионеинов. Однако в литературе появляется все больше фактов об их индукции различными другими факторами, в первую очередь веществами прооксидантного действия, а также существенную зависимость их экспрессии от сезона (Де Лафонтейн и др., 2000; Джеффард и др., 2005; Дойен и др., 2008). Сопоставление полученных нами данных позволяет утверждать, что активация экспрессии этих белков под влиянием загрязнения имеет место только в первые 14 и 28 дней наблюдения, а позже сменяется угнетением синтеза. Аналогично уменьшение экспрессии стрессорных белков отмечали и в других работах с использованием дрейссены как маркера в сильно загрязненных водоемах (Дойен и др., 2008). О значительном комплексном загрязнении водоемов в Скалате и Острове свидетельствует и измерение показателей системы антиоксидантной защиты. Накопление активных форм кислорода, в первую очередь, супероксид аниона, образующегося преимущественно в митохондриях, и продуктов окислительной модификации белков является признаком окислительного стресса в условиях недостаточной эффективности системы антиоксидантной защиты, в частности глутатион-зависимых факторов, и наблюдается в нашем эксперименте, хотя активность супероксиддисмутазы повышена. Не смотря на различия в качественных причинах загрязнения водоемов в Скалате и Острове, в обоих случаях, очевидно, суммарный пресс оказался значительным, что и вызвало однотипную реакцию декомпенсаторного типа.

Таким образом, на основании нашего эксперимента можно рекомендовать срок переселения дрейссены 14 суток, как соответствующий максимальной активности антистрессорных систем организма в новых условиях и селективности их ответа в зависимости от уровня и качества загрязнения водоема. Лишь мультимаркерный подход обеспечивает объективные выводы о степени и характере влияния среды на биологические функции моллюсков.

Список литературы

- Столяр О.Б., Грубинко В.В., Михайлив Р.Л., Мищук Е.В. Влияние условий существования на связывание тяжелых металлов и окислительную деструкцию биомолекул в тканях пресноводного двустворчатого моллюска *Anodonta cygnea* // Гидробиол. журн. – 2003. – 39, № 6. – С. 73–82.
- Столяр О.Б., Фальфушинская Г.И., Базан О.Г Система антиоксидантной защиты в тканях пресноводного двустворчатого моллюска *Colletopterum pictinale* (Unionidae) в условиях естественного водоема и переселения // Гидробиол. журн. – 2008. – Т. 44, № 3. – С. 58–68.
- De Lafontaine Y., Gagne F., Blaise C., Costan G., Gagnon P., Chan H.M. Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada) // Aquat. Toxicol. – 2000. – Vol. 50. – P. 51–71.
- Doyen P., Vasseur P., Rodius F. Identification, sequencing and expression of selenium-dependent glutathione peroxidase transcript in the freshwater bivalve *Unio tumidus* exposed to Aroclor 1254 // Compar. Biochem Physiol – 2008. – Vol. 144C, № 2. – P. 122–129.
- Falfushinska H.I., Romanchuk L.D., Stolyar O.B. Different responses of biochemical markers in frogs (*Rana ridibunda*) from urban and rural wetlands to the effect of carbamate fungicide // Compar. Biochem Physiol – 2008. – Vol. 148C. – P.:223–229.
- Geffard A., Amiard-Triquet C., Amiard J.C. Do seasonal changes affect metallothionein induction by metals in mussels, *Mytilus edulis*? // Ecotox. Environ. Saf. – 2005. – Vol. 61. – P. 209–220.
- Leiniu S., Lehtonen K.K. Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea // Comp. Biochem. Physiol. – 2005. – Vol. 140C. – P. 408–421.
- Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // Mar. Pollut. Bull. – 2001. – Vol. 42. – P. 656–666.
- Stolyar O.B., Loumbourdis N.S., Falfushinska H.I., Romanchuk L.D. Comparison of metal bioavailability in frogs from urban and rural sites of Western Ukraine // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2008. – Vol. 54. – P.107–113.
- Viarengo A., Burlando B., Ceratto N., Panfoli I. Antioxidant role of metallothioneins: a comparative overview // Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). – 2000 – Vol. 46, № 2. – P. 407–417.

**ДИНАМИКА ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ
И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛИЧИНОК
CHIRONOMUS PLUMOSUS (CHIRONOMIDAE, DIPTERA)
ПРИ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ АТРОПИНА**

И.А. Фёдорова, Н.В. Полуконова

*Государственный медицинский университет
г. Саратов, 410026, Россия, ecoton@rambler.ru*

Моделью для мониторинга транскрипционной активности (ТА) у эукариот служат политенные хромосомы (ПХ) личинок двукрылых насекомых. На ПХ *Chironomus plumosus* (Chironomidae, Diptera) была открыта (Ильинская, 1984; Дёмин, Ильинская, 1988) новая форма кариотипического полиморфизма – изменчивость степени компактности, как один из механизмов одновременной регуляции активности многих локусов. Предложены гипотезы о высокой адаптивности политении и важной роли согласованного изменения компактности ПХ в поддержании гомеостаза на клеточном уровне (Ильинская, 1990). Критериями ТА кроме компактности являются активность ядрышкового организатора (ЯО), ответственного за синтез р-РНК и субъединиц рибосом; колец Бальбиани (КБ) секретирующих гетерогенную ядерную РНК, участвующую в синтезе тканеспецифических секреторных гликозилированных белков, и пучков, как показателей дифференциальной генной активности, в которых происходит активный синтез иРНК (Кикнадзе, 1972; Беянина и др., 1979; Stockert, 1990; Жимулев, 1992, 1994; Зацепина, 2007). Ранее ТА оценивалась визуально или с ограниченным использованием морфометрических показателей.

Атропин – растительный алкалоид растений семейства пасленовых (Solanaceae): красавки (*Atropa Belladonna*), белены (*Hyoscyamus niger* L.), ряда видов дурмана (*Datura stramonium* L.) и др., относится к м-холиноблокаторам из группы холинотропных препаратов. Введение атропина в организм уменьшает секрецию слюнных и других желез (Grossbach U, 1977), что позволяет сопровождать анализ ТА под действием этого препарата наблюдением специфических поведенческих и физиологических реакций личинки.

В настоящей работе представлены результаты по исследованию динамики транскрипционной активности ПХ и морфофункционального состояния личинок *Ch. plumosus* на действие атропина.

Личинки *Ch. plumosus* собраны из водоемов Саратова. Исследовано 300 личинок, из которых 50 – составили контрольную группу, а 250 – были подвергнуты воздействию.

Для установления уровня токсичности атропина определена полуметальная концентрация (LC_{50}), при которой отмечена гибель 50% из 100 особей при 24-часовой экспозиции (Юрин, 2002). Выбор концентраций при установлении LC_{50} проведен эмпирически с учетом токсичности атропина *in vivo*. При постановке опытов использованы концентрации (1/2 - 1/20 LC_{50}) с выраженным негативным действием на организм (Лукьяненко, 1967; Василос, 1980). Время экспозиции от 12 часов до 4 суток. После окончания эксперимента личинки зафиксированы в спирто-уксусной смеси (3:1). В ходе опыта проведена оценка изменений локомоторной активности и поведения личинок по разработанной нами десятибалльной шкале (таблица).

Препараты ПХ подготовлены по этилоорсеиновой методике (Шобанов, Дёмин, 1988). Временные препараты ПХ анализировали с помощью светового микроскопа «Люмипам» при увеличении 7460. Для оценки ТА использованы шесть индексов: К/Е - индекс компактности хромосомы III - отношение абсолютной длины плеча Е к ширине центромеры (Ильинская, 1984, 1990); Кп - отношение максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 хромосомы IV (Stockert, 1990); A/d_{1G}, A/d_{2G} - отношение максимального диаметра соответственно КБ₁ и КБ₂ к ширине интактного района 6 хромосомы IV (Lezzi, Gilbert, 1969); A/d_B - отношение максимального диаметра КБ плеча В к ширине интактного района 17 того же плеча хромосомы I (Lezzi, Gilbert, 1969); Рв - отношение максимального диаметра пучка 21 района плеча В к ширине интактного диска 21 (Лычев, 1968).

Активность ПХ *Ch. plumosus* оценивали по установленным пределам значений индекса К/Е от 5.7±0.1 до 10.3±0.1 (Ильинская, 1989): уменьшение значения К/Е - ниже 5.7±0.1 и его увеличение выше 10.3±0.1 свидетельствуют о снижении ТА.

Учтена степень сорбции красителя хромосомой по трехбалльной шкале (слабая – 1 балл, нормальная – 2 балла, интенсивная – 3 балла) и индукцию пучков *de novo*, не отмеченных в контроле.

Статистический анализ проведен в среде специализированных пакетов Excel и Statistica 6. Для оценки статистической значимости различий между значениями морфометрических показателей в контрольной группе и при воздействии выбранных концентраций раствора лекарственного препарата

использован дисперсионный анализ. Разница считалась достоверной, если опытные результаты отличались от контрольных с вероятностью $P < 0.05$. Связь признаков оценена с помощью коэффициента Спирмена (rs) (Гланц, 1999).

Таблица. Шкала сопряженности токсического действия атропина с морфофункциональными изменениями у личинок *Ch. plumosus*

Количество баллов	Динамика локомоторной активности и поведения экспериментальных личинок				
	Дыхательные движения	Ответ на раздражение	Окраска и упругость тела	% погибших особей	Состояние личинок
1	Активные, на дне и в толще воды	Попытка свернуться в кольцо	Ярко-красная	0	норма
2	Активные, на дне емкости		Красная		Различные стадии интоксикации
3	Медленные, на дне				
4	Медленные, на дне; 30% неподвижны				
5	Медленные, на дне; 50% неподвижны		Темно-красная. Размягчение.		
6	Редкие, на дне; большинство неподвижны		Темно-красная. Лизис тканей	1-3	
7				5-25	
8		25-50			
9	Неподвижны	Едва заметные судорожные сокращения подталкивателей	Темная. Лизис тканей	50-90	
10		Отсутствует		100	гибель

Морфофункциональное состояние личинок *Ch. plumosus* в контроле не менялось до 72 часов, затем ухудшалось и к 96 часам достигало 3 баллов. В эксперименте изменение поведения проходило ряд стадий. Изменения, свидетельствующие о выраженном токсическом действии и приводящие к гибели личинок, вызывала $LC_{50} = 2000$ мг/л, хотя и в более низких концентрациях атропин оказывал негативное влияние. Границы ТА *Ch. plumosus* в пределах нормального физиологического состояния личинок были следующими: $K_n = 2,44 - 2,8$; $A/d_v = 1,27 - 1,48$; A/d_{1G} , $A/d_{2G} = 1,06 - 1,27$; $P_v = 1,05 - 1,12$. В диапазоне выбранных нами концентраций атропин не оказывал острого, подострого или хронического токсического действия на *Ch. plumosus*.

Индекс компактности ПХ

В контроле значение индекса компактности ПХ (К/Е) менялось от 12 до 96 часов в пределах от 11.19 до 9.64, что соответствовало изменению компактности ПХ от сверхудлинённых до удлинённых и нормальных. Небольшое возрастание ТА в контроле с 12 до 72 часов ($K/E = 11.19 \rightarrow 8.71$) шло на фоне неизменного морфофункционального состояния личинок, а с 72 до 96 часов наблюдавшееся уменьшение ТА ($K/E = 8.71 \rightarrow 9.64$) сопровождалось резким угнетением жизнедеятельности личинок.

В эксперименте при всех исследованных концентрациях атропина компактность ПХ менялась от нормальных до удлинённых, что соответствовало уменьшению их ТА. Так, при концентрации 100 мг/л значение К/Е повышалось от 8.77 при 12ч. до 9.43 – при 96 ч. ($r_s = -0.8$); при 130 мг/л - понижалось от 8.86 до 9.61. ($r_s = 0.7$); при 200 мг/л - от 8.98 до 10.22; при и 400 мг/л от 9.68 до 9.78; при 1000 мг/л с К/Е - с 8.2 до 10.04; при 200 – 1000 мг/л была установлена средняя степень корреляции с контролем.

Активность ЯО

В контроле активность ЯО с 12 до 48-часов возрастала; с 48 до 72 часов - снижалась на фоне неизменной компактности ПХ и ухудшения состояния личинок. Снижение функциональной

активности личинок, по-видимому, было связано с уменьшением кислорода в среде их обитания. ЯО оказался более чувствителен к изменениям факторов среды, чем компактность ПХ.

В эксперименте при действии всех концентраций атропина сохранялась тенденция к угнетению работы ЯО, что коррелировало с изменением ТА по индексу компактности. Изменение компактности ПХ, так же, как и в контроле, менялось позже активности ЯО - ТА по индексу компактности ПХ менялась только после 72 часов. При всех концентрациях атропина корреляция с контролем была положительной. Тенденция инактивации ЯО сопровождалась ухудшением морфофункциональной активности личинок.

Активность КБ_{1G} и КБ_{2G}

В контроле подавление активности КБ₁ и КБ₂ плеча G ($A/d_{1G} = 1.16-1.01$; $A/d_{2G} = 1.27-1.01$) наблюдалось на фоне роста ТА. В эксперименте при действии всех концентраций атропина активность КБ₁ и КБ₂ также, как и в контроле, подавлялась. Наличие связи с контролем подтверждалось сильной положительной степенью корреляции при концентрации 130 мг/л (у обоих КБ) и при 400 мг/л, 1000 мг/л - только у КБ₂.

Активность КБв и пуфов

Активность КБв в контроле возрастала ($A/d_v = 1.36-1.48$) до 48 часов, а с 48 часов - снижалась, что коррелировало с изменением активности ЯО. Активность КБв при действии концентраций 100-200 мг/л атропина повышалась, при действии концентраций 400-1000 мг/л - снижалась, что могло быть связано со срывом компенсаторных реакций в ответ на стрессовое воздействие.

Активность пуфа плеча В в контроле не коррелировала с изменением компактности, работой ЯО и КБв. В эксперименте при действии всех концентрациях атропина изменения работы пуфа были также хаотичны и несогласованны. Связь с контролем была установлена только при двух концентрациях: при 100 мг/л ($r_s = -0.73$) и при 1000 мг/л ($r_s = -0.73$). По-видимому, активность пуфа плеча В неадекватно отражает ТА на основе анализа компактности, ЯО и КБв.

Атропин изменил дифференциальную генную активность, индуцируя появление пуфов *de novo*, не отмеченных в контроле. Пуфы *de novo* были обнаружены на участках 9-10 и 18-19 хромосомы АВ, на участках 14-11, 11-3 и 7-2а хромосомы CD, на участках 11-12 и 13-16 хромосомы EF. При концентрациях 130-1000 мг/л и всех экспозициях пуфинговая активность при действии лекарственного препарата изменяется произвольно.

В пределах выделенных экспозиций для указанных индексов транскрипционной активности можно утверждать, что влияние атропина не случайно и изменения активных районов напрямую зависят от воздействия лекарственного препарата.

Изменение сорбции красителя

Возрастание степени сорбции красителя хромосомами, как было показано ранее (Ильинская, 1989), отмечалось при изменении степени их компактности от нормальных до компактных и сверхкомпактных, что характерно для состояния диапаузы личинок ранней осенью и свидетельствует об уменьшении ТА их хромосом. В контроле сорбция красителя уменьшалась (2.63 - 2.5) с 12 до 96 часов, что отражало тенденцию к возрастанию ТА, выявленную на основе индексов компактности и активности ЯО. В эксперименте степень сорбции красителя повышалась при всех концентрациях атропина с 12 до 96 часов экспозиции, что связано с уменьшением активности ПХ.

Как показали наши исследования, влияние атропина связано с неспецифическими морфофункциональными изменениями личинок *Ch. plumosus*. Развитие симптомов патологического состояния в целом зависело от концентрации в среде атропина и продолжительности его воздействия. Морфофункциональное состояние личинок в контроле не менялось до 72 часов, затем начинало ухудшаться, что коррелировало с изменением индекса компактности ПХ.

Неодинаковая реакция активных районов и компактности ПХ на воздействие атропина может быть связана с их различной ролью в поддержании гомеостаза как клетки, так и организма в целом. В зависимости от функциональной роли были выделены две группы показателей транскрипционной активности: показатели «общих» и «специфических функций» (Жимулев, 1992; Федорова, Полуконова, 2007, 2008). Так, работа ЯО участвует в поддержании гомеостаза клетки в целом (Зацепина, 2007; Ильинская, 1990), в связи с чем, индекс активности ЯО, наряду с компактностью хромосом, можно отнести к показателям «общих функций». Универсальность использования этих показателей определяется и наличием их в большинстве клеток у разных эукариот. К показателям, отражающим специфические функции, а именно выработку секрета слюнными железами, относятся, прежде всего, кольца Бальбиани (КБ), характерные для клеток определенных органов двукрылых насекомых (Кикнадзе, 1972; Жимулев, 1992). Ответная реакция участков «специфических функций» на действие атропина неоднозначна, изменения работы КБв, КБ_{1G} и КБ_{2G} несогласованны между собой, что может свидетельствовать о разбалансировке секреторной функции желез, особенно в

период между острым и подострым воздействием, когда, по-видимому, происходит «настройка» внутриклеточных репаративных механизмов.

Активность ЯО_G была более чувствительна к изменению среды по сравнению с компактностью. ТА по индексам компактности ЯО_G и КБ уменьшалась при всех концентрациях атропина в течение 4 суток, что было вызвано внесением в среду высоких доз атропина (1/2-1/5 LC₅₀). При длительном воздействии репрессия работы КБв, КБ_{1G} и КБ_{2G} сопровождалась снижением секреции слюнных желез, что согласуется с действием атропина на слюнную железу. Атропин мог вызывать появление пухов *de novo*, не отмеченных в контроле и возникающих произвольно в концентрациях 130-1000 мг/л и во всех экспозициях у единичных особей. Следует отметить, что такой показатель ТА, как индекс видоспецифичного пуха плеча В никогда не коррелирует с работой других активных участков ПХ. Поэтому использование этого показателя при тестировании холинотропных препаратов не рекомендуется.

Список литературы

- Белянина С.И., Кузьмина К.А., Сигарева Л.Е. Гигантские хромосомы хирономид как модель для изучения генетических эффектов пестицидов на водные организмы // Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1979. С. 80-83.
- Василос А.Ф. Цитотоксические и цитогенетические свойства пестицидов. Кишинев: Штиинца, 1980. – 120 с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., Практика, 1998. 459 с.
- Демин С.Ю., Ильинская Н.Б. Изменение компактности политенных хромосом из разных органов личинок мотыля *Chironomus plumosus* // Цитология. 1988. Т. 30, № 4. С. 407-415.
- Жимулев И.Ф. Политенные хромосомы: морфология и структура. – Новосибирск: Наука, 1992. 480 с.
- Жимулев И.Ф. Хромомерная организация политенных хромосом. – Новосибирск: ВО «Наука», 1994. – 565 с.
- Зацепина О.В. Современные представления о свойствах и функциях ядрышка: ядрышко как мишень стрессовых воздействий на клетки // Цитология. 2007. Т. 53, № 9. С. 748-749.
- Ильинская Н.Б. Характеристика политенных хромосом различной степени компактности у личинок природной популяции хирономуса // Цитология. 1984. Т. 26. №5. С. 543-551.
- Ильинская Н.Б. Морфологическая изменчивость политенных хромосом личинок хирономид в естественных условиях обитания // Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. д.б.н., Л., 1989. 38 с.
- Ильинская Н.Б. Согласованность изменений компактности политенных хромосом и их плеч в клетках слюнных желез при акклиматизации личинок мотыля к различным температурам // Цитология. 1990. Т.32. №10. С. 993 – 1001.
- Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. – Л.: Наука, 1972.
- Лукьяненко В.И. Токсикология рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1967. – 215 с.
- Лычев В.А. Изучение величины и распределения пухов *Drosophila melanogaster* в норме и при влиянии инбридинга и облучения: Дисс. канд. биол.наук. Обнинск, 1968.
- Федорова И.А., Полуконова Н.В. Реакция различных участков генома хирономид (Diptera) под действием атропина // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Вып. 6. Саратов. Изд-во Сарат. ун-та, 2007 (в печати).
- Федорова И.А., Полуконова Н.В. Изменение транскрипционной активности политенных хромосом *Chironomus plumosus* (Diptera) под действием полулетальной концентрации атропина // «Труды Ставропольского отделения Русского энтомологического общества». Ставрополь. 2008, в печати.
- Шобанов Н.А., Демин С.Ю. *Chironomus agilis* – новый вид из группы *plumosus* (Chironomidae, Diptera) // Зоол. ж. 1988. Т. 67 (10). С. 1489–1497.
- Юрин В.М. Основы ксенобиологии. Мн.: Новое знание, 2002. – 267 с.
- Grossbach U. The salivary gland of *Chironomus* (Diptera): a model system for the study of cell differentiation // Results and problems of cell differentiation. Vol. 8. Biochemical differentiation in insect glands / Ed. W. Beerman. Berlin; Heidelberg; New York: Springer .Verlag, 1977. P. 147-196.
- Lezzi M., Gilbert L.I. Control of gene activities in the polytene chromosomes of *Chironomus tentans* by ecdysone and Juvenile hormone // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1969. Vol. 64. P. 498 – 503.
- Stockert J.C. The normalized Balbiani size as a quatitave parametr for transcription activity in polytene chromosomes // 19.Biol. Zbe. 1990, v.109. №2. P. 139-146.

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ С УЧАСТИЕМ БАЙКАЛЬСКИХ И ОБЩЕСИБИРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ

Е.В. Федосеева^{1,2}, А.А. Ключевская¹, Д.И. Стом¹, В.А. Терехова²

¹*Иркутский Государственный Университет*

г. Иркутск, 664003, ул. Сухэ-Батора, Ленина, 1, Россия

²*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

г. Москва, 11991, Ленинские горы, д.1, стр.12, Россия,

feodoseeva@yandex.ru, stomd@mail.ru, letap-msu@letap.ru

В биологическом мониторинге окружающей среды используется широкий спектр биологических тест-систем. В качестве тест-реакций применяются физиологическое состояние организма, биохимические параметры живого объекта и многие другие (Стом и др., 1993; Терехова, 2007). Эффективными для индикации токсичности водной среды благодаря простоте инструментального оформления, экспрессности, чувствительности и воспроизводимости можно считать визуально фиксируемые реакции гидробионтов (Флеров, 1979; Брагинский и др., 2005).

Целью работы являлась оценка эффективности ряда фиксируемых реакции гидробионтов как показателей токсичности водной среды.

Объектами исследований служил байкальский эндемичный вид амфипод – *Eulimnogammarus vittatus* (Dybowsky, 1874). Выбор объекта был обусловлен тем, что амфиподы, являясь одной из самых распространенных групп байкальских организмов (более чем 250, согласно Атлас..., 1995), могут претендовать на роль представительных тест-организмов для целей биоиндикации. В качестве модельного токсиканта был выбран HgCl_2 , действие которого оценивалось в следующих концентрациях: 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6 моль/м³. В работе использовали реактивы марки х.ч. и чда. В работе изучалось изменение под действием соли ртути выживаемости рачков, их фото- и хемочувствительности, двигательной активности, инициированной действием света.

Выживаемость рачков оценивали в течение 32 часов. В период экспонирования в токсиканте бокоплавыв находились в темноте при температуре 7-9 оС. Общее число беспозвоночных в эксперименте брали за 100 процентов.

Для изучения фототаксиса под действием HgCl_2 использовали кюветы 40Ч20. Реакцию фототаксиса определяли при интенсивностях естественного света: 200, 2500, 9000 люкс. Общее число беспозвоночных в эксперименте брали за 100 процентов. Кюветы затемняли плотной черной материей так, что освещенной оставалось только 25 % поверхности садков. Первоначально все объекты (20 экземпляров бокоплавов) помещали в освещенную часть, за перемещением гидробионтов наблюдали в 30 минут, фиксируя их местоположение через каждые 5 мин. Через полчаса затемняли противоположную часть кюветы для подтверждения (или опровержения) тенденции распределения. Интенсивность света замеряли с помощью люксметра типа ("ТКА-ЛЮКС").

Реакции преференции изучали в проточных установках близких к описанным в (Стом и др., 1999). Они состояли из 2-х камер 25Ч45см. Камеры отделялись друг от друга перегородкой, которая не доходила до конца. Поэтому потоки воды независимые с противоположных концов здесь перед сливом вода из 2-х камер перемешивалась. Уравнивания скоростей потока (до 1,5 л/ч) достигали пропуска предварительно подкрашенную витальными красителями воду. Уровень жидкости в камерах поддерживали равным 4-5 см. Для устранения влияния света, опыты проводили в темноте. В установку запускали по 20 экземпляров взрослых особей. Затем в камеры подавали воду одного и того же состава из 2-х разных емкостей добывались близкого числа амфипод в обеих камерах. После этого в установку подавали воду с разными гидрохимическими характеристиками с интервалом 15 минут подсчитывали количество рачков в каждом отсеке. Потоки периодически взаимозаменяли. Это устраняло возможные различия в камерах.

Двигательную активность амфипод, инициированную действием света, измеряли в камере 2х8х6 см по количеству перемещений через середину камеры. Подсчет количеств перемещений производился в течении минуты, между помещением рачка в камеры и началом измерений оставляли 30 секунд для предварительной адаптации гидробионта. Перед помещением в камеру амфиподы находились в темноте при температуре воды 6-8оС. Двигательную активность оценивали при следующих уровнях интенсивности света: 200 люкс, 2,5 тыс. и 9 тыс. люкс. Температура растворов в камере поддерживалась на уровне 6-8оС.

При двух наиболее высоких концентрациях 100% рачков *E.vittatus* погибали в течение первого часа экспонирования. При 10-4 моль/м³ HgCl_2 50% амфипод этого вида умирало в течение двух часов, а полная гибель наступала в течение 6 часов. На 6 час экспонирования при 10-5 моль/м³

живыми оставалось $50 \pm 14\%$ рачков. Такое же количество рачков оставались жизнеспособными на 32 час эксперимента. При уровне HgCl_2 10^{-7} моль/л амфиоды не умирали в период проведения эксперимента.

Чаще всего при токсикометрии за критерий токсичности принимают гибель используемого объекта. В случае с планариями был сделан вывод о том, что изменение реакции фототаксиса под воздействием токсикантов может быть более прогнозируемой и чувствительной оценкой определения токсичности, чем гибель объекта (Ключевская и др., 2006). Для разработки нового более чувствительного биотеста было решено использовать скорость ухода от света байкальских гидробионтов.

Таблица 1. Распределение *E.vittatus* между зонами «свет-затемнение» в 10^{-4} моль/м³ и 10^{-6} моль/м³ растворах HgCl_2 при 8,5 тыс. люкс (в таблице указано количество рачков на свету)

длительность эксперимента, мин.	5	10	15	20	25	30
контроль	$16,7 \pm 1,2$	$16, \pm 14,6$	$20,8 \pm 11$	$33,3 \pm 7,3$	$20,8 \pm 3,7$	$20,8 \pm 11$
10^{-4} моль/м ³	$25 \pm 4,4$	$15 \pm 4,4$	$25 \pm 13,1$	$30 \pm 2,5$	$40 \pm 2,5$	$30 \pm 2,5$
10^{-6} моль/м ³	$20 \pm 17,5$	$30 \pm 17,5$	$30 \pm 8,8$	$20 \pm 8,8$	$10 \pm 1,2$	$25 \pm 4,4$

Реакция фототаксиса байкальских амфиод *E.vittatus* оценивалась при концентрациях HgCl_2 10^{-4} моль/м³ и 10^{-6} моль/м³ непосредственно в растворах этой соли ртути (таблица 1.), а также после 1-часового экспонирования в растворах данного токсиканта. После предварительного экспонирования рачков в токсиканте характер распределения был похожим на представленный в таблице 1.

По результатам реакции фототаксиса трудно выявить какую-либо тенденцию из-за высокой двигательной активности амфиод, которая была положена в основу следующего метода оценки токсического действия HgCl_2 .

При 200 люкс наблюдали статистически значимое снижение двигательной активности при 10^{-2} моль/м³ и 10^{-5} моль/м³ HgCl_2 , интересно, что при 10^{-4} моль/л токсиканта количество перемещений рачков незначительно увеличивается. Вообще при всех исследованных уровнях интенсивности света в 10^{-4} моль/м³ HgCl_2 отмечали более высокую двигательную активность амфиод в сравнении с другими представленными концентрациями токсиканта. Статистически значимое снижение двигательной активности рачков *E.vittatus* при 2,5 тыс. люкс отмечали в 10^{-2} моль/м³, 10^{-3} моль/м³, 10^{-5} моль/м³ HgCl_2 . И, наконец, при 9 тыс. люкс в соли ртути всех концентраций происходило снижение количеств перемещений через середину камеры (рисунок 1.). Поэтому для дальнейшей оценки двигательной активности, инициированной действием света, как метода выявления влияния токсиканта на амфиод мы предлагаем уровень интенсивности света 9 тыс. люкс.

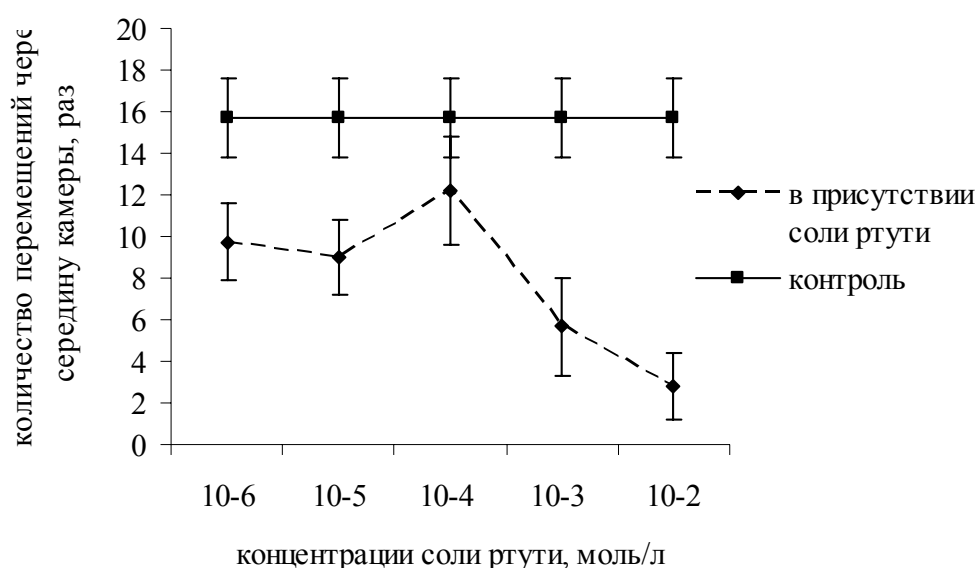


Рис. 1. Двигательная активность *E.vittatus* в присутствии HgCl_2 различных концентраций при 9 тыс. люкс

После предварительного экспонирования *E.vittatus* в 10^{-4} моль/м³ и 10^{-6} моль/м³ HgCl_2 в течение часа двигательная активность рачков снижалась. Следует отметить, что после 1-часового

экспонирования амфипод в 10^{-4} моль/м³ соли ртути и последующем помещении гаммаридов в чистую байкальскую воду больше 50% рачков погибало. А перемещение в байкальскую воду бокоплавов, которые до этого экспонировались в 10^{-6} моль/м³ HgCl₂, приводило к возвращению рачков в нормальное физиологическое состояние: двигательная активности амфипод была равна контролю.

Так на рисунке 2 хорошо видно, что рачки реагируют избеганием на внесение в поток 10^{-6} моль/м³ HgCl₂. При более высоких (10^{-2} - 10^{-5} моль/м³) концентрациях HgCl₂ гибель рачков начинала происходить уже в проточных установках в виду длительности эксперимента. Поэтому мы предлагаем использовать метод гидропреференции для оценки влияния низких концентраций токсиканта на гидробионтов.

Как тест-реакция на внесение солей хлористой ртути оценивалось количество ударов плеопод (дыхательных ножек) рачков за минуту. В ходе экспериментов не выявлено показательных результатов, отражающих токсическое действие соли ртути на амфипод. Это может быть связано с большой долей субъективизма в ходе работы, кроме того, результаты сопровождаются большими погрешностями.

Таким образом, после оценки эффективности применения различных визуально фиксируемых тест-реакций для выявления влияния соли хлористой ртути на *E.vittatus* предложено использовать комбинированный подход:

- выживаемость рачков;
- двигательную активность, инициированную действием света, как экспресс-метод оценки преимущественно высоких и средних концентраций токсиканта;
- реакцию гидропреференции как наиболее чувствительный метод при оценке влияния низких концентраций токсиканта.

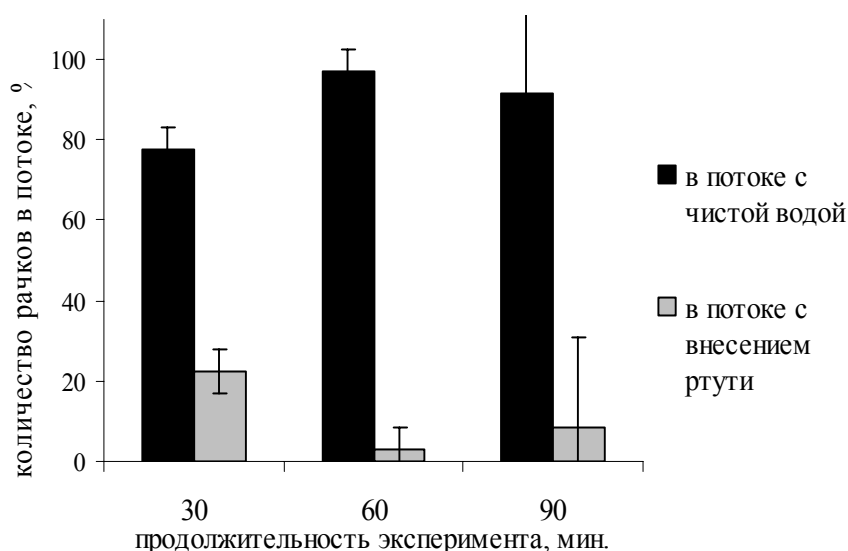


Рис. 2. Распределение *E.vittatus* между потоками с внесением 10^{-6} моль/м³ HgCl₂ и без соли

Список литературы

Атлас определитель пелагобионтов оз. Байкал. - Новосибирск: Наука, 1995.-693 с.

Брагинский Л.П., Игнатюк А.А. Визуально фиксируемые реакции пресноводных гидробионтов как экспресс-индикаторы токсичности водной среды //Гидробиологический журнал. – 2005. – Том 41; №4 – С.89-103.

Ключевская А.А., Стом Д.И., Колесова У.О. Некоторые экологические особенности байкальских и общесибирских турбеллярий //Сибирский экологический журнал. – 2006. – № 6 – С. 761 – 766.

Стом Д.И., Тимофеев М.А. О реакции избегания *Gammarus lacustris* Sars байкальской воды //Сибирский экологический журнал. – 1999. - №6 – С.649-653.

Стом Д.И., Гиль Т.А., Балаян А.Э. Бактериальная люминесценция и биотестирование. – Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1993. – 152 с.

Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. - 215с.

Флеров Б.А. Поведенческие аспекты водной токсикологии //Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов: Материалы двух сов.-амер. симп. – Л.: Наука, 1979. – с. 266-276.

ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА РЫБ, ИСПОЛЪЗУЕМЫХ В БИОТЕСТИРОВАНИИ

О.Ф. Филенко, Е.В. Оганесова

МГУ им М.В. Ломоносова, Биологический факультет
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Россия, toxic_fish@mail.ru

Важными требованиями к методам токсикологического биотестирования является оперативность получения информации, что обусловлено необходимостью управления процессом возможного изменения токсичности вещества для тест-объектов во времени (Карпович, Лукьяненко, 1990). Острое испытание позволяет быстро выявлять токсичность загрязнения, однако результаты острых опытов не дают точного представления о токсичности и потенциальной опасности вредных веществ в случаях длительного, подострого и хронического воздействия, о стабильности токсичных веществ в водной среде и о возможности функциональной кумуляции действия токсиканта. За редким исключением не установлены соотношения между эффектами высоких уровней загрязнения и продолжительных воздействий относительно малых концентраций веществ.

Комплектование набора биотестов с учетом многих критериев достигается благодаря применению методов биотестирования с использованием в качестве тест-объектов гидробионтов различных систематических групп - рыб, беспозвоночных, водорослей, бактерий (Филенко, 1988). Одним из наиболее важных объектов изучения в водной экосистеме являются рыбы, поскольку наряду с водными млекопитающими и птицами, находятся в области конечного звена трофической цепи, имея промысловое значение (Протасов, 1976). И если закономерности острой токсичности различных загрязняющих веществ для целого ряда видов рыб относительно детально исследованы, хронический эффект длительных, по времени сопоставимых с естественной продолжительностью жизни, концентраций загрязняющих веществ на рыб, ждет своего исследования (Ведемейер и др., 1981; Яржомбек и др., 1991).

Кроме показателей летального воздействия в экологическом отношении значение имеют многочисленные структурные (анатомические) и функциональные (физиологические) характеристики организма (Филенко, Исакова, 1981). Использование некоторых структурных и функциональных характеристик сообществ для оценки качества водной среды (наряду с абиотическими показателями) является обязательным (ГОСТ 17. 1. 3 . 07-82; ГОСТ 17. 1. 2. 04-77; РД 52. 24. 565-90; РД 52. 24. 564-96; РД 52. 24. 420-95 и др.).

В связи с этим целью нашей работы было исследование сравнительной чувствительности аквариумных рыб двух видов, применяемых для биотестирования потенциально токсичных вод, и выявление отдаленных последствий при длительной интоксикации бихроматом калия.

В качестве тест – объекта в работе использовали рыб двух видов, наиболее часто находящихся применение в экотоксикологических исследованиях: Гуппи- (*Poecilia (Lebistes) reticulata*, Peters, 1859) и Данио рерио (*Brachydanio rerio*, Hamilton-Buchanan, 1822).

Были проведены испытания хронической токсичности бихромата калия (180 суток). Для эксперимента было использовано по 90 особей обоих видов в возрасте 3.5 недель. Мальки были получены в условиях лаборатории от здоровых производителей, не использовавшихся ранее в токсикологических экспериментах. Для испытаний использовали стеклянные аквариумы прямоугольной формы объемом 10 л, в которые вносили 5 л испытываемой среды (чистую воду (контроль) или раствор $K_2Cr_2O_7$, содержащий 0.1 или 1.0 мг/л Cr^{6+}). В каждый аквариум помещал по 10 особей. Рыб кормили поочередно живым и сухим кормом, обеспечивая в аквариумах круглосуточную аэрацию и постоянный температурный режим на уровне 25⁰ С. Воду в опыт брали водопроводную, отстоянную в течение 7 - 10 дней.

В ходе опыта учитывали: цвет и форму тела и плавников, наличие кровоизлияний, поведенческие и двигательные реакции, нарушения морфологических параметров тела. Морфологическими аномалиями у рыб считались искривление позвоночника в области брюшка и хвостового плавника, прогибание позвоночного столба по всей длине тела, а также выпадение нижней челюсти. Отдельно регистрировали прирост биомассы и изменение длины тела рыб. У *Poecilia reticulata* вели учет проявления вторичных половых признаков, таких как появление индивидуальной окраски, формирование анальных плавников, приобретение определенной, характерной для соответствующего пола, формы тела. Измерения длины начали у обоих видов рыб одновременно с посадкой их в опыт, а изменения массы оказалось возможным проследить, начиная с 71-х суток жизни рыб. Замеры проводили через каждые семь суток. В последующие (после окончания опыта) 3 месяца оценивали сохранение способности рыб к размножению.

В опыте по исследованию длительного влияния токсиканта на разные жизненные показатели у рыб выявлены определенные различия (табл.1.). Изменения длины тела у обоих видов рыб в процессе роста и развития происходили одинаково. Общий прирост длины тела *Poecilia reticulata* в присутствие токсиканта в целом незначительно отставал от прироста в контроле. Статистически достоверны отличия от контроля отмечались только с 79х суток. Отставание в приросте от контроля свидетельствует о возможных нарушениях обмена веществ, выразившихся в замедлении роста рыб.

У *Brachydanio rerio* на протяжении всего времени опыта мы не отмечали достоверных отличий от контроля в изменении длины тела рыб

Прирост массы тела также достоверно не отличался от контроля у рыб обоих видов. Однако, у данио в концентрации 1.0 мг/л на 135-е сутки наблюдается резкий прирост массы тела при отставании в приросте длины по отношению к контролю. Возможно, это связано с обводнением тела вследствие нарушения водно-солевого баланса, что является признаком влияния хрома, как тяжелого металла (Перевозников, Аршаница, 1998).

Таблица 1. Сравнительная оценка влияния бихромата калия на рыб в хроническом опыте.

Концентрация, мг Cr/л	Вид	
	<i>Poecilia reticulata</i>	<i>Brachydanio rerio</i>
Контроль	Прирост длины тела 12.60 мм Прирост массы тела 0.13 г Уродств нет	Прирост длины тела 16.20 мм Прирост массы тела 0.16 г Уродств от общего кол-ва рыб 7%
0.1	Прирост длины тела 11.10 мм Прирост массы тела 0.10 г Уродств нет	Прирост длины тела 15.10 мм Прирост массы тела 0.16 г Уродств от общего кол-ва рыб 17%
1.0	Прирост длины тела 11.2 мм Прирост массы тела 0.11 г Уродств нет	Прирост длины тела 15.20 мм Прирост массы тела 0.17 г Уродств от общего кол-ва рыб 33%

Накопление подобных нарушений привело к гибели рыб в концентрации 1.0 мг Cr/л к концу опыта. Нарушение роста обусловлено изменением пластического обмена. Процессы пищеварения и эффективность усвоения пищи могут не нарушаться под влиянием токсичных веществ, но направление усвоения питательных веществ будет зависеть от условий среды. Либо они будут использованы на рост, либо на процессы компенсации повреждений и адаптацию, требующую больших энергетических затрат (Попова Г. В., 1973). В условиях аквариума рыбы имеют достаточное количество легкодоступной пищи, и поэтому все затраты могут быть компенсированы. В реальных природных условиях при токсическом воздействии дефицит питания может приводить к более значимым нарушениям, чем в условиях лабораторного опыта. У *Brachydanio rerio* мы наблюдали серьезные морфологические изменения в структуре скелета. В концентрациях 0.1 и 1.0 мг Cr/л количество морфологических аномалий на 71-е сутки жизни рыб составляло 8% и 20%, соответственно. К 135 суткам оно достигало 12% (0.1мг Cr/л) и 38% (1.0 мгCr/л) при отсутствии подобных нарушений в контроле. Появление таких патологий может быть связано с влиянием хрома на формирование и рост костной и хрящевой тканей (Рождественская, Яржомбек, 1985). Провисание позвоночника и выпадение нижней челюсти может свидетельствовать о нарушениях в синтезе коллагена - главного компонента органической основы соединительной ткани и костей, а также дистрофии мышц тела рыб (Шоттгер, 1979). Не исключено также, что «провисание позвоночника» связано с нарушением структуры компонентов мышц в результате взаимодействия с катионами металла. Последнее допущение подтверждается данными о неоднородности липидного и белкового состава мышечной ткани различных участков тела рыбы. Тяжелые металлы интенсивнее связываются в красных мышцах, чем в белых, что связано с повышенной метаболической способностью красных мышц, составляющих у рыб до 50% от общего объема мышц тела (Bishop, Neary, 1998; Аршаница, Лесников, 1987). За последние годы увеличилось число случаев аномалии скелета у рыб в природных популяциях. Приводится множество примеров спинных фузий и искривлений, позвоночного сжатия (уплощение), аномалий головы и плавника. Такие нарушения чаще всего наблюдаются в загрязненных акваториях. Связь между частотой появления аномалий скелета водных позвоночных и загрязнением была подтверждена экспериментально. Хлорорганический пестицид Кепон, например, вызывал сколиоз у миног, при действии тяжелых металлов у рыб наблюдались искривления и

разрывы позвоночника (Яковлев, 2005). Все эти данные подтверждаются нашими исследованиями в лабораторных условиях.

Отсутствие подобных нарушений развития у гуппи свидетельствует об устойчивости тканей к повреждениям в процессе роста у рыб этого вида, возможно - из-за защищенности их формирования в период внутриутробного развития.

У *Poecilia reticulata* появление вторичных половых признаков (особенно - индивидуальной окраски) у особей обоих полов в контроле завершилось к 145-м суткам их жизни. Действие концентрации 0.1 мг Сг/л вызывало стимуляцию в появлении окраски тела у рыб, формирование которой закончилось уже к 93-м суткам. В концентрации 1.0 мг Сг/л на протяжении всего эксперимента наблюдалось отставание развития от контроля, и формирование индивидуальной окраски, как вторичного полового признака, у всех особей отмечено лишь к 152-м суткам жизни рыб. Замедление приобретения окраски тела гуппи может служить показателем задержки развития вторичных половых признаков.

Исследования показателя плодовитости у *Poecilia reticulata* показали, что количество родившихся мальков на самку составило 0.94 в контроле. В концентрациях 0.1 мг Сг/л и 1.0 мг Сг/л отставание от контроля составляет 53% и 85%, соответственно. Полученные данные свидетельствуют о способности гуппи к размножению в условиях длительного влияния исследуемого токсиканта. Как установил С.Ю. Фень, проводивший испытания в рамках нашего общего опыта, у данио также сохранялась способность к размножению, эффективность которого зависела от концентрации хрома в среде.

Представленные результаты свидетельствуют об относительно высокой резистентности рыб к бихромату калия, в связи с чем этот реактив едва ли приемлем в качестве токсиканта сравнения при биотестировании с использованием рыб.

Особенностью действия бихромата калия является проявление отдаленных последствий, в частности, морфологических изменений. Вероятно, это служит результатом нарушений формирования костных тканей рыб.

Представленные результаты подтверждают, что существующая методология биотестирования при токсикологическом контроле не позволяет выявлять экологически значимых отдаленных эффектов воздействия загрязняющих веществ.

Список литературы

- Аришаница Н.М., Лесников Л.А. Патологоморфологический анализ состояния рыб в полевых и экспериментальных исследованиях. Л.- 1987.
- Ведемейр Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. М.: Легкая промышленность.- 1981.-128с.
- Карпович Т.А., Лукьяненко В.И. Рекомендации к разработке комплексного, экспрессного метода тестирования сточных вод с использованием рыб в качестве тест- объекта // Экспер. водн. токсикол.- 1990.- №14.- с.232-237.
- Перевозников М.А., Аришаница Н.М. Токсикозы рыб и их диагностика. Л., Изд. ГосНИОРХ.- 1998.-76с.
- Попова Г. В. Характер действия некоторых гербицидов на карповых рыб. Автореферат.- Петрозаводск.-1973.-26 с.
- Протасов В.Р. Поведение рыб. М.: Пищевая промышленность. – 1976.-295 с.
- Рождественская В.И., Яржомбек А.А. Тестирование физиологического состояния рыб. М.: ВНИРО.- 1985.
- Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Предсказание токсического эффекта загрязняющих веществ на гидробионтов в отдаленный период на основе данных острых опытов//В сб.: Теоретические вопросы водной токсикологии. Л.:Наука.-1981.- С. 121 – 137.
- Филенко О.Ф. Водная токсикология. – М.: МГУ.- 1988. – 154с.
- Шоттгер Р. А. Некоторые соображения о проведении тестов по определению токсичности в воде. /В кн.: Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов., Ленинград.: Наука.- 1979.-стр. 154-168.
- Яковлев А.С. Экологическое нормирование качества окружающей среды в переходный развития общества / А. С. Яковлев // Исполъз. и охрана природ. ресурсов России. - 2005. - № 2. - С. 104-106.- Библиогр.: с. 106 (5 назв.). - АКУНБ.
- Яржомбек А.А., Микулин А.Е., Жданова А.Н. Токсичность веществ для рыб в зависимости от способа воздействия // Вопр. ихтиол.- 1991.- №3.-с. 496- 502.
- Bishop J.H., Neary B.D. The distribution of mercury in the tessues of fresh-water fish./ H. Drucker and R. E. Wildung (eds.)// Biological implification of metals in the envaronment, Tech. Inf. Center, Energy and development Ads. U.S.-1998. - pp. 452-464.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА МЕТАБОЛИЗМ СОРБИТА В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ЖИВОРОДКИ РЕЧНОЙ

И.Л. Цветков, А.П. Попов, А.С. Коничев

Московский государственный областной университет
107005, Москва, ул. Радио, д. 10а; Россия, i_tsvetkoff@mail.ru

Сорбит, глицерин и некоторые другие многоатомные спирты – важные запасные метаболиты животного происхождения, позволяющие регулировать плотность и вязкость биологической жидкости (кровь, лимфа, межклеточная жидкость) (Driedzic and Ewart, 2004). Поскольку эти вещества являются побочными метаболитами и не участвуют непосредственно в углеводном обмене, их накопление в организме может меняться в очень значительных пределах, что приводит к изменению ряда физических параметров жидкой фазы, в частности, понижению температуры замерзания. Это свойство, послужившее причиной называть полиолы и другие производные глюкозы природными антифризами или криопротекторами, особенно важно для пойкилотермных животных, которые обитают в местах с преимущественно низкой температурой или вынужденных адаптироваться к её сильным колебаниям (обитание в зоне резко континентального климата, связанные с этим периоды глубокого покоя, «вмерзание» в лёд в зимнее время года, а также миграции, связанные с размножением или поисками корма) (Driedzic *et al.*, 2006; Lewis, Ewart and Driedzic, 2004).

Предполагают, что и у гомойотермных животных накопление в плазме побочных производных глюкозы (в наибольшей степени – глицерина) представляет собой один из механизмов адаптации к понижению температуры окружающей среды. В частности, такое заболевание как инсулинозависимый сахарный диабет (I типа) с общебиологической точки зрения предлагают рассматривать как рудиментарную форму повышения устойчивости к холоду (Moalem *et al.*, 2005).

Однако, как и большинство других метаболитов, сорбит и глицерин служат не только криопротекторами, но выполняют ряд других биохимических функций. Самая очевидная из них – депонирование энергии наряду с гликогеном, особенно у несовершенных в эволюционном смысле животных. В частности глицерин у лососёвых рыб, накапливаемый в плазме при снижении температуры, немедленно вовлекается в обмен углеводов, как только температура окружающей среды вновь повышается. Это позволяет извлекать запасённую энергию значительно раньше, чем это возможно при использовании гликогена (Lewis, Ewart and Driedzic, 2004). Другая смежная функция побочных метаболитов связана с повышением осмотического давления, на фоне которого различные производные глюкозы индуцируют снижение текучести плазматических мембран и, как следствие, повышение устойчивости к оксидативному стрессу и ряду токсических агентов (Alves-Araújo *et al.*, 2007). Есть основания полагать, что в действительности метаболическая роль побочных продуктов углеводного обмена ещё сложнее. Установлено, в частности, что сорбит может индуцировать апоптоз в опухолевых клетках костного мозга человека путём снижения мембранного потенциала митохондрий, накопления цитохрома c и активации каспазы 3 (Marfè *et al.*, 2008). Таким образом, исследование динамики сорбита, глицерина и подобных соединений может раскрыть самые неожиданные взаимосвязи в механизмах регуляции метаболизма, в том числе, связанной с адаптацией к стрессу, также способному индуцировать апоптоз.

В свою очередь, динамику побочных метаболитов регулируют соответствующие ферменты, прежде всего дегидрогеназы (α -глицерофосфатдегидрогеназа, сорбитолдегидрогеназа, альдозоредуктаза) и фосфатазы (α -глицерофосфатаза, глюкозо-1-фосфатаза, глюкозо-6-фосфатаза, фруктозо-6-фосфатаза, возможно, неспецифичные фосфатазы) (Цветков, Попов и Коничев, 2003; Driedzic *et al.*, 2006; Frenette, Thabet and Sullivan, 2006; Liebscher *et al.*, 2006). Часто прирост активности этих ферментов (или их мРНК) отождествляют с накоплением глицерина и сорбита, поскольку этиологически эти показатели действительно жёстко связаны между собой. Нами была исследована эта взаимосвязь на примере брюхоногого моллюска живородка речная (*Viviparus viviparus* L.), в частности, определено содержание сорбита и активность кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2), сорбитолдегидрогеназы (КФ 1.1.1.14) и альдозоредуктазы (КФ 1.1.1.21) в пищеварительной железе.

Подопытных животных собирали на р. Вязь (пос. Тишково Московской обл.) и несколько дней акклиматизировали к лабораторным условиям, для чего содержали в аквариуме, наполненном природной водой (около 80 л) и грунтом с фрагментами высших растений из того же водоёма при температуре около 18°C, круглосуточной аэрации воды и освещении естественным светом. Для эксперимента животных пересаживали в другие ёмкости (около 5 л) группами по 15-20 шт., где экспонировали в воде, содержащей хлорид кадмия (0.005 мг Cd^{2+} /л), или при пониженной температуре (4-6°C) практически без света в течение 1, 4 и 11 суток. По истечении экспозиции из каждой группы,

включая контрольную (аквариум), отбирали 5-6 особей и извлекали у них пищеварительную железу, которую гомогенизировали на холоду с пятью объёмами 0.15 M NaCl. В полученном экстракте определяли активность ферментов спектрофотометрически (кислую фосфатазу с ρ -нитрофенилфосфатом, сорбитолдегидрогеназу и альдозоредуктазу – с сорбитом и коферментами НАД⁺ и НАДФ⁺, соответственно) и содержание сорбита методом ВЭЖХ (после предварительной очистки экстракта от белков и липидов) на колонке Phenomenex Art#236547 (наполнитель модифицирован для наилучшего разделения спиртов). Детекцию производили по оптической плотности выходного потока в диапазоне 190-205 нм, в качестве элюента использовали 0.005 N H₂SO₄ (скорость элюции – 0.5 мл/мин). Все полученные значения выражали в процентах отклонения от контроля.

За первые сутки активность кислой фосфатазы понизилась на 28% при воздействии холода и на 14% вследствие токсической нагрузки хлоридом кадмия (рис. 1). На четвертые сутки интоксикация вызвала существенный прирост активности фермента почти на 270%, тогда как при воздействии холода активность хоть и несколько увеличилась, но контрольное значение не превысила. На одиннадцатые сутки активность кислой фосфатазы резко снизилась, оставаясь на 50% выше контроля в опыте с хлоридом кадмия и практически достигнув нуля под действием холода.

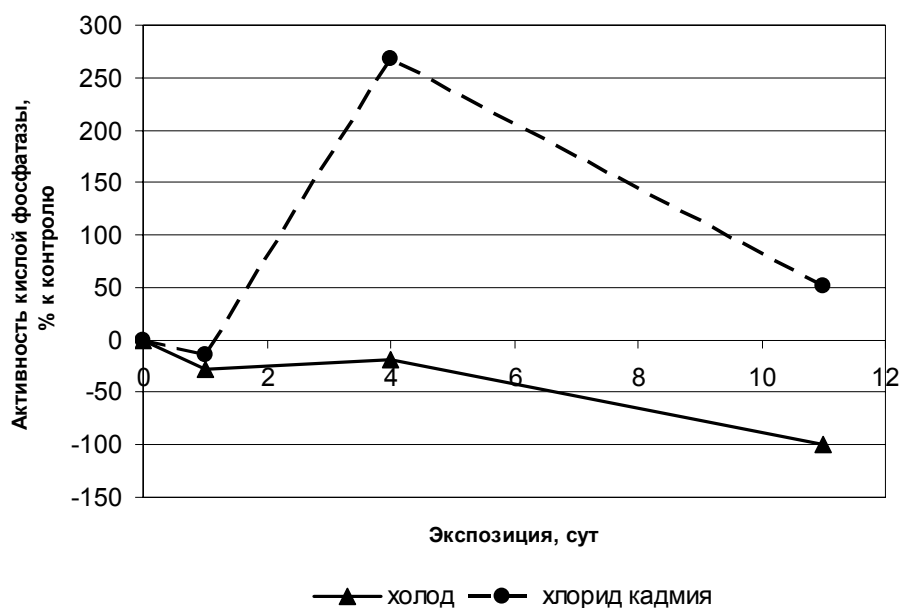


Рис. 1. Динамика активности кислой фосфатазы в пищеварительной железе живородки речной под воздействием холода и хлорида кадмия

Активность дегидрогеназ столь же заметно и разнонаправленно менялась в зависимости от экспозиции опыта и характера стресс-индуцирующего воздействия (рис. 2). Содержание моллюсков при пониженной температуре через сутки вызвало синхронный прирост активности обоих ферментов почти на 100%. За последующие четверо и одиннадцать суток экспозиции сорбитолдегидрогеназа инактивировалась более чем на 90%, тогда как активность альдозоредуктазы, напротив, постепенно выросла почти на 170%.

Аналогичная динамика наблюдалась и при воздействии хлорида кадмия, однако, в этом эксперименте преобладала активность сорбитолдегидрогеназы, за исключением экспозиции в одиннадцать суток, когда альдозоредуктаза активировалась почти на 190% и стала заметно преобладать над сорбитолдегидрогеназой.

Соответствующим образом и содержание сорбита в пищеварительной железе претерпело определенные индуцированные стрессом модуляции (см. рис. 2). В частности, при пониженной температуре выявлено устойчивое экспоненциальное накопление сорбита, достигшее значения более чем на 400% выше контрольного. При интоксикации накопление сорбита происходит только в течение первых четырех суток (до 180%), затем его масса в пищеварительной железе резко снижается, приближаясь к контрольному значению.

Следует отметить, что кроме сорбита в пищеварительной железе живородки речной мы не обнаружили присутствия других полиолов, в частности глицерина. Сорбит определялся четким и единственным пиком оптической плотности (оптимум при 195 нм) с характерным временем удержания 7.81 ($\pm 5\%$). По всей видимости, сорбит у исследуемого вида моллюсков является единственным побочным метаболитом, аккумулирующимся в организме.

Судя по литературным данным, фосфатазы и дегидрогеназы служат основными эффекторами при реализации адаптивного накопления или снижения содержания побочных метаболитов в животных тканях. В нашем эксперименте этот факт нашел очевидное подтверждение на примере динамики сорбита и сопутствующих ферментов в пищеварительной железе живородки речной.

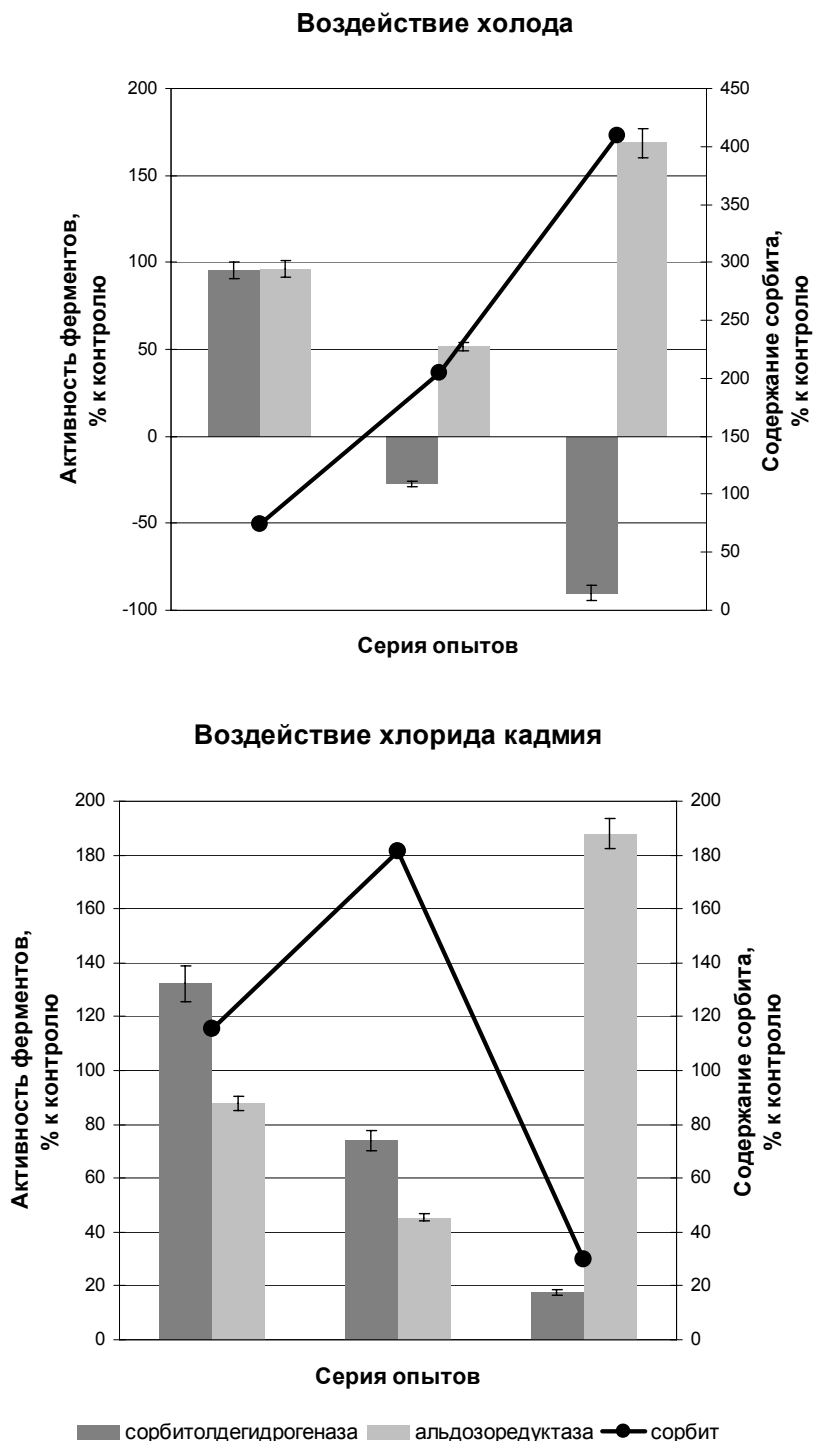


Рис. 2. Динамика активности сорбитолдегидрогеназы, альдозоредуктазы и содержания сорбита в пищеварительной железе живородки речной под воздействием холода и хлорида кадмия. Серии опытов соответствует экспозиция 1, 4 и 11 суток

При понижении температуры среды обитания у моллюсков уже через сутки наблюдается увеличение активности дегидрогеназ и, соответственно, содержание сорбита в пищеварительной железе, образуемого, по-видимому, из примерно равных долей глюкозы и фруктозы (рис. 3). Однако затем активность сорбитолдегидрогеназы резко снижается и последующее накопление сорбита возможно только путем восстановления из глюкозы.

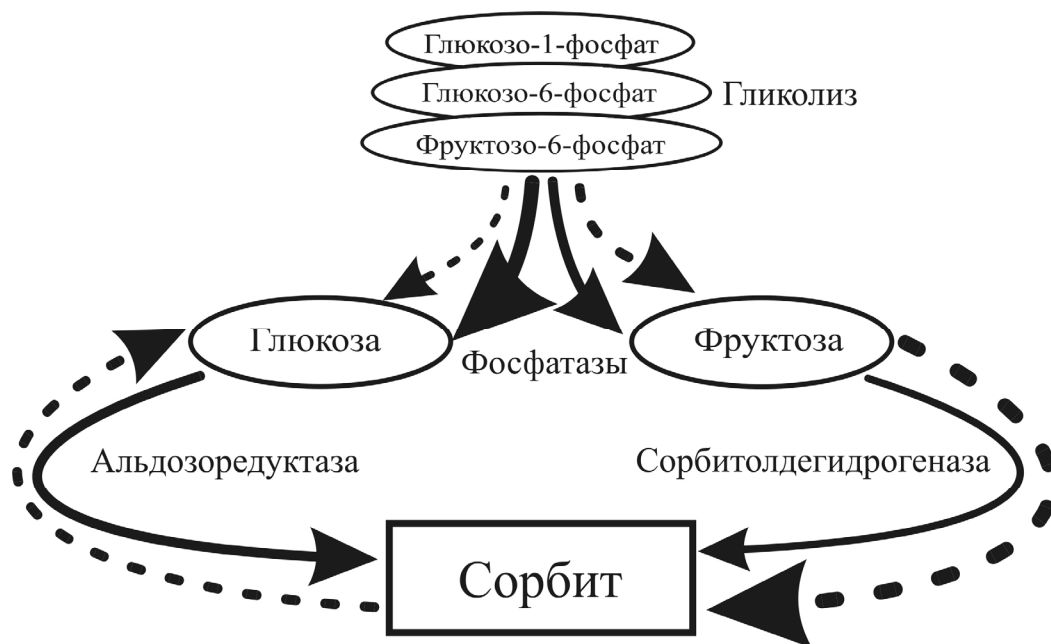


Рис. 3. Схема метаболизма сорбита в пищеварительной железе живородки речной в состоянии стресса: сплошная стрелка – воздействие холода, пунктирная стрелка – интоксикация, толщина стрелок ориентировочно отражает пропорции выявленных превращений, соответствующие ферменты указаны рядом со стрелками

Не ясно пока, откуда в таких условиях берутся значительные количества глюкозы и фруктозы – активность фосфатаз при понижении температуры практически отсутствует, но не исключено, что у моллюсков углеводы сами по себе служат криопротекторами или в качестве их предшественников постоянно присутствуют в организме в свободном виде и быстро возобновляются, например, путём гидролиза пищевых олиго- и полисахаридов. В свою очередь, вовлечение свободных углеводов в гликолиз может регулироваться, например, соответствующими киназами.

При воздействии токсического вещества сорбит образуется преимущественно из фруктозы, чему способствует существенное увеличение активности сорбитолдегидрогеназы (преобладающей над альдозоредуктазой) и кислых фосфатаз, превращающих фруктозо-6-фосфат во фруктозу, что особенно активно происходит после интоксикации (Цветков, Попов и Коничев, 2003). В тоже время, накопление сорбита в пищеварительной железе моллюска происходит лишь в начале опыта, уже через одиннадцать суток экспозиции его содержание в печени резко падает, но при этом сорбит превращается преимущественно в глюкозу (активность альдозоредуктазы возрастает почти на 190%, а сорбитолдегидрогеназы приближается к контрольному значению).

Таким образом, нами выявлен характер адаптивных ответов организма живородки речной при воздействии холода и токсического вещества, которые принципиально не отличаются по своему результату – накоплению сорбита (по крайней мере, в течение острого опыта до четырёх суток экспозиции), однако варьируют по своему механизму, а именно – 1) участию фосфатаз, которое весьма значительно при интоксикации и ничтожно мало при адаптации к холоду, 2) источнику углеводов – предшественников сорбита, при интоксикации таковыми являются субпродукты гликолиза, в состоянии холодовой адаптации неизвестны, 3) восстановлению сорбита, в котором участвует преимущественно фруктоза после токсического воздействия и глюкоза при понижении температуры. В дальнейшем нами планируется исследовать динамику глюкозы и фруктозы в качестве предшественников сорбита, а также некоторые количественные параметры гликолиза с целью более детально представить метаболизм углеводов у моллюсков в состоянии стресса.

Список литературы

- Цветков И.Л., Попов А.П., Коничев А.С. Комплекс кислых фосфатаз живородки речной в норме и при интоксикации ионами кадмия // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 12. С. 1648-1656.
- Alves-Araújo C., Pacheco A., Almeida M.J., Spencer-Martins I., Leão C., Sousa M.J. Sugar utilization patterns and respiro-fermentative metabolism in the baker's yeast *Torulaspora delbrueckii* // Microbiology. 2007. Vol. 153. Iss. 3. P. 898-904.

- Driedzic W.R., Clow K.A., Short C.E., Ewart K.V.* Glycerol production in rainbow smelt (*Osmerus mordax*) may be triggered by low temperature alone and is associated with the activation of glycerol-3-phosphate dehydrogenase and glycerol-3-phosphatase // *J. Exp. Biol.* 2006. Vol. 209. Iss. 6. P 1016-1023.
- Driedzic W.R., Ewart K.V.* Control of glycerol production by rainbow smelt (*Osmerus mordax*) to provide freeze resistance and allow foraging at low winter temperatures // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 2004. V. 139. No3. P. 347-357.
- Frenette G., Thabet M., Sullivan R.* Polyol pathway in human epididymis and semen // *J. Androl.* 2006. Vol. 27. No 2. P. 233-239.
- Lewis J.M., Ewart K.V., Driedzic W.R.* Freeze resistance in rainbow smelt (*Osmerus mordax*): seasonal pattern of glycerol and antifreeze protein levels and liver enzyme activity associated with glycerol production // *Physiol. Biochem. Zool.* 2004. Vol. 77. No 3. P. :415-422.
- Liebscher R.S., Richards R.C., Lewis J.M., Short C.E., Muise D.M., Driedzic W.R., Ewart K.V.* Seasonal freeze resistance of rainbow smelt (*Osmerus mordax*) is generated by differential expression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, and antifreeze protein genes // *Physiol. Biochem. Zool.* 2006. Vol. 79. No 2. P. 411-423.
- Marfè G., Morgante E., Di Stefano C., Di Renzo L., De Martino L., Iovane G., Russo M.A., Sinibaldi-Salimei P.* Sorbitol-induced apoptosis of human leukemia is mediated by caspase activation and cytochrome c release // *Arch. Toxicol.* 2008 [in press].
- Moalem S., Storey K.B., Percy M.E., Peros M.C., Perl D.P.* The sweet thing about Type 1 diabetes: a cryoprotective evolutionary adaptation // *Med Hypotheses.* 2005. Vol. 65. No 1. P. 8-16.

УРОВЕНЬ КАРОТИНОИДОВ В ТКАНЯХ ЗРЕЛЫХ САМОК РУССКОГО ОСЕТРА ИЗ АЗОВСКОГО МОРЯ И В УСЛОВИЯХ ЗАВОДСКОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

Н.И. Цема

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (АзНИИРХ)
344007, ул. Береговая, 21/2, Ростов-на-Дону, Россия, ogbm_korn@rostov.ru*

В настоящее время актуальной проблемой пополнения стада осетровых рыб Азовского моря является искусственное воспроизводство. Одной из важных задач при содержании рыб ремонтно-маточного стада является мониторинг функционального состояния производителей, в частности, их репродуктивного качества. Многолетние наблюдения за функциональным состоянием осетровых Азовского бассейна, проводимый специалистами отдела генетико-биохимического мониторинга АзНИИРХ, позволил отметить позитивные сдвиги в метаболизме осетровых со второй половины 90-х годов по сравнению с периодом 1991-1995 гг. (Ложичевская и др., 2004). Система выбранных для мониторинга параметров включала ряд биохимических, гистологических, гематологических показателей, адекватно оценивающих функциональное состояние производителей осетра (Корниенко и др., 1998).

Одним из важных биомаркеров репродуктивной функции самок рыб являются каротиноиды. Каротины, поступающие в организм рыбы с пищей, попадают в печень, накапливаются в ней, а затем с кровяным током в виде каротинопротеидных комплексов поступают в гонады. Имеются данные об участии каротиноидов в механизме полового созревания рыб, а также о том, что икра, содержащая большее количество каротиноидов, является более жизнестойкой и дает значительно меньший отход при инкубации (Логонова, 1967). В последнее время появилось много работ, посвященных использованию каротиноидных препаратов в составе новых комбикормов при искусственном воспроизводстве осетровых рыб. Установлено, что введение их в рацион позволяет повысить основные рыбоводно-биологические показатели выращивания, улучшает физиолого-биохимическое состояние выращенной молоди и ремонтно-маточного стада (Митрофанова, 2005).

Целью настоящей работы являлось изучение удельного содержания каротиноидов в печени и гонадах зрелых самок русского осетра и оценки репродуктивного потенциала самок нерестовой популяции в естественных условиях и в условиях резервации на осетровых рыбопроизводных заводах (ОРЗ).

Материал для исследований отбирали в рейсах в Азовском море в течение 1998-2004 гг. в преднерестовый период (март), период нагула (июнь), в предзимовальный период (ноябрь-декабрь), а также на ОРЗ в апреле-мае 2001-2005 гг. Анализ содержания каротиноидов проведен на 103 зрелых самках осетра. Образцы тканей рыб замораживали и доставляли в лабораторию для проведения анализа. Методика определения каротиноидов описана в методическом руководстве (Физиолого-биохимические..., 2005). Для анализа данных были использованы средние величины суммарной

концентрации каротинов и ксантофиллов в печени и в гонадах, выраженные в мкг/г сырой ткани. Статистическая обработка результатов проводилась по классической методике Стьюдента-Фишера (Лакин, 1980) и использованием программ Excel 2003.

У самок нерестовой популяции (стадии зрелости гонад III-IV, IV) статистически достоверных сезонных изменений удельного содержания каротиноидов в печени и гонадах не обнаружено. Это позволило рассчитать среднемноголетние величины удельного содержания каротиноидов в печени и гонадах зрелых самок, которые составили, соответственно – 30.99 ± 3.2 и 51.66 ± 3.44 мкг/г сыр. ткани и использовать эти значения в качестве «относительной нормы» для зрелых самок осетра.

Удельное содержание каротиноидов в печени и гонадах зрелых самок осетра, выловленных в Азовском море и содержащихся на рыбопроизводных заводах представлено в таблице 1.

Таблица 1. Содержание каротиноидов в тканях зрелых самок осетра, созревающих в Азовском море и резервированных на ОРЗ, мкг/г сыр. Ткани

Место, время отбора	Печень	Гонады
Азовское море, среднемноголетнее значение	30.99 ± 3.20	51.66 ± 3.44
Темрюкский ОРЗ апрель 2001	10.67 ± 3.36 $p \leq 0.001$	18.28 ± 5.37 $p \leq 0.001$
Гривенский ОРЗ, май 2001	30.51 ± 5.71 $p \geq 0.05$	45.30 ± 4.69 $p \geq 0.05$
Гривенский ОРЗ, май 2002, озимые	1.04 ± 0.20 $p \leq 0.001$	29.11 ± 3.62 $p \leq 0.001$
Гривенский ОРЗ, май 2002, яровые	12.72 ± 1.70 $p \leq 0.001$	28.99 ± 2.36 $p \leq 0.001$
Темрюкский ОРЗ, май 2004	нет данных	37.62 ± 5.36 $p \leq 0.05$
Ачуевский ОРЗ, май 2004	27.74 ± 5.63 $p \geq 0.05$	45.34 ± 5.88 $p \geq 0.05$
Ачуевский ОРЗ, май 2005	21.25 ± 3.8 $p \geq 0.05$	40.17 ± 7.11 $p \geq 0.05$

Сравнительный анализ содержания каротиноидов у зрелых самок осетра в естественных условиях и при резервации на Гривенском (ГОРЗ), Темрюкском (ТОРЗ) и Ачуевском (АОРЗ) заводах в рыбоводный сезон 2001–2005 гг. позволил выявить статистически достоверное снижение удельного содержания каротиноидов в гонадах и печени резервированных самок по сравнению с самками, созревшими в естественных условиях (таблица 1). В 2002 г. отмечено статистически достоверное снижение концентрации каротиноидов в печени яровых и озимых самок Гривенского ОРЗ по сравнению с самками природной популяции, а также резкое их падение удельного содержания каротиноидов в печени озимых самок до критически низкого уровня по сравнению с яровыми. Это указывает на истощение печени и, возможно, депрессивное состояние самок осетра. В 2001 г. самки осетра на Гривенском ОРЗ находились в лучшем физиологическом состоянии по сравнению с 2002 г. Исследованные самки на Темрюкском ОРЗ в 2001 г. имели также низкие значения содержания каротиноидов в печени и гонадах. У самок, содержащихся на ОРЗ Ачуево в 2004-2005 гг., исследуемые показатели были в пределах нормы.

Представленные данные свидетельствуют о неблагоприятных условиях резервации самок осетра на обоих заводах (ГОРЗ и ТОРЗ), что приводит к снижению их репродуктивного качества. Это согласуется с литературными данными о снижении содержания белка и жира в тканевых депо самок при их длительной резервации в зарегулированных условиях ОРЗ, что ведет к нарушению процесса оогенеза (Корниенко и др., 1998).

Таким образом, полученные результаты позволяют считать содержание каротиноидов в исследуемых тканях рыб достаточно информативным показателем состояния репродуктивной функции самок осетра и, согласно литературным данным, определяют устойчивость репродуктивной функции в условиях антропогенного загрязнения (Дудкин, 2004). Концентрацию каротиноидов в тканях осетровых можно использовать как диагностический показатель состояния репродуктивной функции самок в условиях воспроизводства при проведении бонитировки производителей ремонтно-маточного стада.

Список литературы

- Дудкин С.И., Колесникова Л.В., Цема Н.И. Ось печень - гонады в репродуктивных циклах азовских рыб: возможные факторы устойчивости репродукции в условиях антропогенного загрязнения. //Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Материалы международной конференции 6-9 сентября 2004 г. Петрозаводск, 2004. – С. 42-43.
- Корниенко Г.Г., Кожин А.А., Воловик С.П., Макаров Э.В. Экологические аспекты биологии репродукции. – Ростов-на-Дону: Эверест, 1998. – 237 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: Высшая школа, 198. – 293 с.
- Логинова Т.А. Каротиноиды радужной форели при развитии гонад и икры. //Обмен веществ и биохимия рыб. М.: «Наука», 1967. – С. 336-340.
- Ложичевская Т.В., Корниенко Г.Г., Ружинская Л.П. Мониторинг функционального состояния производителей осетра в Азовском бассейне. //Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Материалы международной конференции 6-9 сентября 2004 г. Петрозаводск, 2004. – С. 84.
- Митрофанова М.А., Сергеева Ю.В., Федоровых Ю.В., Сергеев А.В. Применение различных каротиноидных препаратов в комбикормах при выращивании посадочного материала для ремонтно-маточного стада осетровых рыб. //Вестник Астраханского гос. техн. ун-та. 2006.- №3. - С. 71.
- Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна. /Методическое руководство. – Ростов-на-Дону: Эверест, 1998. – 237 с.

АНОМАЛИИ ПОЗВОНОЧНИКА У СЕГОЛЕТОВ ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus* (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Ю.В. Чеботарева

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН
п. Борок, Ярославская обл., Россия, julia@ibiw.yaroslavl.ru*

Воздействие на икру малых доз хлорофоса (от 10^{-2} до 10^{-6} мг/л) вызвало целый спектр изменений различных морфофизиологических показателей у сеголеток плотвы (Таликина и др, 2005). При подсчете числа позвонков у экспериментальной молоди были обнаружены многочисленные нарушения в строении позвоночника. В настоящей работе приводится описание видов и частоты встречаемости аномалий позвонков у сеголеток плотвы, начальные этапы развития которой проходили в растворах хлорофоса малых концентраций и N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (MNNG). Хлорофос относится к промышленным энзиматическим ядам и обладает нейротоксическими и мутагенными свойствами (Щербаков, 1983). Химический мутаген MNNG является метилирующим агентом прямого действия на ДНК (Brooks, Dean, 1996; Bunton, Wolfe, 1996).

В 2003 году была проведена серия экспериментов по воздействию токсикантов на эмбриональное развитие плотвы. 8 самцов и 8 самок плотвы были отловлены 13.05.2003 г. на нерестилище в р.Суножка. Осеменение икры проводилось сухим способом. Через 7-10 минут после осеменения икру поместили в кристаллизаторы с речной водой. После набухания и приклеивания икринок в кристаллизаторы были залиты равные объемы растворов хлорофоса (концентрации 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} и 10^{-2} мг/л) или MNNG с концентрацией 0,3 мг/л; в контрольном варианте икра развивалась в речной воде. В каждом варианте было около 2000 икринок. Смена воды и растворов производилась 2 раза в сутки. Экспериментальные зародыши развивались в растворах токсикантов в течение 54 часов (до этапа подвижного эмбриона). После рассасывания желточного мешка личинок выпустили в пруды, где они развивались в течение 3,5 месяцев.

У каждой рыбы измеряли длину тела от конца рыла до конца чешуйного покрова, максимальную высоту тела, длину головы и длину хвостового стебля. Для последних трех признаков определяли их индексы от длины рыбы.

Позвоночник рыб препарировали по методике Яковлева с соавторами (1981). У каждой рыбы подсчитывали число позвонков и определяли наличие и количество отдельных видов аномалий.

Статистическая обработка материала проведена с помощью пакета Statistica 6.0.

У сеголеток плотвы встречаются следующие аномалии в строении позвоночника:

1. Сращения позвонков. Выглядят как единый блок с несколькими парами нервных и гемальных дуг, тела позвонков обычно укорочены, нередко деформированы, четкая граница между ними отсутствует.

2. Недоразвитие позвонков. В этих случаях присутствует только левая или правая половина позвонка. Обычно такое наблюдается в асимметричных сращениях, когда с одной стороны позвоночника закладывается больше позвонков, чем с другой. В отдельных случаях дополнительные полупозвонки четко отграничены от соседних позвонков.

3. Деформация позвонков (нарушение формы или симметрии позвонка).

4. Незамкнутые невральные или гемальные дуги.

5. Сращения невральных или гемальных дуг разных позвонков. Отмечаются два вида таких сращений – 1) сращения невральных или гемальных дуг двух позвонков с одной (правой или левой) стороны позвоночника; 2) сращения правой ветви невральной или гемальной дуги одного позвонка с левой ветвью дуги предшествующего или последующего позвонка; обычно в этом случае собственные дуги обоих позвонков незамкнутые.

6. Деформации невральных или гемальных дуг позвонков.

7. Отсутствие дуг позвонков. Сюда относили отсутствие одной из ветвей невральной или гемальной дуги на теле позвонка, а также случаи недоразвития дуг с одной из сторон позвоночника в асимметричных сращениях.

8. Несращение невральных или гемальных дуг с телом позвонка.

9. Перемещение основания ветви невральной или гемальной дуги на соседний позвонок. В таких случаях на одном из двух соседних позвонков ветвь невральной или гемальной дуги с одной стороны отсутствует, на другом позвонке с той же стороны размещаются основания двух дуг.

10. Наличие дополнительной ветви дуги. Внешне такое нарушение имеет вид асимметричного сращения, однако тело позвонка в этих случаях практически нормальной формы, и нет признаков сращения позвонков со стороны дополнительно дуги.

Встречаемость разных видов аномалий строения позвонков у сеголеток плотвы различна. Чаще всего встречаются незамкнутые невральные или гемальные дуги. К самым распространенным нарушениям развития позвоночника также относятся сращения позвонков и отсутствие дуг позвонков, чаще всего одной из ветвей.

Средней частотой встречаемости отличались такие аномалии, как деформация позвонков и их дуг и сращение дуг соседних позвонков. Остальные виды нарушений (перемещение дуги на соседний позвонок, не сращение дуги с телом позвонка и наличие дополнительной дуги) встречались в единичных случаях.

В выборках плотвы из всех экспериментальных вариантов доля рыб с аномалиями позвоночника была значительно выше, чем в контроле, а нарушения в развитии осевого скелета были более серьезными (таблицы 1, 2). Наиболее показательной характеристикой состояния молодежи является наличие и количество сращений позвонков (таблица 1). Во всех экспериментальных вариантах в среднем на рыбу приходится по 1.5-2 сращения позвонков, в которые входит от 3.5 до 5 позвонков; максимальное количество сращений у одной рыбы – 4-6 (в разных вариантах), наибольшее число позвонков в составе сращений у одной рыбы – от 10 до 17. В контроле у 5 рыб встречалось по одному двухпозвонковому сращению, у одной было 2 сращения, включавшие в себя 7 позвонков. Воздействие токсикантов на раннее развитие приводит к увеличению количества многопозвонковых сращений у сеголеток, кроме того, в большинстве вариантов увеличивается доля асимметричных сращений (таблица 1). У экспериментальных рыб нередко отмечались случаи сложных нарушений строения осевого скелета, когда в позвоночнике были целые аномальные зоны, включавшие в себя деформированные и сросшиеся позвонки с искривленными, недоразвитыми, нередко неправильно сросшимися дугами.

Формирование позвонков у плотвы начинается от зачатков, расположенных строго против миосепт. Смещение зачатков, их редукция, несогласованность развития соседних центров окостенения позвонков, нарушение симметрии расположения миосепт приводят к ошибкам морфогенеза позвоночника. Таким путем, согласно мнению О.Г.Ванюшиной (1990), образуются сращения нескольких позвонков в один комплекс, при этом могут также закладываться дополнительные полупозвонки с одной из сторон позвоночника.

Часть нарушений строения осевого скелета, очевидно, формируется в результате ошибок окостенения позвонков, проходящего в течение 1-4 личиночных этапов развития (Ванюшина, 1990). Аномалии морфогенеза позвоночника могут быть связаны и с ошибками на более ранних этапах, например, асимметричной сегментацией зародыша. Окончательное количество метамерных элементов скелета определяется рано, задолго до появления самих элементов (Lindsey, 1988; Павлов, 2007). В эти же фенокритические интервалы определяются и многие отклонения в развитии осевого скелета (Павлов, 2007).

Таблица 1. Характеристика сращений позвоночника у сеголеток плотвы после воздействия токсикантов в раннем эмбриогенезе.

Вариант	n, экз.	Характеристика сращений позвоночника				
		Число сращений в позвоночнике	Число позвонков сращениях	Число асимметричных сращений	Среднее число позвонков в 1 сращении	Доля асимметричных сращений
Контроль	15	0.47±0.165	1.07±0.483	0.133±0.091	2.08±0.327	0.33±0.211
Хлорофос, мг/л:						
10 ⁻⁶	62	1.71±0.165*	3.86±0.405*	1.08±0.135*	2.21±0.076	0.64±0.055
10 ⁻⁵	36	2.11±0.261*	5.03±0.655*	1.47±0.213*	2.36±0.093	0.67±0.062*
10 ⁻⁴	59	2.09±0.186*	4.68±0.435*	1.56±0.161*	2.21±0.063	0.74±0.047*
10 ⁻³	35	1.43±0.226*	3.63±0.558*	1.00±0.159*	2.62±0.123*	0.76±0.056*
10 ⁻²	57	1.67±0.198*	3.88±0.489*	1.09±0.151*	2.33±0.092	0.61±0.059
MNNG, 0.3 мг/л	71	2.23±0.189*	5.27±0.464*	1.51±0.169*	2.39±0.076	0.66±0.052*

Примечание: * - значение достоверно отличается от контроля ($p < 0.05$).

Различные нарушения формирования позвоночника у сеголеток плотвы после воздействия исследованных токсикантов приводят к увеличению числа позвонков. Почти во всех экспериментальных выборках отмечено увеличение среднего числа позвонков по отношению к контролю (таблица 2). Такое увеличение происходит преимущественно за счет рыб с отклонениями в развитии позвоночника. При сравнении между собой рыб без аномалий осевого скелета достоверные различия по числу позвонков отмечены в единственном случае - после воздействия на икру плотвы хлорофоса с концентрацией 10⁻² мг/л. В то же время, количество позвонков у сеголеток с нарушениями строения позвоночника из всех экспериментальных вариантов достоверно выше, чем в контроле. Кроме того, отмечались различия в числе элементов осевого скелета у рыб с аномалиями и без в большинстве вариантов (таблица 2).

Таблица 2. Доля рыб с аномалиями, выживаемость в первое лето жизни и число позвонков у плотвы после воздействия токсикантов в раннем эмбриогенезе.

Вариант	n, экз.	Доля рыб с аномалиями позвоночника, %	Выживаемость сеголеток, %	Число позвонков ($M \pm m$)		
				Рыбы с аномалиями	Рыбы без аномалий	Все рыбы
Контроль	80	18.75	95.2	40.80 ± 0.200	41.19 ± 0.085	41.11 ± 0.080
Хлорофос, мг/л:						
10 ⁻⁶	79	78.48	91.3	42.19 ± 0.166 ^{1,2}	41.00 ± 0.121 ¹	41.94 ± 0.143 ²
10 ⁻⁵	78	46.15	56.0	41.94 ± 0.258 ^{1,2}	41.05 ± 0.090 ¹	41.46 ± 0.137 ²
10 ⁻⁴	80	73.75	72.0	41.98 ± 0.140 ^{1,2}	41.00 ± 0.169 ¹	41.73 ± 0.122 ²
10 ⁻³	81	43.21	59.0	41.63 ± 0.201 ^{1,2}	41.04 ± 0.088 ¹	41.30 ± 0.105
10 ⁻²	80	71.25	76.0	42.09 ± 0.174 ^{1,2}	41.70 ± 0.132 ^{1,2}	41.98 ± 0.131 ²
MNNG, 0.3 мг/л	79	89.87	52.0	42.10 ± 0.136 ²	41.38 ± 0.263	42.03 ± 0.127 ²

Примечание. ¹ – различия между рыбами с аномалиями и без из одного варианта; ² – отличия экспериментальных вариантов от контрольного (достоверны при $p < 0.05$).

Нарушения развития тел позвонков (особенно при многочисленных сложных аномалиях позвоночника) затрудняют подсчет элементов осевого скелета, в первую очередь сложность подсчета связана с наличием дополнительных полупозвонков в асимметричных сращениях. Мы расценивали каждый такой полупозвонок как самостоятельный элемент позвоночника. Исключения составляли случаи, когда в скелете наблюдались два следующих друг за другом асимметричных сращения, в которых дополнительные полупозвонки находились с разных сторон позвоночника. В таких случаях мы считали, что два дополнительных полупозвонка являются закладками одного элемента, и учитывали их как один позвонок.

Нарушения в развитии позвоночника могут приводить к изменениям некоторых экстерьерных признаков у сеголеток плотвы. Так, в трех экспериментальных вариантах у нормальных рыб была достоверно меньше максимальная высота тела, в двух - относительная длина головы и в одном - относительная длина хвостового стебля. Сращенные или деформированные позвонки обычно укорочены (особенно это заметно в многопозвонковых сращениях), что ведет к общему укорочению позвоночника и уменьшению длины тела. Относительное укорочение туловища приводит к тому, что у рыб с аномалиями увеличиваются максимальная высота тела и относительная длина головы. Увеличение длины хвостового стебля может быть связано с тем, что сращения позвонков (и особенно многопозвонковые) чаще встречаются в туловищном и переходном отделах позвоночника, чем в хвостовом.

Степень развития различных нарушений в развитии позвоночника у сеголеток из разных экспериментальных выборок неодинакова. Максимальное количество отклонений от нормы в строении осевого скелета отмечено у рыб после воздействия MNNG. При сравнении сеголеток, испытывавших в раннем эмбриогенезе воздействие хлорофоса разных концентраций, может показаться, что «нечетные» концентрации хлорофоса (10^{-3} и 10^{-5} мг/л) оказывают меньшее отрицательное воздействие на формирование осевого скелета, чем «четные» (10^{-2} , 10^{-4} и 10^{-6} мг/л) (таблицы 1, 2). Доля рыб с аномалиями в выборках плотвы после воздействия «нечетных» концентраций хлорофоса меньше 50 %, «четных» - больше 70%. Однако, если рассматривать только рыб с аномалиями позвонков, то сеголетки из «более благополучных» экспериментальных вариантов отличаются даже несколько большей выраженностью аномалий. Так, у молоди после воздействия хлорофоса с концентраций 10-3 мг/л наибольшие из всех групп рыб число позвонков в одном сращении и доля асимметричных сращений, а сеголетки, испытывавшие воздействие хлорофоса с концентрацией 10-5 мг/л, отличаются максимальным количеством сращений и позвонков в сращениях на одну рыбу (таблица 1).

Различия по степени развития аномалий между группами сеголеток плотвы, раннее развитие которых проходило в растворах хлорофоса, вероятно, связаны с селективной смертностью молоди с нарушениями развития в выборках «нечетных» концентраций. Между выживаемостью молоди в «прудовой» промежуток жизни и долей рыб с аномалиями позвоночника была обнаружена положительная корреляция. Но эта зависимость относится только к выборкам сеголеток, испытывавших воздействие хлорофоса (таблица 2). В контрольной группе выживаемость сеголеток была максимальна при минимальном количестве аномалий позвоночника, у сеголеток после воздействия MNNG – минимальная выживаемость при максимальной степени отклонений от нормы в развитии позвоночника. Аналогичная корреляция между выживаемостью молоди при воздействии токсикантов на раннее развитие и количеством рыб с аномалиями осевого скелета ранее обнаружена Касьяновым с соавторами (2001).

Аномалии позвоночника можно рассматривать как фенотипы (Кирпичников, 1987), повышение частоты встречаемости которых в популяциях рыб свидетельствует о нарушении стабильности их развития (Захаров, Кларк, 1993). Наличие большого количества отклонений в развитии осевого скелета у рыб из экспериментальных вариантов говорит о серьезном нарушении гомеостаза у сеголеток плотвы после воздействия хлорофоса и MNNG. Несмотря на то, что использованные концентрации хлорофоса были очень низкими, все они дали эффект, сопоставимый с действием такого сильного мутагена, как MNNG.

Автор благодарит Ю.Г.Изюмова и М.Г.Таликину за помощь на всех этапах работы.

Список литературы

- Ванюшина О.Г. 1990. Развитие осевого скелета у леща (*Abramis brama* L.) и плотвы (*Rutilus rutilus* L.)// Труды ИБВВ. Вып.59 (62). С.4-9.
- Захаров В.М., Кларк Д.М. (ред.) 1993. Биотест: интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М.: Моск. отд. междунар. фонда "Биотест". 68 с.
- Касьянов А.Н., Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Касьянова Н.В., Папченкова Г.А. 2001. Изменчивость признаков осевого скелета у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсических веществ в период раннего индивидуального развития// Вопр. ихтиологии. Т.41. № 4. С.495-503.
- Кирпичников В.С. 1987. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 520 с.
- Павлов Д.А. 2007. Морфологическая изменчивость в раннем онтогенезе костистых рыб. М.:ГЕОС.246с.
- Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. 2005. Отдаленные ответы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* на действие низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития// Вопр. ихтиологии. Т.45. № 4. С.548-553.
- Щербаков Н.А.1983. Морфологические изменения , развивающиеся в органах рыб при привыкании к токсическим веществам //Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука. С. 113-116.
- Яковлев В.Н., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н.. 1981. Фенетический метод исследований популяций карповых рыб// Биол. науки. № 2. С.98-101.

Brooks T.M., Dean S.W. 1996. Detection of gene mutation in skin, stomach and liver of MutaMouse following oral or topical treatment with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin or 1-chloromethylpyrene: some preliminary observations // *Mutagenesis*. Т. 11. P. 529-532.

Bunton T.E., Wolfe M.J. 1996. Reactivity of tissue-specific antigens in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced neoplasms and normal tissues from medaka (*Orizias latipes*) // *Toxicol. Pathol.* Т. 24. N 3. P. 331-338.

Lindsey C.C. 1988. Factors controlling meristic variation // *Fish physiology*. Ed/ by W.S.Haar, D.J.Randall. Vol.XI. The Physiology of Developing Fish. Part B. Viviparity and Posthatching Juveniles. Acad. Press. SNC. P.197-274.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ГИДРОБИОНТОВ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПГМГ-ФОСФАТА И ПГМГ-ГИДРОХЛОРИДА

Г.П. Шаляпин, В.В. Измestьев

*НИИ биологии ГОУ Иркутский государственный университет
ГОУ Московский государственный университет технологий и управления
141007, Московская обл., г. Мытищи, Россия, g.shaliapin@drp.mcx.ru*

В настоящее время большое значение уделяется вопросам загрязнения окружающей среды, в том числе водных объектов. Вместе с тем, в производство ежегодно внедряются новые реагенты, для которых с целью сохранения объектов животного мира и среды их обитания необходимо установить степень токсичности и определить соответствующие нормативы.

Петрозаводским государственным университетом имени О.В.Куусинена в 1991 году была проведена научно-исследовательская работа по определению ПДК_{рх} ПГМГ (Научное обоснование..., 1991), используемого в текстильной промышленности, которая составила 0.01 мг/л по санитарно-токсикологическому лимитирующему показателю воздействия (ЛПВ).

С конца 90-х годов в качестве альтернативы указанному веществу предлагается не менее эффективный, с точки зрения дезинфекции, препарат ПГМГФ (Ефимов и др., 2000). Однако его влияние на гидробионтов не достаточно изучено (Константиновская, 2006 и др.), а ПДК_{рх} не установлена, что подтвердил информационно-патентный поиск.

НИИЭМ имени Н.Ф.Гамалеи РАМН ранее проводилась научная работа, обосновывающая целесообразность применения ПГМГФ для обеззараживания сточных вод и других дезинфицирующих целей (Отчет о научно-исследовательской работе..., 1995). В различных российских и зарубежных научных учреждениях подтверждена высокая активность данного фогуцида в отношении патогенной микрофлоры, что видно из материалов публикаций отечественных авторов К.М.Ефимова, П.А.Гембицкого и А.Г.Снежко (Ефимов и др., 2000).

Учитывая расширяющийся спектр применения ПГМГФ в хозяйственной деятельности человека, а также высокую вероятность попадания данного вещества в водные объекты, необходимо в возможно короткие сроки изучить его стабильность в водной среде, оценить влияние на основные гидрохимические показатели воды, а также гидробионтов различных систематических групп, и самое главное - установить ПДК_{рх}.

В случае если ПДК_{рх} ПГМГФ будет сопоставима с таковой ПГМГ и при этом воздействие на гидробионтов более щадящим, то, безусловно, преимущество в хозяйственном использовании необходимо будет отдать первому препарату, как веществу, не содержащему хлора в своей структуре и менее загрязняющему окружающую среду.

Основными критерием оценки химической активности данных веществ в водной среде является определение токсикорезистентности гидробионтов к их воздействию.

Реализация поставленной задачи стала возможной после осуществления воднотоксикологических исследований по обоснованию ПДК_{рх} ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения, выполненных в НИИ биологии Иркутского государственного университета и на завершающем этапе в Московском государственном университете технологий и управления.

С целью разработки биологически обоснованной предельно допустимой концентрации ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения был проведен полный комплекс обязательных исследований, определяющих влияние указанного вещества на гидрохимический режим водных объектов и гидробионтов.

Работа выполнялась согласно Методическим указаниям по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ для рыбохозяйственных водоемов и дополнительных характеристик, необходимых для расчета ПДС, разработанным ГосНИОРХ (Методические

указания..., 1989). Методическими пособиями служили руководства О.А.Алекина А.Д.Семенова, Б.А.Скопинцева (Алекин и др., 1973), Ю.Ю.Лурье и др. (Лурье, Рыбникова, 1974), а также Унифицированные методы анализа вод (Унифицированные методы..., 1978). Стабильность вещества определялась по схеме, предложенной ГосНИОРХ (Методические указания..., 1989).

Тест-объектами служили гидробионты различного трофического уровня: сапрофитные бактерии, зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* Breb., высшие растения *Elodea canadensis* Rich., планктонные ракообразные *Daphnia magna* Straus, двустворчатые моллюски *Sphaerium corneum* Linne, олигохеты *Tubifex tubifex* Mull., а также пять видов рыб: радужная форель *Salmo irideus* Gibb., европейская ряпушка *Coregonus albula* Linne, обыкновенный окунь *Perca fluviatilis* Linnaeus, карповый карп *Cyprinus carpio* Linnaeus и барбус огненный *Puntius conchonius* Buch. Рыбы использовались на разных стадиях онтогенеза (икра, личинки, молодь, половозрелые особи).

Исследование влияния препарата ПГМГФ на основные химические показатели воды проводили в диапазоне концентраций 500 – 0.001 мг/л. В указанном интервале препарат не оказывал существенного действия на органолептические свойства воды, pH, количественное содержание кислорода, нитритов, аммонийного азота, БПК₅ и БПК₂₀. Отмечалось значительное увеличение содержания нитратного азота в концентрации 100 мг/л. Наиболее чувствительным показателем действия препарата на гидрохимический режим оказалась перманганатная окисляемость, характеризующая количество растворенных органических веществ. Начиная с концентрации 1.0 мг/л, наблюдалось резкое ее возрастание. Учитывая этот лимитирующий фактор, максимально недействующей на гидрохимические показатели признана концентрация ПГМГФ – 0.5 мг/л.

Изучение стабильности вещества (1.0 – 0.1 мг/л) в водной среде позволяет отнести его к группе стабильных веществ, обладающих очень высокой устойчивостью токсических свойств. При этом установлено, что препарат не обладал летучестью и грунт не оказывал заметного влияния на динамику процессов его детоксикации.

В ходе исследований влияния вещества на тест-организмы, установлен характер токсического действия на гидробионтов, определены границы летальных, сублетальных и недействующих концентраций. Последний показатель находится в пределах 5 – 0.001 мг/л.

Анализ действия препарата (100 – 0.001 мг/л) на развитие водной микрофлоры показал, что концентрации ПГМГФ 0.1 мг/л и выше оказывали отрицательное действие на процессы бактериального самоочищения, вызывая полное подавление развития микроорганизмов (0.5 мг/л и выше), или задерживая процессы бактериального самоочищения воды (0.1 мг/л). Безвредной для бактериопланктона являлась концентрация 0.01 мг/л.

Изучение действия препарата на зеленые водоросли *Sc. quadricauda* позволило установить, что при концентрации 0.5 мг/л и выше токсикант вызывал у нее остролетальный эффект, а в растворах 0.01 мг/л у водорослей отмечалось угнетение процессов фотосинтеза, уменьшение размеров клеток, падение численности. Максимально допустимой для данного вида водорослей признана концентрация 0.001 мг/л.

Представитель макрофитов – *E. canadensis* проявила более высокую устойчивость к воздействию препарата. Летальный эффект наблюдался в растворах 10 мг/л и выше. Сублетальное действие вещества проявилось в снижении темпов роста, некрозе листьев и почек побегов элодеи. Недействующей для этого тест-организма являлась концентрация 0.1 мг/л.

Влияние реагента на дафний исследовали в диапазоне 100 – 0.001 мг/л. Установлено, что в концентрациях 2.5 мг/л и выше вещество оказало остролетальное, при 0.25 мг/л – хронически летальное, а при 0.1 мг/л – сублетальное действие. Угнетающее действие токсиканта выражалось в снижении темпов линейного роста, плодовитости, нарушении процессов пищеварения. Недействующей для дафний определена концентрация 0.01 мг/л.

Из представителей зообентоса большую чувствительность к токсиканту проявили моллюски *Sp. corneum*. Растворы препарата 5 мг/л и выше вызвали у них остролетальное действие, 1.0 мг/л – хроническое летальное, 0.5 мг/л – сублетальное. Наряду с гибелью, в токсических растворах у шаровок отмечалось снижение двигательной активности, резкое нарушение процессов размножения. Для указанного вида моллюсков максимально недействующей установлена концентрация 0.1 мг/л.

Олигохеты *T. tubifex* оказались несколько устойчивее к действию препарата по сравнению с моллюсками. Недействующая концентрация для них составила 0.5 мг/л. Летальный эффект наблюдался в растворах 10 мг/л и выше. В сублетальных концентрациях 5 – 1.0 мг/л отрицательное влияние токсиканта выражалось в отмирании задних отделов тела, появлении обрывков и снижении темпов прироста биомассы тубифицид.

Диапазон исследованных концентраций для представителей ихтиофауны составлял 500 – 0.001 мг/л. При этом икра-личинки, личинки ряпушки и радужной форели проявили сходную

чувствительность к действию фогуцида. Максимально недействующая концентрация препарата для них установлена на уровне 0.5 мг/л. Летальный эффект препарата отмечался в растворах 2.5 мг/л и выше. Сублетальное действие проявлялось в снижении темпов линейного прироста личинок рыб при концентрации исследуемого вещества 1.0 мг/л.

Наиболее высокая чувствительность к действию токсиканта среди рыб выявлена у половозрелого окуня. С учетом ряда тестов (органолептического, гистологического) недействующей для него признана концентрация ПГМГФ 0.01 мг/л. Остролетальный эффект у рыб отмечался в растворах 5 мг/л и выше. Хроническое летальное действие сохранялось до 1.0 мг/л, при этом у рыб наблюдалось побледнение кожных покровов, истощение, эффект сухоспинности. Гистологические исследования внутренних органов и скелетной мускулатуры выявили патологические изменения у рыб, содержащихся в сублетальных токсических растворах, вплоть до концентрации 0.1 мг/л. Поражался жаберный аппарат, отмечалось развитие дистрофических процессов в печени, кишечнике, мышцах. До этой же концентрации – 0.1 мг/л были обнаружены отклонения от контроля и показателей органолептического анализа – ослабление рыбного запаха мяса, бульона, изменение его цвета.

По характеру действия, ПГМГФ можно сравнить с отравлениями рыб органическими веществами фенольного ряда (Флеров, 1973). В летальных концентрациях, реагент оказывал на рыб нервно-паралитическое действие и при длительном времени экспозиции вызывал необратимые последствия в организме.

Сравнивая полученные в ходе проведенных нами исследований показатели токсичности ПГМГФ с аналогичными показателями ПГМГГ, а также делая оценку токсикорезистентности гидробионтов к воздействию указанных веществ, необходимо отметить следующее.

При осуществлении аналитического контроля воды исследованных веществ выявлено, что ПГМГФ в отличие от второго исследованного вещества вызывает пенообразование. Некоторые тест-объекты обладают примерно одинаковой устойчивостью к воздействию указанных реагентов. К ним относятся следующие гидробионты: сапрофиты, бентосные организмы (шаровки и олигохеты), рыбы (окунь). Такие тест-организмы как дафнии, ряпушка и форель имеют более низкие пороги устойчивости к ПГМГФ чем к ПГМГГ, хотя установленные в ходе экспериментов максимально допустимые концентрации для них совпадают. Определены «слабые звенья» в цепочке тест-организмов, выбранных для токсикологических исследований. В обоих случаях это водоросль сценедесмус, однако зона токсического действия ПГМГФ для нее имеет другие диапазоны, чем таковая для ПГМГГ, а максимально допустимая концентрация в первом случае на несколько порядков ниже чем во втором (0.01 и 0.001 мг/л).

Как отмечают некоторые токсикологи (Ефимов и др., 2000), ПГМГГ обладает более токсичными свойствами, чем ПГМГФ. Но при этом необходимо учитывать, что активность полигуанидинов усиливается по мере увеличения их молекулярной массы, а также температуры, pH-среды и иных факторов (Об изучении бактерицидной ..., 1995, Константиновская, 2006 и др.). Кроме того, необходимо отметить, что активность ПГМГФ растет по мере увеличения детергентности, с чем связано в частности усиление его антибактериальных свойств, но эта закономерность нарушается, когда число углеродных атомов в алифатической цепочке начинает превышать шестнадцать (Об изучении бактерицидной активности..., 1995). В нашем случае использовался препарат, содержащий молекулу ПГМГ с молекулярной массой 1 тыс.ед. в отличие от экспериментов Петрозаводского государственного университета с ПГМГГ, который ставил опыты на реагенте с молекулярной массой молекулы ПГМГ равной 10 тыс.ед. (Отчет о научно-исследовательской работе..., 1991).

Учитывая изложенное можно констатировать, что нельзя однозначно утверждать о ПГМГГ как о более активном альгициде (Константиновская, 2006), или ином более агрессивном пестициде, чем ПГМГФ. Это, прежде всего, следует из результатов проведения опытов с элодеей, в ходе которых отмечалось примерно одинаковое воздействие указанных веществ, а также сценедесмусом, где фогуцид был напротив более токсичен, чем метацид.

В ходе экспериментов выявлены характер и степень воздействия ПГМГФ на водную среду и водные организмы, изучена стабильность токсических свойств водных растворов, установлены и обоснованы лимитирующие показатели вредности и ПДК_{рх} указанного препарата, что позволило сравнить полученные показатели с аналогичными данными по ПГМГГ.

Выявлено, что ПГМГФ является стабильным веществом, обладающим очень высокой устойчивостью токсических свойств. Максимально недействующей на гидрохимические показатели воды установлена концентрация 0.5 мг/л. Лимитирующий фактор – перманганатная окисляемость.

Данные экспериментов показали, что наиболее чувствительным к действию ПГМГФ оказались водоросли сценедесмус, угнетение жизненно важных функций которой не отмечен только при концентрации препарата 0.001 мг/л. Таким образом, данная величина предложена в качестве

предельно допустимой концентрации ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения. При этом ЛПВ – санитарно-токсикологический.

Проведено сравнение показателей токсикорезистентности тест-организмов к воздействию ПГМГФ и ПГМГГ, в ходе которого установлено, что первый реагент в одинаковых концентрациях со вторым является значительно более агрессивным по отношению к некоторым гидробионтам, что в первую очередь зависит от молекулярной массы молекулы ПГМГ выбранного для экспериментов вещества. Согласно классификации веществ по их относительной токсичности для водных живых организмов исследованные препараты следует отнести к группе особо опасных загрязняющих веществ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения. По степени острой токсичности для рыб и иных гидробионтов оба вещества по классификации Л.А.Лесникова, К.К.Врочинского (Лесников, 1973) относятся к особотоксичным, так как их CL50 находится в пределах до 0.5 мг/л.

Учитывая изложенное необходимо в возможно короткий срок утвердить и внести в установленном порядке ПДК_{рх} ПГМГФ в Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение (Перечень рыбохозяйственных ..., 1999).

При этом необходимо учитывать, что при определении ПДК_{рх} указанного токсиканта, как и иных полимеров, необходимо брать на исследование более активную агрегацию вещества, которая зависит от ряда условий (структурное расположение радикалов, молекулярная масса молекулы основного вещества и т.д.).

Список литературы

- Алекин О.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. – Л.: Гидрометеиздат, 1973. – 268 с.
- Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Снежко А.Г. Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия // Дезинфекционное дело / электронная версия журнала № 4 media.ru., 2000. – 10 с.
- Константиновская С.В. Исследование действия биоцидов (на примере полигексаметиленгуанидинов) на эколого-функциональное состояние водоросли *Chlorella pyrenoidosa* / Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук.(03.00.16, 03.0018) – Москва, 2006. – 26 с.
- Лесников Л.А. Методические указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов.- Л.: ГосНИОРХ, 1973.- 22 с.
- Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.И. Химический анализ производственных сточных вод. – М.: Химия, 1974. – 335 с.
- Методические указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ для рыбохозяйственных водоемов и дополнительных характеристик, нужных для расчета ПДС. – Л., ГосНИОРХ, 1989. – 47 с.
- Научное обоснование ПДК двух препаратов – модификаторов текстильной промышленности для рыбохозяйственных водоемов: Отчет о НИР (заключит.) / Петрозавод. госунивер. им. О.В.Куусинена; руководитель В.П.Моисеева, 1991. – 120 с.
- Об изучении бактерицидной активности ПГМГ-метацида или фогуцида (полигексаметиленгуанидина) в отношении некоторых видов условно – патогенных и патогенных микроорганизмов: Отчет о НИР (заключит.) / НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН; руководитель В.Ю.Литвин, 1995.– 60 с.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение.- М.: изд. ВНИРО., 1999. - 304 с.
- Унифицированные методы анализа вод. – Л.: Гидрометеиздат, 1978. Вып.1 - 143 с.
- Флеров Б.А. Экспериментальное исследование фенольного отравления у рыб. // Влияние фенолов на гидробионтов./Труды института биологии внутренних вод АН СССР. 24-й выпуск. – Л: Наука, 1973,С. 5-39.

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА У ГАСТРОПОД И АМФИПОД ВОДОЕМОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ В РАСТВОРАХ НЕФТИ

Ж.М. Шатилина^{1,2}, Д.В. Лозовой², Д.С. Потапов²,
Д.С. Бедулина², М.В. Протопопова², М.А. Тимофеев^{1,2}

¹Байкальский исследовательский центр
664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия, brc.contact@gmail.com

²Иркутский государственный университет
664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россия

Нефть и нефтепродукты являются одними из основных веществ, загрязняющих водоемы. Они поступают в водоемы, как естественным путем, так и в результате промышленной переработки нефти. Дополнительным источником перемещения загрязнений могут быть течения, атмосферные переносы, сточные воды (Щекатурина, и др, 2002). Так, в Мировой океан ежегодно поступает 11-16 млн. тонн нефти имеющей антропогенное происхождение (Другов, Родин, 2000).

Нефть представляет собой сложную смесь углеводородов и их производных. Каждое из этих соединений может рассматриваться как самостоятельное загрязняющее вещество. В состав нефти входит свыше 1000 индивидуальных органических соединений, содержащих 83-87% углерода, 12-14% водорода, 0.5-6.0% серы, 0,02-1,7% азота и 0.005-3.6% кислорода и небольшую примесь минеральных соединений.

При поступлении в поверхностные воды нефтяные компоненты находятся в различных формах: масляной, растворенной, эмульгированной, адсорбированной. Именно растворенные компоненты нефти представляют наибольшую токсикологическую опасность, т.к. они менее других подвергаются деструкции и с ними гидробионты вступают в наиболее тесный контакт (Михайлова, 1986). Растворенные компоненты на 80-90% состоят из ароматических углеводородов (бензол, толуол, этилбензол, ксилол и др.), обладающих высокой токсичностью (Воробьев, 2006). Ароматические углеводороды обладают мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами (Albers, 2003).

Экологическое действие загрязняющих веществ проявляется на организменном, популяционном, биоценотическом и экосистемном уровне. На биоценотическом уровне загрязнение сказывается на структуре и функциях сообщества, поскольку одни и те же загрязняющие вещества неоднородно влияют на различные компоненты биоценоза. На популяционном уровне загрязнение может вызывать изменение численности и биомассы, рождаемости и смертности, половой и размерной структуры, типа динамики и ряда функциональных свойств. На организменном уровне происходит нарушение отдельных физиологических функций, изменение поведения, увеличение смертности вследствие прямого отравления или уменьшения резистентности (Воробьев, 2006).

Опубликовано большое количество работ, в которых исследуют влияние нефти и нефтепродуктов на выживаемость, размножение, а так же уровень накопления нефтепродуктов в тканях живых организмов. Однако не менее важно изучать токсическое воздействие нефти с помощью биохимических методов, т.к. они позволяют заметить изменения клеточных реакций уже на ранних стадиях воздействия, наступающие, как правило, до появления физиологических, морфологических и других изменений. В этом направлении проводятся работы по оценке влияния нефти и нефтепродуктов на устойчивость водорастворимых сывороточных и тканевых белков (Каниева, 2003), активность различных ферментов (King et al., 2005; Cohen et al., 2005; Бабаев, Джабаров, 2003), а так же нарушение ДНК (Lemiere et al., 2005; Nagy et al., 2004).

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния водорастворимых компонентов нефти на синтез белков теплового шока семейства БТШ70 у пресноводных организмов.

В качестве объектов исследования были выбраны пресноводные амфиподы (Amphipoda, Crustacea) – *Gammarus lacustris* Sars, *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf) и гастроподы (Gastropoda, Mollusca) – *Limnea auricularia* (Lin), *Maakia herderiana* (Lind).

Палеарктический *G. lacustris* является типичным обитателем мелководных континентальных водоемов с широким спектром условий среды. *E. verrucosus* - представитель эндемичной фауны амфипод оз. Байкал, проникший в реки Ангара, Енисей. *L. auricularia* – европейско-сибирский вид, обитает в прибрежной зоне, как в проточной воде, так и в заболоченных участках, *M. herderiana* – эндемик оз. Байкал, обитает на каменистых грунтах.

E. verrucosus отлавливали в р. Ангара в районе г. Иркутска, *G. lacustris* и *L. auricularia* – в озере в г. Иркутске, *M. herderiana* – в литорали Южного Байкала (р-н пос. Листвянка). Животных предварительно акклиматизировали раздельно по видам, *E. verrucosus*, *G. lacustris* и *M. herderiana* при температуре 6-8°C, *L. auricularia* при температуре 22-23°C в течение 3 суток перед экспериментом. У

животных отмечали высокую двигательную активность, таким образом, по нашему мнению, данные условия содержания не являлись для них стрессовыми.

Экспонирование (длительностью до 2 суток) проводили при температурах, соответствующих температурам акклимации, в растворах нефти (месторождение Марковское, Иркутская область) с концентрацией 10 мл/л. После экспериментов рачки были заморожены жидким азотом. Отбор образцов для биохимического анализа проводили из недифференцируемых тканей.

В работе оценивали уровень синтеза белка теплового шока БТШ70. Суммарный белок выделяли в 0.1 М Трис-НСl буфере (рН 7.6). Гомогенат центрифугировали 15 мин при 7000 g, осадок растворяли в буфере для образца (рН 6.8), содержащем 1 мМ ЭДТА, 1% ДДС-Na, 20 % глицерин, 5 % β-меркаптоэтанол, 0.001 % бромфеноловый синий. Полученные белковые пробы хранили при температуре -20°C. Количество белка в пробах определяли по методу Лоури (Lowry, 1951) при длине волны 750 нм. Определение характера синтеза БТШ70 проводили, используя стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12.5 % полиакриламидном геле (Laemmli, 1970), с последующим Вестерн-блоттингом (Bers, Garfin, 1985) с антителами к БТШ70 (monoclonal anti-heat shock protein 70 clone BRM-22, Sigma Chemical Co). Полуколичественный анализ содержания белка на мембранах проводили с помощью программы Gel Explorer.

В результате проведенного исследования, у палеарктических амфипод *G. lacustris* обнаружен конститутивный синтез белка семейства БТШ70 с молекулярной массой 66.2 кДа. Уже через 1 ч экспозиции наблюдали снижение уровня данного белка. Далее, по ходу эксперимента, отмечали увеличение содержания исследуемого белка, которое, однако, оставалось ниже контрольного уровня. К окончанию эксперимента (2 сут.) содержание БТШ70 находилось на минимальном уровне. У байкальских амфипод *E. verrucosus* обнаружен конститутивный синтез белка семейства БТШ70 с молекулярной массой 70 кДа. Снижение уровня БТШ70 относительно контрольного уровня, так же как и у предыдущего вида, наблюдали уже через 1 ч экспозиции. Минимального значения содержание исследуемого белка достигло к окончанию эксперимента (2 сут.). У европейско-сибирских моллюсков *L. auriculara* отмечен конститутивный синтез белков семейства БТШ70 с молекулярной массой около 75 кДа. Уже через 1 ч экспозиции наблюдали многократное увеличение содержания БТШ70, повышенный уровень содержания исследуемого белка отмечали и через 1 с эксперимента. К концу эксперимента (2 сут.) происходило многократное снижение содержания БТШ70, до показателей близких к контрольному содержанию. У эндемичных байкальских моллюсков *M. herderiana* обнаружен конститутивный синтез белков семейства БТШ70 с молекулярной массой около 75 кДа. При экспозиции моллюсков в растворах с водорастворимой фракцией нефти происходило незначительное увеличение БТШ70.

Таким образом, показано, что водорастворимые фракции нефти оказывают существенное влияние на содержание БТШ70 у исследованных организмов. При этом у амфипод отмечено снижение, а у моллюсков увеличение уровня содержания БТШ70.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке программы «Развитие научного потенциала высшей школы» (проект РНП 2.2.1.1.7334), а так же РФФИ, гранты № 06-04-48099-а, 08-04-00928-а, 08-04-10065-к.

Список литературы

- Бабаев Х.Ф., Джабаров М.И. Влияние сырой нефти на накопление продуктов перекисного окисления липидов и изменения активности АТФазных ферментов в тканях мышц карпа (*Cyprinus carpio* L.)// Современные проблемы биологических ресурсов Каспийского моря. – 2003. – С.104-108.
- Воробьев Д.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на макрозообентос// Известия Томского политехнического университета. - 2006. - Т. 309. - № 3. - С. 42-45.
- Дивавин И.А., Ерохин В.Е. Изменение биохимических показателей некоторых прибрежных гидробионтов Баренцева моря при экспериментальной нефтяной интоксикации // Гидробиологический журнал. – 1978. – Т. 14. – № 5. – С. 73–77.
- Другов Ю.С., Родин А.А., Экологические анализы при разливе нефти и нефтепродуктов. Практическое руководство. – 2000. - СПб.
- Каниева Н.А. Оценка влияния каспийской нефти на метаболизм карповых рыб// Успехи соврем. естествозн. – 2003. - № 3. - С.68-69.
- Михайлова Л.В. Особенности поведения водорастворимой фракции нефти в модельных опытах// Водные ресурсы. – 1986. - №2. - С. 125 - 134.
- Щекатурина Т.Л., Осадчая Т.С., Кривошеева Л.В. Фоновые уровни загрязнения нефтепродуктами и бенз(а)пиреном шельфовой зоны Крыма (Черное море) // Экология моря. – 2002. – №59. - С. 80-83
- Albers P. In: Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA, Cairns J, editors. Handbook of ecotoxicology. Boca Raton: Lewis, cop; 2003.

- Bers G., Garfin D. Protein and nucleic acid blotting and immunobiochemical detection// Bio Techniques. – 1985. - №3. – С. 276-288.
- Cohen A., Gagnon M.M., Nugegoda D., Alterations of metabolic enzymes in Australian bass, *Macquaria novemaculeata*, after exposure to petroleum hydrocarbons// Arch. Environ. Contam. and Toxicol. – 2005. - № 2. - Т. 49. - С. 200-205.
- King S. C., Johnson J. E., Haasch M. L., Ryan D. A.J., Ahokas J. T., Burns K.A. Summary results from a pilot study conducted around an oil production platform on the Northwest Shelf of Australia// Mar. Pollut. Bull. – 2005. - № 11. - Т.50. - С. 1163-1172.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4 // Nature.- 1970.vol227.№ 5259.-P.680-685.//Nature.- 1970.-V.227.-N5259.-P. 680-685.
- Lemiere S., Cossu-Leguille C., Bispo A., Jourdain M.-J., Lanhers M.-C., Burnel D., Vasseur P. DNA damage measured by the single-cell gel electrophoresis (Comet) assay in mammals fed with mussels contaminated by the 'Erika' oil-spill// Mutat. Res. Genet. Toxicol. and Environ. Mutagen. – 2005. - № 1-2. - Т. 581. - С. 11-21.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent //J.Biol.Chem.-1951.vol.193.-P.265-275.
- Nagy E., Noren U.G., Zeisig M., Ekstrom L.-G., Moller L. DNA adduct formation and physiological effects from crude oil distillate and its derived base oil in isolated, perfused rat liver// Arch. Toxicol. – 2004. - № 2. - Т.78. - С.114-121.

СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ТРОФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДАФНИЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДЫ

Т.Л. Шашкова, Ю.С. Григорьев

Сибирский федеральный университет

660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79, Россия, tatyana_eco@inbox.ru

При определении качества водной среды существенное значение имеет время проведения анализа, за которое может быть получен ответ о токсичности исследуемого образца. Используемые сейчас в России и за рубежом методы биотестирования токсичности воды на дафниях занимают по времени 2 - 4 и более суток (Жмур, 2001; Methods for measuring..., 2002), тогда как результат анализа зачастую надо получить в более короткие сроки. В связи с этим в настоящее время актуальным является поиск более оперативных методов токсикологического анализа.

Решение этой проблемы возможно как за счет увеличения оперативности широко используемого метода биотестирования на рачках по показателю выживаемости, так и применение более быстрых тест-функций, основанных на поведенческих и физиологических реакциях ракообразных, которые позволяют определить сублетальные (не вызывающие гибели) концентрации загрязняющих веществ (Брагинский, 2000). Одной из этих реакций является трофическая активность дафний, то есть величина поглощенного дафниями корма за определенный промежуток времени. Вместе с тем, не совсем ясно, насколько адекватным будет изменение величины данного показателя уровню токсичности анализируемых вод и выживаемости самих рачков.

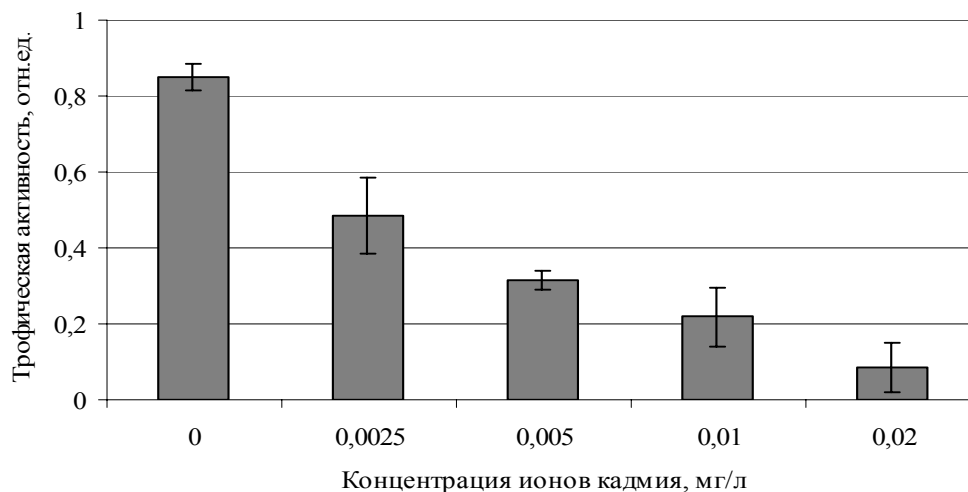
В связи с этим целью данного исследования было сравнение показателей выживаемости и трофической активности ветвистоусых ракообразных вида *Daphnia magna* при определении токсичности воды.

Для оценки выживаемости рачков в остром токсикологическом эксперименте на несколько ранее нами была разработана методика биотестирования (Григорьев, Шашкова, 2006), которая отличается большей оперативностью и возможностью автоматического контроля за условиями проведения эксперимента. Эти параметры были реализованы с помощью разработанного в СФУ климатостата Р-2, который обеспечивает поддержание во время токсикологического эксперимента и при выращивании культуры тест-организмов необходимую температуру, освещенность и фотопериод. В свою очередь, созданное нами устройство для экспонирования рачков (УЭР-03) обеспечивает активную аэрацию тестируемой воды и создает равные световые и температурные условия для всех анализируемых проб. Это достигается тем, что емкости с пробами воды и тест-организмами устанавливаются наклонно во вращающуюся кассету данного устройства. В этих условиях стало возможным сократить время биотеста по показателю смертности рачков дафний с 96 часов до 48, сохраняя при этом высокую чувствительность к токсикантам (Шашкова, Григорьев, Березина, 2006).

Трофическая активность дафний определяется по степени снижения концентрации корма в среде с рачками. Измерение количества съеденного за период экспонирования корма (суспензии водоросли) можно осуществлять различными способами: прямым подсчетом клеток под

микроскопом, с помощью автоматического счетчика частиц (Kersting, Leeuw, 1976), посредством измерения оптической плотности суспензии (Barata et al, 2008) или регистрации флуоресценции хлорофилла водоросли (Цвылев, Переладов, Патин, 1983; Маторин, Вавилин, Венедиктов, 1990). В последнем случае более корректнее, на наш взгляд, использовать изменение интенсивности нулевого уровня быстрой флуоресценции (БФ) водоросли. Величина данного показателя напрямую связана с концентрацией клеток в среде и при этом мало зависит от их физиологического состояния.

Для оперативного измерения трофической активности рачков необходимо работать с очень малыми концентрациями клеток водоросли в воде. Для этого нами был применен высокочувствительный флуориметр «Фотон-10», разработанный в СФУ.



Выживаемость, %	100	100	100	100	100
-----------------	-----	-----	-----	-----	-----

Рис. 1. Влияние ионов кадмия на выживаемость и трофическую активность дафний

Для оценки трофической активности 10 рачков дафний, возрастом чуть более суток помещались в 50 мл тестируемой пробы воды на 17-18 часов. В контрольном варианте (в отсутствии токсикантов) рачки потребляют за это время 70-90% клеток водоросли (*Chlorella vulgaris*), если их концентрация в среде была эквивалентна оптической плотности суспензии равной 0,02, измеренной в кювете 2 см, при длине волны 560 нм на приборе ИПС-03.

Экспериментально нами было установлено, что токсикологический опыт по трофической активности лучше проводить с использованием процедуры предварительной затравки рачков исследуемым токсическим раствором, поскольку при одновременном внесении водоросли и рачков в пробу воды, токсикант взаимодействует не только с дафниями, но и клетками хлореллы. При этом, одновременное поглощение токсиканта клетками водоросли приводит к снижению его действующей концентрации в среде, вызывая уменьшение токсического воздействия на самих рачков. В этих условиях задержка на несколько часов внесения корма после помещения дафний в испытуемый раствор значительно увеличивала его токсический эффект на трофическую активность рачков.

Проведенные исследования показали, что в большинстве случаев снижение показателей скорости питания дафний происходит раньше по времени и при меньших концентрациях металлов, чем наблюдается их гибель.

Так, например, уменьшение трофической активности дафний имеет место уже при концентрации ионов кадмия 0,0025 мг/л (рис. 1), тогда как жизнеспособность этих тест-организмов сохраняется в течение всего периода экспонирования даже при концентрациях токсиканта на порядок больших. На вторые сутки эксперимента снижение выживаемости на 50% наблюдалось только при концентрации ионов кадмия 0,0125 мг/л. Аналогичный эффект прослеживался в опытах с ионами меди и бихроматом калия (таблица 1).

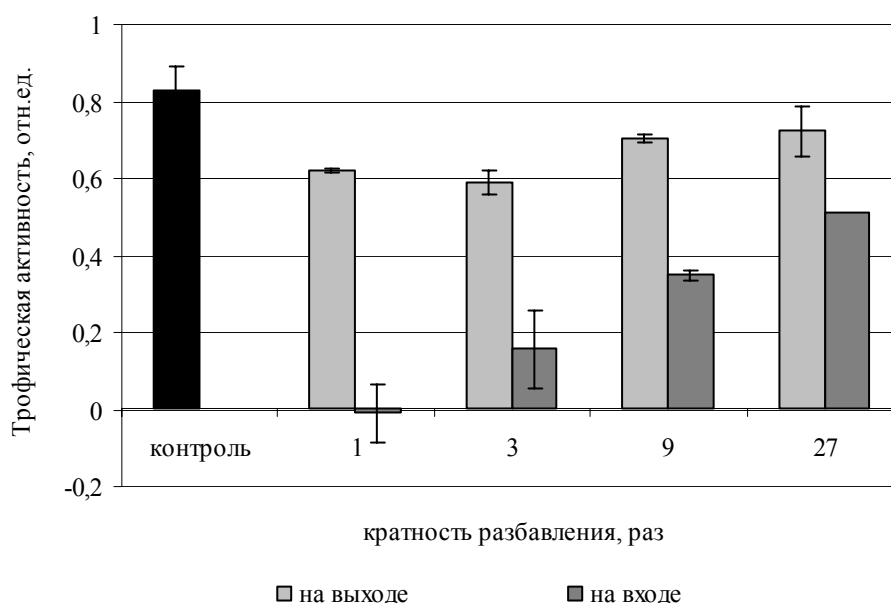
Действие ионов цинка оказывало несколько иной эффект. Для этого тяжелого металла двухсуточный биотест по выживаемости рачков оказался более чувствительным, чем более короткий

тест по трофической активности (18 часов). Вероятно, для проявления вредного воздействия данного токсиканта требуется большее количество времени.

Таблица 1. Концентрации модельных токсикантов, вызывающие снижение трофической активности на 50 % (EC_{50}) и смертность 50% (LC_{50}) тест-организмов

Токсикант	LC_{50} (48 часов)	EC_{50} (18 часов)
$K_2Cr_2O_7$	1,0 мг/л	0,500 мг/л
Cu^{2+}	0,025 мг/л	0,020 мг/л
Cd^{2+}	0,012 мг/л	0,002 мг/л
Zn^{2+}	0,250 мг/л	0,500 мг/л

Оценка токсичности сточных вод городских очистных сооружений с помощью дафний имеет ряд специфических особенностей, связанных с содержанием в них большого количества органических веществ. Как правило острый токсикологический эксперимент по выживаемости в этом случае не выявляет токсичности сточной воды, поскольку большинство потенциально опасных веществ находятся в связанном состоянии, а рачки могут употреблять в пищу легкодоступную для них органику. Негативное влияние такой воды на дафний можно зарегистрировать только в длительном хроническом эксперименте, проявляющееся в снижении плодовитости рачков. В этих условиях трофическая активность рачков может оказаться альтернативным способом контроля качества таких вод.



Выживаемость, %	100	100	100	100	100
-----------------	-----	-----	-----	-----	-----

Рис. 2. Влияние сточных вод, взятых на входе и выходе из городских очистных сооружений, на трофическую активность и выживаемость дафний

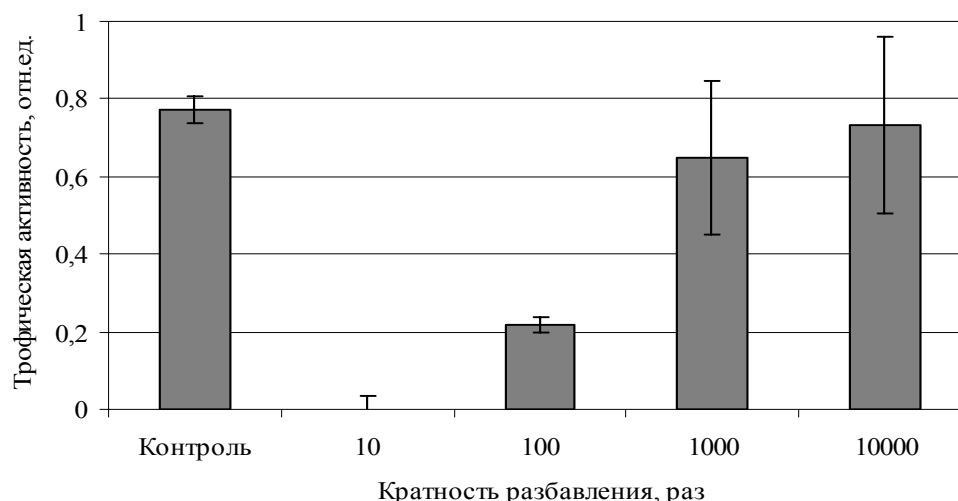
И действительно, результаты проведенных исследований показали, что в сточной воде, взятой на входе очистных сооружений, наблюдалось значительное снижение скорости потребления клеток водоросли рачками (рис.2.), при этом все дафнии в исследуемом растворе сохраняли жизнеспособность и за время эксперимента заметно увеличивались в размерах. Очевидно, в этих пробах рачки перешли с питания клетками хлореллы на присутствующие в воде органические вещества, которые легче усваиваются и имеют большую энергетическую ценность. При разбавлении сточной воды регистрируемый показатель трофической активности рачков повышался, очевидно, за счет увеличения доли хлореллы в рационе питания тест-организмов.

При анализе сточной воды, взятой на выходе очистных сооружений, угнетение трофической активности было весьма незначительным, а выживаемость сохранялась на уровне 100%. Это

свидетельствует о том, что вода после очистки содержит существенно меньшее количество как органических, так и токсических соединений.

Таким образом, по изменению скорости поедания клеток водоросли рачками можно судить о степени очистки сточной воды, в то время как с помощью биотеста на основе выживаемости рачков дафний такую оценку дать затруднительно.

С целью определения возможности использования данных биотестов для оценки загрязненности почв был проведен анализ вытяжки из почвенного образца, который был обработан инсектицидным препаратом для цветочных растений. Приготовленная вытяжка имела коричневый оттенок, поэтому для исключения влияния окраски показания флуоресценции снимали относительно фонового свечения самого раствора.



Выживаемость, %	100	10	100	100	100
-----------------	-----	----	-----	-----	-----

Рис. 3. Влияние вытяжки из почвы, загрязненной инсектицидом, на трофическую активность и выживаемость дафний

По результатам, представленным на рисунке 3 видно, что полученный почвенный экстракт вызывал подавление трофической активности даже после 100-кратного его разбавления. Токсический действие вытяжки снималось только при ее 1000-кратном разбавлении. В этих условиях гибель рачков отмечалась лишь при десятикратном разведении, а при больших разбавлениях экстракта из обработанной инсектицидом почвы рачки сохраняли свою жизнеспособность, но при этом заметно изменяли характер своего движения.

Таким образом, обе исследованные тест-функции способны дать оперативный ответ о степени загрязненности воды. Однако метод регистрации трофической активности дафний позволяет на более ранней стадии воздействия обнаруживать проявление токсического эффекта загрязняющих веществ.

Список литературы

- Брагинский, Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор). // Гидробиол. журн., 2000. - Т. 36.- № 5. - С. 50-70
- Григорьев Ю.С., Шашкова Т.Л. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. ПНД Ф 14.1:2.4.12-06 16.1:2.3.3.9-06 – Москва, 2006. – 48 с.
- Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2001.00283 – М.: АКВАРОС, 2001. – 48 с.
- Маторин Д.Н., Вавилин Д.В., Венедиктов П.С. О возможности использования флуоресцентных методов для изучения питания ракообразных // Биологические науки, 1990. - №1. - С.146-152
- Цылев О.П., Переладов М.В., Патин С.А. Способ определения трофической активности планктонных организмов. Авторское свидетельство СССР № 1029079, Кл. G 01 N 33/52, 1983

Шашкова Т.Л., Григорьев Ю.С., Березина О.А. Влияние условия среды на чувствительность рачков *Daphnia magna* к токсикантам. // Вестник Красноярского государственного университета, сер. Естественные науки, 2006, №5/1, стр. 81-85

Barata C., Alacon P., Gutierrez-Alonso S., Riva M.C., Fernández C., Tarazona J.V. A *Daphnia magna* feeding bioassay as a cost effective and ecological relevant sublethal toxicity test for Environmental Risk Assessment of toxic effluents. // Science of the total environment, 2008, Jul 25.

Kersting K., Leeuw W. The use of the coulter counter for measuring the feeding rates of *Daphnia magna*. // Hydrobiologia, 1976. - vol. 49. 3, pp. 233-237

Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA-821-R-02-012 - U.S. Environmental Protection Agency, 2002. – 266 p.

Уран относится к числу терригенных естественных радионуклидов. Природный уран состоит из смеси изотопов: ^{238}U , ^{235}U и ^{234}U с периодами полураспада от 10^5 до 10^9 лет (Химия актиноидов, 1999). В результате антропогенной деятельности происходит перераспределение урана в геосфере, что приводит к формированию участков с повышенной концентрацией изотопов урана в водных экосистемах.

Уран токсичен для живых организмов разного уровня организации, особенно в растворенной в воде форме. Известно, что в ранние сроки воздействия преобладает химическая токсичность урана, в поздние - радиационная за счет альфа – излучения. В экспериментах показано, что из водных растений наиболее чувствительными к тяжелым металлам являются погруженные макрофиты (Kupper et al., 1996).

Растения являются неотъемлемым компонентом водных экосистем. В растительности р. Енисей преобладают погруженные макрофиты (Zotina, 2008). Одним из доминантов является *Elodea canadensis* Michx. (элодея). Известно, что макрофиты способны накапливать радионуклиды в своей биомассе (Болсуновский и др., 2002). Стабильные и радиоактивные металлы распределяются в биомассе растений неравномерно (Vazques et al., 1999; Cecal et al., 2002). Распределение металлов по клеточным компартментам растений определяет дозовую нагрузку на клеточные структуры и последующий физиологический ответ.

Цель данной работы: оценить удельное накопление урана в биомассе элодеи и исследовать влияние урана на физиологическую активность элодеи.

В экспериментах использовали молодые апикальные побеги (верхушки) *E.canadensis* длиной 3 см. Экспериментальные стаканы с растениями экспонировали в климатической камере при температуре воды 19 ± 1 °C, и освещении люминесцентными лампами (3 клк на поверхности воды) в течение 14-ти часов в сутки, при постоянном перемешивании.

Для экспериментов использовали дистиллированную воду или воду реки Енисей, профильтрованную через мембраны с размером пор 0.2 мкм (Schleicher&Shuell, Германия). Уран вносили в воду в виде уранил-нитрата – $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$, и pH подводили до 7. После этого в воду помещали растения.

Для оценки концентрации урана, накопленного в биомассе элодеи, растения отбирали через 5 суток экспонирования в присутствии урана в эксперименте с дистиллированной водой и через 2 суток – в эксперименте с водой р.Енисей, промывали дистиллированной водой с pH=7. Для оценки доли урана, растворенного в цитоплазме, биомассу, промытую дистиллированной водой, гомогенизировали с добавлением небольшого количества дистиллята (pH=7). Полученный гомогенат разделяли на две фракции фильтрованием через мембраны с размером пор 0.2 мкм (Зотина и др., 2008).

Токсический эффект исследовали по изменению реакции фототаксиса хлоропластов и эпифлуоресценции хлорофилла «а» листьев. Перед исследованием фототаксиса хлоропластов стаканы с верхушками *E. canadensis* выдерживали в темноте в течение 15-30 минут. Фототаксис наблюдали на клетках верхней поверхности листьев под световым микроскопом при увеличении в 600 раз. Лист отделяли от побега, помещали под покровное стекло и выдерживали на предметном столике микроскопа при включенной лампе в течение 3-5 минут. В норме при интенсивном освещении хлоропласты принимали парастрофное положение (перпендикулярное лучам падающего света) и отходили к краям клетки. Долю активных хлоропластов рассчитывали как отношение числа хлоропластов, принявших парастрофное положение и отошедших к краям клетки к общему числу хлоропластов в клетке. Для каждой концентрации просматривали 10 клеток при произвольном перемещении объектива по поверхности листа.

Для измерения эпифлуоресценции хлорофилла лист элодеи помещали под покровное стекло и вносили каплю гербицида (симазина, 10^{-5} М), блокирующего нециклический транспорт электронов

между фотосистемами. Эпифлуоресценцию измеряли с помощью микроскопа Люмам-И и ФМЭЛ (ЛОМО, Россия) при возбуждении светом с длиной волны 410 нм в круге диаметром 45 мкм при среднем размере клеток 60 x 70 мкм. На каждом листе измеряли по 10 полей при произвольном перемещении объектива.

Результаты представлены как средние значения со стандартным отклонением.

Выбор концентраций урана в эксперименте

При выборе концентраций урана в эксперименте мы отталкивались от ПДК урана в питьевой воде на территории России (1.3-1.8 мг/л) и концентрации урана в воде р.Енисей и его притоках (0.3-20 мкг/л) (Сравнительный анализ..., 2007), а также результатов экспериментов, проведенных другими авторами (Искра, Куликова, 1978; Болсуновский и др., 2005).

Накопление и распределение урана в биомассе растений

Накопление урана в биомассе элодеи возрастало при увеличении начальной концентрации элемента в воде (Табл.), что отмечали также другие исследователи в своих экспериментах (Искра, Куликова, 1978). Удельная концентрация урана, накопленная в биомассе из воды р.Енисей, была больше, чем концентрация, накопленная растением из дистиллированной воды.

Таблица. Удельная концентрация урана в сухой биомассе элодеи в конце эксперимента (мкг/г) при различных начальных концентрациях урана в воде (мг/л). Звездочкой обозначены данные, полученные в эксперименте с водой р.Енисей.

Начальная концентрация урана в воде, мг/л	0.01	0.1	1	10	10*
Концентрация урана в биомассе в конце эксперимента, мкг/г	8	42	70	116	558±62

Исследование распределения урана по компартментам биомассы элодеи показало, что во фракции, содержащей частицы биомассы крупнее 0.2 мкм (фрагменты клеточной стенки, клеточной мембраны, хлоропластов и других органелл) зарегистрировано до 60 % урана, накопленного в биомассе растения. Во фракции биомассы, содержащей частицы мельче 0.2 мкм (цитозоль) содержится соответственно до 40% урана. Доля урана, растворенного в цитоплазме, возрастает при увеличении начальной концентрации урана в воде.

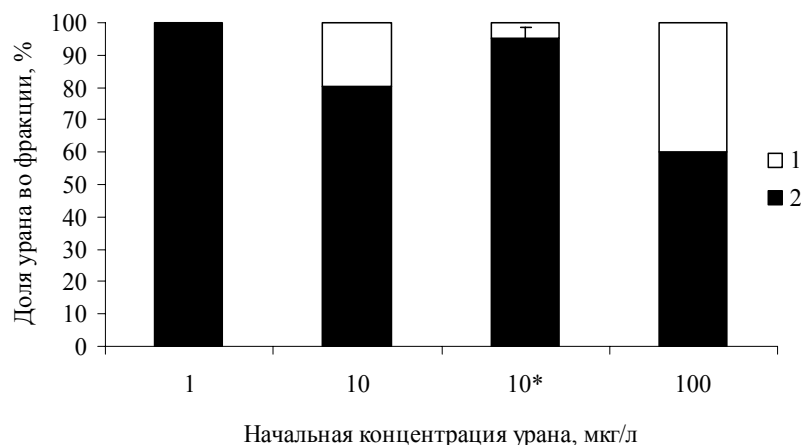


Рис. 1. Распределение урана по фракциям биомассы элодеи при различной начальной концентрации урана в воде: 1 – растворенный в цитоплазме, 2 – связанный с клеточными стенками, мембранами, органеллами. * - в эксперименте использована вода р.Енисей.

Следует отметить, что к моменту проведения данного фракционирования элодеи при концентрации урана 100 мг/л уже погибла. Возможно, доля урана в цитоплазме возросла вследствие проникновения радионуклида в цитоплазму через поврежденные клеточные мембраны. Аналогичное исследование распределения трансуранового элемента америция-241 в биомассе элодеи показало, что в цитоплазме живых растений содержится 5 % радионуклида (Зотина и др., 2008). Таким образом, распределение урана и америция-241 в биомассе элодеи принципиально не отличаются.

Влияние урана на фототаксис хлоропластов

Через одни сутки при всех концентрациях урана не наблюдалось ингибирования фототаксиса, так же, как и в контроле (Рис. 2). Через 5 суток при наибольшей концентрации урана (100 мг/л) отмечалось полное ингибирование фототаксиса, растение погибло. При концентрации 10 мг/л

наблюдалось частичное, но статистически недостоверное ингибирование фототаксиса (Рис. 2). Доля активных хлоропластов в клетках составляла 83%.

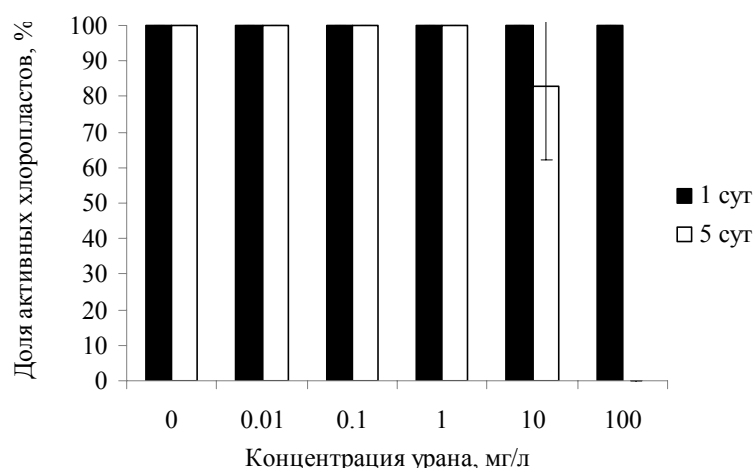


Рис. 2. Доля активных хлоропластов в клетках элодеи (%) при различных концентрациях урана на 1 и 5 сутки

Влияние урана на эпифлуоресценцию хлорофилла «а»

В экспериментах не наблюдалось достоверного снижения сигнала флуоресценции с увеличением концентрации урана на 1 и 2 сутки (Рис. 3). Через 5 суток наблюдалось достоверное ($P=0.05$) снижение сигнала флуоресценции по сравнению с контролем, при концентрации 10 мг/л снижение составило около 40%, а при 100 мг/л - 80%, что составляет значение близкое к фоновому.

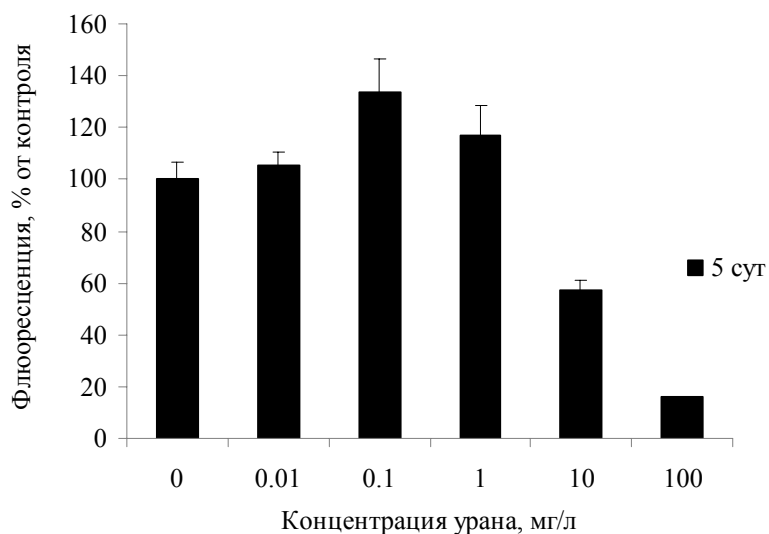


Рис. 3. Эпифлуоресценция хлорофилла «а» (% от контроля) при различных концентрациях урана на 5 сутки

Таким образом, при концентрации урана 10 мг/л зарегистрировано достоверное ингибирование флуоресценции хлорофилла листьев, и статистически не достоверное ингибирование фототаксиса хлоропластов, а при концентрации урана 100 мг/л растение погибло. При концентрации, равной порядком ПДК и ниже ингибирования физиологических реакций элодеи в эксперименте не зарегистрировано. В экспериментах, проведенных другими авторами, при концентрации урана 10 и 100 мг/л через 20 суток происходила гибель элодеи, а при концентрации 1 мг/л – пожелтение листьев (Искра, Куликова, 1978). В наших экспериментах изменения пигментации листьев элодеи не зарегистрировано.

В проведенных экспериментах удельная концентрация урана в биомассе элодеи возрастала с увеличением начальной концентрации радионуклида в воде и составляла 8-558 мкгU/г сухой массы.

Доля урана, растворенного в цитоплазме элодеи, составляла от 0 до 40 % и возрастала с увеличением начальной концентрации урана в воде.

При концентрации урана 100 мг/л зарегистрирована гибель растения, при концентрации 10 мг/л наблюдалось ингибирование физиологических реакций в листьях элодеи, при меньших концентрациях не зарегистрировано ингибирование физиологических реакции за время эксперимента.

Список литературы

- Болсуновский А.Я., Ермаков А.И., Бургер М. и др. Накопление техногенных радионуклидов водными растениями р. Енисей в зоне влияния Горно-химического комбината. // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2002. - Т. 42. - № 2. - С. 194–199.
- Болсуновский А.Я., Бондарева Л.Г., Казбанов В.И. Изучение механизмов биосорбции изотопов урана на примере одного из видов водных растений (*Elodea canadensis*) реки Енисей. // Вестник Красноярского государственного университета, серия "Естественные науки". - 2005. - № 2. - С. 70-73.
- Зотина Т.А., Калачова Г.С., Болсуновский А.Я., Дегерменджи А.Г. Распределение ^{241}Am в биомассе пресноводных макрофитов. // ДАН. - 2008. - Т. 421. - № 3. - С. 426-429.
- Искра А.А., Куликова В.Г. Некоторые закономерности накопления естественных радиоактивных элементов пресноводными растениями. // Проблемы радиоэкологии водоемов-охладителей атомных электростанций. – Свердловск: УНЦ АН СССР, 1978. – С. 99-103.
- Сравнительный анализ закономерностей миграции техногенных радионуклидов в крупных водных экосистемах Сибири, Урала и Украины на примере реки Енисей, Обь – Иртышской речной системы и водоемов Чернобыльской зоны отчуждения. Отчет по интеграционному проекту № 30 СО РАН (промежуточный). Дегерменджи А.Г. (рук.). Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 2007. - 44 с.
- Химия актиноидов. Т. 1. – М.: Мир, 1999. – 647 с.
- Cecal Al., Popa K., Potoroaca V., Melniciuc-Puica N. Decontamination of radioactive liquid wastes by hydrophytic vegetal organisms. // Journal of radioanalytical and nuclear chemistry. - 2002. - V. 251. - No. 2. - P. 257-261.
- Küpper H., Küpper F., Spiller V. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants // Journal Experimental Botany. - 1996. – V. 47. – No. 295. – P. 259 – 266.
- Vazquez M.D., Lopez J., Carballeira A. Uptake of heavy metals to the extracellular and intracellular compartments in three species of aquatic bryophyte. // Ecotoxicology and environmental safety. - 1999. - V.44. - P. 12-24.
- Zotina T.A. The biomass of macrophytes at several sites of the upper reaches of the Yenisei River. Journal of Siberian federal university. Biology. - 2008. - № 1. – P. 102-108.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОПУЛЯЦИЙ ГИДРОБИОНТОВ И ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ РЕЖИМ И СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА ФИТОПЛАНКТОНА РЕКИ ДНЕПР В РАЙОНЕ КРУПНЫХ ГОРОДОВ БЕЛАРУСИ

Б.В. Адамович, Л.А. Куцко, В.Д. Сенникова

РУП Институт рыбного хозяйства

*РУП Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству
220024, Минск, Стебенева, 22, Беларусь, borya_mail@mail.ru*

Лотические системы очень динамичны, и формирование определенного состава сообществ в них подвержено влиянию большого количества факторов, которые могут неодинаково сказываться на протяжении всей реки. В то же время нельзя отрицать целостность рек, как биологических систем. Целостность речных систем чаще всего рассматривается с позиции процессов, происходящих на всем водосборе (Davies et al.), и с позиции изменения структуры и функционирования биологических сообществ рек в речном континууме (Vannote et al.). Следует однако отметить, что наибольшая интенсивность поступления аллохтонной органики антропогенного происхождения в реку чаще всего приурочена к определенному участку водотока в районе крупных городов или интенсивных промышленных и сельскохозяйственных территорий. Такое локальное поступление органики может нарушать естественный энергетический баланс (одну из основополагающих доктрин концепции речного континуума). Очевидно, что весьма проблематично обозначить универсальную модель изменений, которая была бы применима для всех речных экосистем. Характер изменений биоты в разных водотоках может существенно отличаться.

Река Днепр – третья в Европе по длине и площади водосбора после р. Волги и р. Дунай. Протекает по территории России, Беларуси и Украины. Общая длина 2201 км, площадь водосбора – 504 тыс. км². Протяженность на территории Витебской, Могилевской и Гомельской областей Беларуси составляет 700 км, площадь водосбора – 63.7 тыс. км² (без бассейна р. Припять). Днепр на исследованном участке подвергается существенному антропогенному загрязнению биогенными и токсическими веществами, сбрасываемыми непосредственно в Днепр или его притоки. Основные точечные источники загрязнения расположены в районе городов, самые крупные из которых Орша, Могилев и Речица.

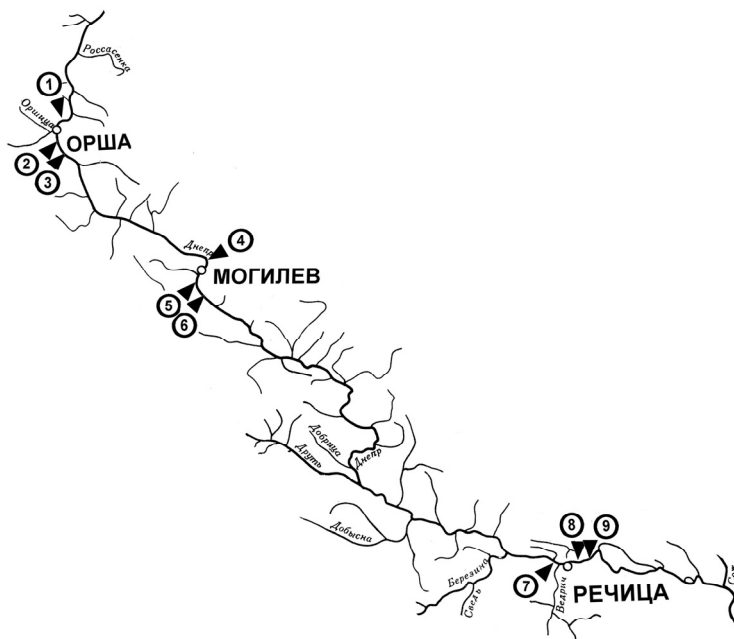


Рис. 1. Исследованный участок реки Днепр на территории Беларуси

Примечание:

▶ – места отбора проб
① – номера створов

Фитопланктон и гидрохимический режим р. Днепр изучали в 2001-2004 гг. на 9-ти створах, расположенных в районе городов Орши, Могилева и Речицы (выше городов на 5–12 км) и ниже сброса с очистных сооружений в 0.5–5.0 км (рис. 1).

Пробы фитопланктона отбирали один раз в сезон по руслу реки. При отборе проб использовали трубу Ляхновича–Щербакова, позволяющую «вырезать» метровый слой воды. Гидрохимическая и токсикологическая характеристика реки приводится на основе проб, отобранных параллельно с гидробиологическими. Сбор и обработку проб осуществляли по общепринятым в гидробиологии и гидрохимии методикам. В таблице и рисунках \pm указан в виде ошибки средней. Статистическая обработка материала проведена с использованием программ Statistica 6.0 и Primer 6 и литературы по биостатистике (Гланс, 1999, Harris, 2001).

Изучение гидрохимического режима показало, что вода р. Днепр характеризуется значительной амплитудой колебаний минерализации в периоды весеннего половодья, летней и зимней межени (120.7–445.9 мг/л). В среднем за период исследования величина минерализации на исследованном участке реки составила 306.7–361.7 мг/л. Преобладающим анионом являются гидрокарбонаты (до 237.2 мг/л), катионом – кальций (до 56.6 мг/л). Отмечено увеличение минерализации на участках реки в районах промышленных городов Могилёва и Речицы за счёт увеличения концентрации в воде хлоридов в 1.2–1.6 раза (гг. Могилёв, Речица) и сульфатов в 1.7 раза (г. Могилёв).

Содержание растворенного в воде кислорода за период исследования изменялось в пределах 5.7–13.0 мг/л, 39.9–148.5 % насыщения. Минимальные значения концентрации кислорода в воде отмечены в зимний подлédный период до 5.7–6.3 мг/л (39.9–43.9 % насыщения), когда прекращается поступление кислорода из атмосферы. В летний период насыщение воды кислородом возрастало до 102.1–148.8 %, что связано с возросшей интенсивностью фотосинтеза фитопланктона при повышении температуры воды и усилением солнечной активности. Коэффициент корреляции между численностью фитопланктона и насыщением воды кислородом составил 0.69, что свидетельствует об интенсификации процессов самоочищения. В то же время, регрессионная кривая носит параболический характер, т.е. интенсивное насыщение воды кислородом происходит до определенной момента, после которого фотосинтез может лимитироваться содержанием CO_2 и самозатенением фитопланктона. Для исследованного участка Днепра в среднем за сезон эта концентрация составила примерно 7 млн. экз./л.

Высокая степень загрязнения воды органическим веществом отмечена на участках реки, расположенных ниже промышленных городов Могилева и Речицы, в районе сброса сточных вод с очистных сооружений. Анализ средних данных показал, что величина перманганатной окисляемости на этих створах достигала 13.0–17.1 мг O_2 /л, БПК₅ – 3.4–3.9 мг O_2 /л. В динамике содержания в воде органического вещества максимальные значения до 17.9–20.4 мг O_2 /л перманганатной окисляемости и 4.4–8.2 мг O_2 /л БПК₅ были отмечены в летний период и осенью 2001 и 2002 гг. на створах реки в районе промышленных городов Могилева и Речицы. Выявлен высокий уровень загрязнения по БПК₅ – 3.0–5.1 мг O_2 /л летом 2002 и зимой 2003 гг. на участке реки выше г. Орши.

Водородный показатель за период исследования колебался от 7.0 до 8.8. Увеличение pH до 8.5–8.8 отмечено в летний период на среднем и нижнем участках р. Днепр, при повышении температуры воды до 22.0–26.0 °C. Увеличение водородного показателя воды сопровождалось отсутствием свободной углекислоты, снижением содержания гидрокарбонатов, кальция и общей жесткости. Свободная углекислота в среднем составляла 5.6–9.5. На створах, лежащих в районе гг. Могилева и Речицы, концентрация свободной углекислоты была в 1.3–1.6 раза выше, чем на условно чистых участках реки.

Концентрация биогенных элементов на исследованном участке реки в среднем за период исследования составила: аммонийного азота – 0.32–0.58 мг N/л, нитратов – 0.29–0.62 мг N/л, нитритов – 0.030–0.078 мг N/л, минерального азота – 0.66–2.26 мг N/л, минерального фосфора – 0.064–0.215 мг P/л. В динамике биогенных элементов (NH_4^+ , NO_3^- , $\text{P}_{\text{мин}}$) максимальные значения: 0.73–1.16 мг N/л; 0.98–1.52 мг N/л; 0.148–0.340 мг P/л соответственно, отмечены в зимние периоды 2002–2003 гг. В летний период концентрация биогенных элементов из-за потребления их фитопланктоном и макрофитами была значительно ниже. На исследованном участке реки было отмечено 1.5–3.9 кратное превышение ПДК по нитритам. В сезонном аспекте, наиболее высокие значения 0.049–0.300 мг N/л (2.4–15 ПДК) отмечены весной 2001 г, весной и осенью 2002 г. на участках реки в районе промышленных городов Могилева и Речицы.

Уровень загрязнения реки Днепр тяжелыми металлами (придерживаясь ПДК по Обобщенному перечиню...) в период исследования составлял: медью (от 4.0 до 6.0 ПДК), цинком (от 1.3 до 2.1 ПДК), марганцем (от 3.0 до 6.0 ПДК), фенолами (от 2.0 до 6.0 ПДК), а также в отдельные годы (2003) нефтепродуктами (от 1.2 до 2.4 ПДК). Содержание СПАВов, никеля, свинца и кадмия находилось в пределах нормативов.

Уровень загрязнённости воды на исследованном участке, оцененный по наиболее часто используемому в настоящее время «индексу загрязнения воды» (ИЗВ), составил 0.9–1.55 (рис. 2), и был наиболее высок в точках сброса сточных вод.

Гидрохимический режим является важнейшим показателем, характеризующим качество воды в реке. Он также оказывает непосредственное влияние на состав и структуру обитающих в водоеме гидробионтов. В свою очередь, оценить экологическое состояние на конкретном участке реки возможно только с использованием гидробиологических данных т.к. гидробионты испытывают на себе длительное влияние всего комплекса загрязняющих водоем веществ, отдельные компоненты которого могут и не превышать установленных норм. Следует принимать во внимание, что состав воды зачастую в большей мере обуславливается результатом жизнедеятельности гидробионтов, чем непосредственно поступлением алахтонных веществ, поэтому при исследованиях экологического состояния водных объектов наибольший интерес вызывает анализ совокупных данных по гидрохимии и гидробиологии. При этом из гидрохимических показателей целесообразно выбрать один или несколько основных, на которые можно ориентироваться при оценке уровня антропогенной нагрузки.

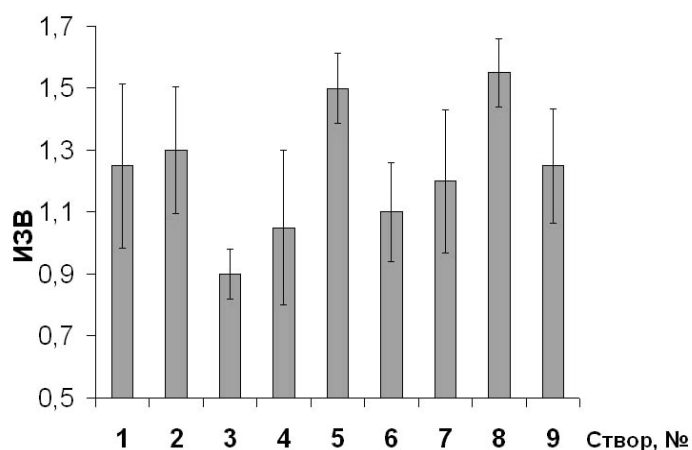


Рис. 2. Индекс загрязнения вод (ИЗВ) реки Днепр, 2001–2004 гг.

Примечание – Класс качества воды: I – очень чистые воды (ИЗВ<0,3); II – чистые воды (ИЗВ=0,3–1,0); III – умеренно загрязнённые воды (ИЗВ=1,0–2,5); IV – загрязнённые воды (ИЗВ=2,5–4,0)

За меру уровня антропогенной нагрузки на водоем обычно принимают концентрацию минерального фосфора или азота. Поскольку концентрация фосфора на протяжении исследованного участка реки относительно постоянна, за исключением створа № 5, где наблюдается резкий скачок концентрации за счет сброса с очистных сооружений г. Могилева (рис. 3), мы считали более целесообразным при оценке биогенной нагрузки ориентироваться на концентрацию минерального азота (рис. 4). Кроме того, концентрации аммонийного и нитритного азота вошли в оценку воды по ИЗВ, т.к. превышение ПДК по этим двум формам более существенное, чем превышение ПДК по концентрации фосфора.

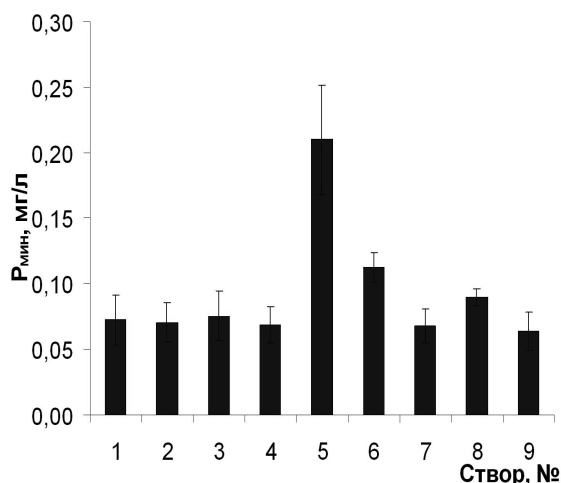


Рис. 3. Содержание минерального фосфора ($P_{\text{мин}}$) в воде реки Днепр, 2001–2004 гг.

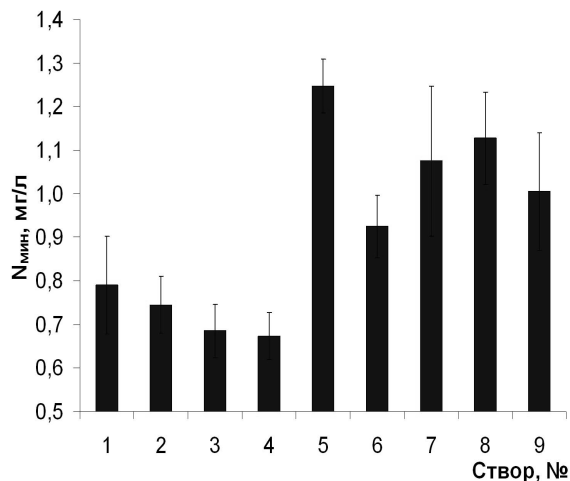


Рис. 4. Содержание минерального азота ($N_{\text{мин}}$) в воде реки Днепр, 2001–2004 гг.

Основные показатели структуры сообщества фитопланктона представлена в таблице. Как видно из таблицы биомасса и численность фитопланктона имели тенденцию к увеличению от верхнего участка реки к нижнему в соответствии с усилением антропогенной нагрузки на водоток.

Практически на всем протяжении обследованного участка реки количественно доминировали диатомовые водоросли (49.3 % численности и 54.3 % биомассы). Ведущее место среди них занимали *Stephanodiscus hantzschii* Hust., *Synedra acus* Kütz., *Cyclotella comta* (Ehr.) Kütz., *Melosira varians* Ag. и др. Среди зеленых доминировали β -мезосапробы – представители родов *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Ankistrodesmus*. В среднем для изученного участка реки зеленые составляли 28.6 % численности и 20.3 % биомассы.

Таблица. Структура сообщества фитопланктона реки Днепр, 2001–2004 гг.

№ створа	Численность (N), млн. экз./л	Биомасса (B), мг/л	Количество видов
1	1.99±0,51	2.47±0,85	36
2	2.09±0,37	1.45±0,26	41
3	1.30±0,38	1.64±0,54	38
4	5.60±1,59	5.16±1,57	39
5	4.48±1,53	3.82±0,63	51
6	7.97±1,46	11.34±5,41	43
7	3.78±1,82	3.69±0,9	61
8	9.50±4,48	8.91±2,67	53
9	7.80±4,34	7.18±2,92	59
Среднее	4.95±1,3	5.07±1,32	46.8

Количество таксонов водорослей несколько увеличивалось вниз по течению реки (табл.). Наибольшим этот показатель был для створа № 7, где отмечен 61 таксон, наименьшим – для створа № 1 (36 таксонов). На 1, 2, 3 и 5-ом створах по количеству отмеченных таксонов доминировали диатомовые, на створах с 6 по 9-ый – зеленые, на створе № 4 эти два отдела были представлены 15 таксонами каждый. Увеличение видового богатства вниз по течению реки объясняется, в основном, обогащением видового состава фитопланктона за счет большого количества притоков на изученном участке Днепра (густота речной сети бассейна Днепра на территории Беларуси составляет 0.39 км/км²). Так, на протяжении двухсоткилометрового участка от г. Могилева (створ № 6) до г. Речицы (створ № 7) количество отмеченных видов водорослей возросло от 43 до 61. На этом участке в

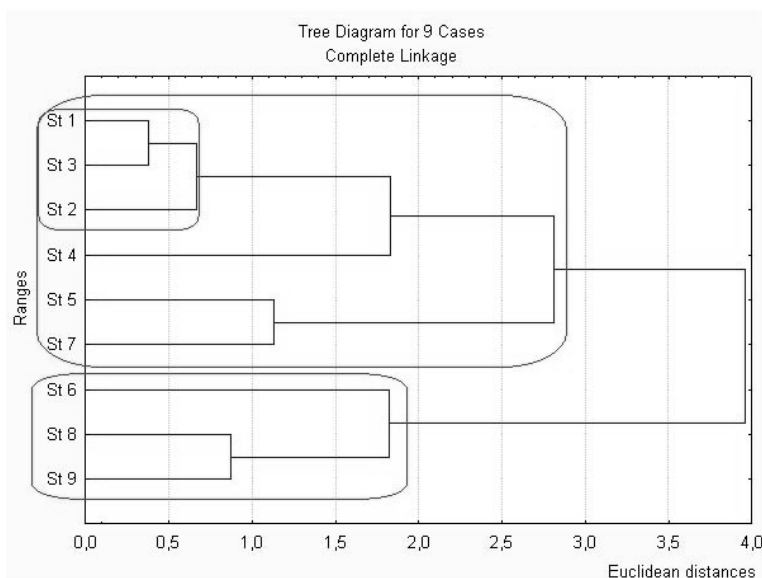


Рис. 5. Кластерный анализ структуры сообщества фитопланктона р. Днепр, 2001-2004 гг.

основное русло Днепра впадает более двадцати притоков, среди которых такие довольно крупные реки, как Добрица, Друть, Добысна, а также Березина.

Вызывает интерес анализ сходства структуры сообщества фитопланктона на исследованных створах, который возможен при использовании методов многомерной статистики, наиболее удобным и наглядным из которых является кластерный анализ. На дендрограмме (рис. 5) на основе трех показателей сообщества фитопланктона представленных в таблице, отчетливо видно разделение на два больших кластера на евклидовом расстоянии около 4. В первый большой кластер вошли 6, а во второй 3 створа. Как

показали гидрохимические данные, основную антропогенную нагрузку на исследованном участке реки составляет сброс с очистных сооружений Могилева и Речицы, что и обуславливает сходную структуру фитопланктона на створах ниже этих городов (створы 6, 8, 9). При этом ниже Могилева влияние сброса на структуру сообщества в большей мере сказывается на отдалении от точки сброса на 6 км (створ №6). Створ №5, находящийся в непосредственной близости от места сброса, вошел в большой кластер вместе с

относительно чистыми створами в районе г. Орши и 7-м створом, расположенным выше Речицы и не испытывающим непосредственного влияния сточных вод этого города. В то же время, к Речице в целом идет накопление биогенов, и, в отличие от Могилева, уже на 8 створе, находящемся вблизи сброса, структура сообщества сходна со структурой на 6 и 9 створах. В пределах большого первого кластера также четко видно выделение трех первых относительно чистых створов в районе г. Орши, причем расстояние от 3 до 4 створа составляет всего около 65 км, и выделении кластера из трех створов может говорить о том, что в реке испытывающей сильную антропогенную нагрузку, ее влияние на сообщество фитопланктона более существенно, чем естественное изменение в речном континууме. Об этом говорит и нахождение в разных больших кластерах створов 6 и 5, 7 и 8, расстояние между которыми всего 6-14 км.

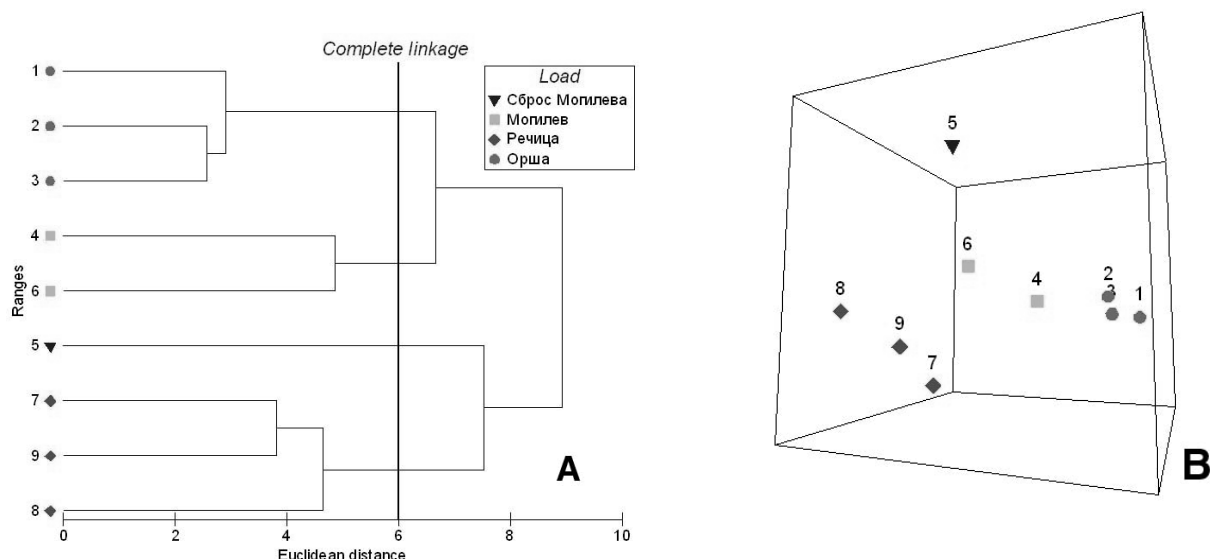


Рис.6. Кластерный анализ данных о структуре сообщества фитопланктона и гидрохимическом режиме реки Днепр, 2001-2004 гг.

При интегрировании данных о структуре сообщества фитопланктона и гидрохимическом режиме, дендрогормма принимает несколько другой вид (рис. 6 (A)). Выделяется два больших кластера на евклидовом расстоянии около 9. Разделение на кластеры происходит на гораздо большем расстоянии, чем на предыдущей дендрогормме. Это говорит о том, что совокупность гидрохимических и гидробиологических данных позволяет более четко определить сходство и различие между створами. Кластеры, разделенные на евклидовом расстоянии равном 6 (линия проведена нами произвольно) наиболее четко характеризуют экологическое состояние на исследованных створах. Как и в предыдущей дендрогормме, относительно чистые створы 1,2 и 3 в районе г. Орши выделяются в обособленный кластер, также как и загрязненные створы в районе Речицы и два створа, расположенные выше Могилева и ниже сброса на 6 км. Относительно обособленным является 5-й створ, расположенный в непосредственной близости от сброса сточных вод с самого крупного из исследованных города Могилева. На рис. 3 и 4 видно насколько этот створ выделяется содержанием в воде минеральных азота и фосфора, что в целом говорит о том, что гидроэкологическое состояние на этом створе является нетипичным даже для Днепра, испытывающего сильную антропогенную нагрузку практически на всем протяжении. Характер расположения створов можно более наглядно увидеть на трехмерной модели кластерного анализа (рис. 6 (B)). Здесь также хорошо видно насколько далеко группы створов распложены друг от друга, на основании чего можно судить о мере их сходства и различия.

В целом, можно сказать, что использование кластерного анализа позволяет адекватно охарактеризовать сходство створов на основе используемых экологических характеристик, однако объективная интерпретация полученных данных возможна только в совокупности с анализом составляющих структуры сообщества и отдельных гидрохимических показателей.

Список литературы.

Гланс, С. Медико-биологическая статистика. Москва.: Практика, 1999. – 459 с.
Обобщенный перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. Министерство рыбного хоз-ва СССР. Москва, 1990. 43 с.

Davies, B.R., Walker K.F. River systems as ecological units. An introduction to the ecology of river systems. The ecology of river systems. Dordrecht etc. 1986. P. 1–8.
Harris R.J. A Primer of multivariate statistics, third edition. London.: Lawrence Erlbaum Associates, 2001. – 609 p.
Vannote, R.L., Minshall G.W., Cummins K.W., Sedell J.R. The River Continuum Concept. Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1980. – Vol. 37. – P. 130-137.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЗООПЛАНКТОНА НИЖНЕЙ ОБИ В ПРЕДЕЛАХ ЯМАЛО-НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

В.А. Алексюк

ФГУП «Госрыбцентр», 625023 г. Тюмень, Россия, g-r-c@mail.ru

Зоопланктон Нижней Оби формируется за счет биопродукционных процессов в самой реке, а также и за счет выноса организмов из притоков сорных и озерных систем. В период открытой воды 2007 года, зоопланктон Нижней Оби, представлен 93 видами и разновидностями зоопланктеров, из них - 39 коловраток (*Rotatoria*), 32 – ветвистоусых рачка (*Cladocera*) и 22 веслоногих рачка (*Copepoda*).

В р. Обь у Ангальского мыса обнаружено наибольшее количество планктонных организмов (75 видов). На других разрезах (у пос. Казым Мыс и у пос. Ямбура) видовое богатство было несколько ниже от 48 до 69 видов, что связано с меньшим периодом наблюдений. Сравнение видового состава весенне-осеннего зоопланктона по индексу Серенсена (Одум, 1975) показал, что планктон по разрезам имеет существенное сходство (0.64-0.77).

Из анализ видового состава следует, что зоопланктон экологически разнообразен, как и в прошлые годы (Юхнева, 1970; Крохалевская и др., 1981; Семенова и др., 2000). Много лимнофильных и типично реофильных видов, встречаются эврибионты и виды, характерные для арктических зон, присутствуют обитатели тундровых водоемов и немногочисленная группа теплолюбивых видов. В планктоне встречены пелагические виды, а также бентосные и зарослевые формы.

На всех разрезах наибольшим количеством видов представлены коловратки. Особым разнообразием отличалась эта группа на разрезах у Ангальского мыса и у пос. Ямбура, выявлено 29-33 вида соответственно. Наименьшее число видов отмечено в р. Обь у пос. Казым Мыс (19 видов). Коловратки были наиболее разнообразны в видовом отношении на всех разрезах и почти во все сезоны.

Среди наиболее часто встречающихся видов можно назвать: *Asplanchna priodonta priodonta*, *Asplanchna priodonta helvetica*, *Bipalpus hudsoni*, *Kellicottia longiseta longiseta*, *Synchaeta pectinata*, *Trichocerca porcellus*. Обилие их в планктоне отмечено во все сезоны.

Из ракообразных – ветвистоусые рачки богаче в видовом отношении после коловраток, их число видов по разрезам изменялось от 19 до 28 видов

Часто встречались виды *Bosmina obtusirostris*, *Bosmina longirostris*, *Ceriodaphnia affinis*, *Chydorus sphaericus*, *Daphnia cristata*. Наибольшее развитие эта группа имела на разрезе у пос. Казым Мыс как по численности, так и по биомассе.

Веслоногие ракообразные были представлены в основном молодью: *Mesocyclops leuckarti*, *Cyclops kolensis*, *Macrocyclus albidus*, *Eudiaptomus graciloides*. Пик их развития приходился на весенний период у разреза пос. Ямбура.

Доминантами по численности и биомассе, из определённых 93 видов и разновидностей зоопланктеров, было только 7 видов, включая науплиальные и ювенальные стадии веслоногих рачков, остальные виды встречались в небольших количествах.

Развитие зоопланктона в реке зависит, главным образом, от развития пойменной системы, а также от особенностей гидрохимического и гидрологического режима. Сезонная динамика развития зоопланктона в р. Обь в период наблюдений 2007 года показала что численно доминировали коловратки весной, летом и в начале осени на разрезах пос. Ямбура и Мыс Ангальский, а биомасса создавалась в основном ветвистоусыми рачками.

В вегетационный сезон относительная доля численности коловраток изменялась от 6 до 82 %, ветвистоусых рачков – от 0 до 87 %, веслоногих рачков – от 7 до 58 %, а биомассы соответственно – от 0.1 до 84.6 %, от 0.1 до 89.4 % и от 10.5 до 57.2 %.

Весной в зоопланктоне р. Обь (Ангальский мыс и пос. Ямбура) обнаружено 37-39 видов и разновидностей зоопланктеров (табл.).

Весенний зоопланктон на обеих разрезах носит ротаторно-копеподитный характер. Зоопланктон определялся развитием *Rotatoria* (от 47 до 73 %, в среднем 57 % численности и от 8.0 до 36.3 %, в среднем 24.2 % биомассы) и *Copepoda* (от 26 до 52 %, в среднем 43 % численности и от 62.2

до 92.0 % биомассы, в среднем 74.6 %). В зоопланктоне преобладали *Brachionus calyciflorus calyciflorus*, *Brachionus calyciflorus anuraeiformis*, *Keratella quadrata quadrata*, науплиальные и ювинальные стадии *Cyclopoidae*.

В среднем весенний планктон был самым высоким на разрезе пос. Ямбура, по численности - 25070 экз./м³ и по биомассе – 266.3 мг/м³, с максимумом 43570 экз./м³ и 526.6 мг/м³ соответственно. На разрезе у Ангальского мыса численность была несколько выше – 33917 экз./м³, а биомасса составила – 191.9 мг/м³.

В летние месяцы с прогревом водных масс зоопланктон более разнообразен в видовом отношении – 73 вида и разновидности. У Ангальского мыса встречено от 40 до 50 видов у пос. Казым Мыс – 26 видов, что составило соответственно 43-54 % и 28 % от общего количества видов.

Плотность и биомасса зоопланктона летом изменялась в широких пределах. На разрезе у Ангальского мыса продолжают доминировать коловратки по численности (43-77 %), а биомасса их высока только в начале лета (61 %). В середине и конце лета доминирующее положение продолжают занимать по биомассе ветвистоусые рачки (22,0-64.8 %).

Таблица. – Качественные и количественные показатели зоопланктона Нижней Оби, 2007 г.

Сезон	Разрез	Кол-во видов	Численность, экз./м ³	Биомасса, мг/м ³	Доминирующая группа	Индекс сапробности
Весна	ОЯ	39	<u>9680-43570</u> 25070	<u>112.1-526.6</u> 266.3	<i>Rotatoria</i> (Ro)* <i>Copepoda</i> (Co)**	<u>1.72-2.12</u> 1.84
	ОА	37	<u>16700-48750</u> 33917	<u>139.8-238.4</u> 191.9	<i>Rotatoria</i> *** <i>Copepoda</i> **	<u>1.27-1.44</u> 1.33
Начало лета	ОА	40	<u>6900-17700</u> 10620	<u>30.2-57.3</u> 41.4	<i>Rotatoria</i> * <i>Cladocera</i> (Cl)**	<u>1.33-1.51</u> 1.39
Середина лета	ОА	50	<u>14820-31980</u> 22107	<u>55.4-163.4</u> 103.5	<i>Rotatoria</i> * <i>Cladocera</i> **	<u>1.34-1.46</u> 1.38
	ОК	26	<u>170-1188</u> 760	<u>0.3-12.3</u> 5.9	<i>Rotatoria</i> * <i>Cladocera</i> **	<u>1.39-1.56</u> 1.49
Начало осени	ОЯ	51	<u>2540-15230</u> 7287	<u>25.7-152.0</u> 68.2	<i>Ro+Co</i> * <i>Cl+Co</i> **	<u>1.37-1.47</u> 1.46
	ОА	47	<u>12910-35060</u> 24783	<u>102.9-448.0</u> 234.3	<i>Rotatoria</i> * <i>Cladocera</i> **	<u>1.41-1.44</u> 1.42
	ОК	37	<u>13040-15430</u> 14357	<u>161.5-209.5</u> 181.8	<i>Ro+Cl+Co</i> * <i>Cl+Co</i> **	<u>1.46-1.49</u> 1.47
Конец осени	ОА	34	<u>790-20430</u> 8487	<u>8.3-505.2</u> 181.7	<i>Cladocera</i> ***	<u>1.38-1.50</u> 1.48

Примечание: ОЯ – р. Обь у пос. Ямбура; ОА – р. Обь, мыс Ангальский; ОК – р. Обь у пос. Казым Мыс;
над чертой – разброс индекса сапробности;
под чертой – средний индекс сапробности:
*- по численности, ** - по биомассе,
*** - по численности и по биомассе.

Повысилась роль видов рода *Bosmina*, *Ceriodaphnia*, *Polyphemus*. Высокая численность зоопланктона отмечена в начале лета на разрезе у Ангальского мыса в русле реки, биомасса у левого берега, где огромно влияние реки Полуй. Средняя численность составила 16852 экз./м³, а биомасса 85.7 мг/м³.

Развитие зоопланктона на разрезе пос. Казым Мыс в летний период самое низкое и изменялись от 170 до 1188 экз./м³, в среднем составили 763 экз./м³. Биомасса колебалась от 0.3 до 12.3 мг/м³, в среднем составила 5.9 мг/м³. Коловратки имели массовое развитие у левого берега за счет *Euchlanis dilatata lucksiana*. На русле и у правого берега доминировали ветвистоусые рачки (*Bosminopsis deitersi*, *Bosmina obtusirostris*, *Ceriodaphnia affinis* и *Sida crystallina*).

В осенний период видовой состав зоопланктона в реке несколько снизился и составил 64 вида, сказалось понижение температурного режима. Наиболее богат в видовом отношении разрез у пос. Ямбура – 51 вид. Количественные показатели к осени несколько возросли по сравнению с летом и связано это со спадом уровня воды в реке и освобождением пойменной системы, воды которой несут большое количество зоопланктона. По численности и биомассе доминируют в значительной степени ветвистоусые рачки (14-87 % численности и 26.0-89.4 % биомассы). Только в начале осени на разрезе у Ангальского мыса массовыми были коловратки за счёт видов рода *Notholca* (15 % от общей численности), *Trichocerca* (11 %), *Asplanchna* (7 %).

В осенний период разброс численности составил от 790 до 35060 экз./м³ при биомассе от 8.3 до 505.2 мг/м³. В начале осени по плотности продолжали доминировать коловратки, в среднем до 48 %, массовыми были виды родов *Notholca* и *Trichocerca*. Биомасса зоопланктона, как и летом, создавалась ветвистоусыми рачками родов *Bosmina* и *Daphnia*. В конце осени как численность (в среднем 73%), так и биомасса (86.3 %) создавались ветвистоусыми рачками *Bosmina obtusirostris*, *Bosmina obtusirostris* var. *arctica*, *Bosmina longirostris*.

Таким образом, анализ количественного развития зоопланктона обследованных разрезов показал, что в весенне-осенний период наибольшие показатели развития характерны для реки Оби весной у пос. Ямбура и осенью у Ангальского мыса. У пос. Казым Мыс осенью плотность и биомасса планктона значительно выше, чем летом. На всех разрезах к осени отмечался спад в развитии коловраток и увеличение ветвистоусых рачков. Развитие веслоногих рачков было высоким только в весенний период у пос. Ямбура.

В зоопланктоне обследованных разрезов обнаружено 75 индикаторных вида. По степени сапробности они варьировали в довольно широком пределе от ксено-олигосапробных до бета-альфа-мезосапробов. Большинство относится к олигосапробам (до 41.5 %), олиго-бета-мезосапробам (до 46.3 %).

В р. Обь у пос. Ямбура колебания индекса сапробности показали изменение состояния водных масс от бета-мезосапробной зоны весной, до олигосапробной зоны в осенний период. Максимальные индексы сапробности от 2.12 до 1.72, в среднем 1.84, отмечены весной, что связано с естественным поступлением органических веществ с материковым стоком во время половодья. В этот период доминирующее положение занимали бета-альфа-мезосапробные виды рода *Brachionus* (до 34 % от общей численности), а также зоопланктеры переходной зоны между бета-мезо- и олигосапробной виды рода *Keratella* (до 21 %).

К осени на смену бета-альфа-мезосапробам пришли представители чистых вод - олигосапробы. Индекс сапробности снизился до 1.47-1.37, в среднем составил 1.46, что указывает на происходящие процессы самоочищения. В этот период, воды реки Оби у пос. Ямбура характеризуются как чистые – II класс чистоты вод.

В р. Обь у Ангальского мыса в летне-осенний период индекс сапробности выше 1.50 не поднимался (1.50-1.27) и характеризовал воды реки как чистые. В планктоне доминировали олигосапробы (из коловраток - *Conochilus unicornis*, *Bipalpus hudsoni*, *Trichocerca porcellus*, *Trichocerca cylindrica*, из ветвистоусых - *Bosmina obtusirostris*, *Ceriodaphnia quadrangula*).

На разрезе у пос. Казым Мыс в летне-осенний период динамика индексов сапробности совпала с данными в р. Обь у Ангальского мыса. Качество воды в среднем находилось в олигосапробной зоне. Индексы сапробности изменялись по станциям от 1.56 до 1.39, в среднем составили летом – 1.49, осенью – 1.47, что указывает на II класс чистоты вод.

Таким образом, рассматривая сезонную динамику сапробности речных вод по развитию индикаторных видов зоопланктона, можно выделить весенний период повышенной сапробности – бета-мезосапробная зона и летне-осенний период с тенденцией в сторону олигосапробной зоны, что согласуется с литературными данными (Алексюк и др., 1989, Семенова и др., 1998).

В целом качество вод р. Обь в период открытой воды 2007 года по данным количественного развития индикаторных видов зоопланктона в весенний период соответствуют III классу чистоты вод (умеренно-загрязненные воды), в летне-осенний период - II классу чистоты вод (чистые воды). Повышенная сапробность в начале вегетационного периода обусловлена не только поступлением загрязняющих веществ из районов интенсивной нефтедобычи, расположенных в среднем Приобье, но и выносом их из р. Полуй, поэтому р. Обь требует реализации водоохраных мероприятий.

Список литературы.

- Алексюк В.А., Семенова Л.А. Биологический анализ качества воды Нижней Оби и ее уральских притоков //В сб.: Изучение р. Оби и ее притоков в связи с хозяйственным освоением Западной Сибири.-Л.-ГосНИОРХ. - 1989. – Вып. 305. – С. 34-42.
- Крохалевская Н. Г., Алексюк В. А., Семенова Л. А. Видовой состав зоопланктона водоемов Нижней Оби //В сб.: Рыбное хозяйство на водоемах Западной Сибири. - ГосНИОРХ. - 1981. - Вып. 171.- С. 100-105.
- Одум Ю. Основы экологии. – М. - Мир. - 1975. – 740 с.
- Семенова Л.А., Алексюк В.А., Дергач С.М., Лелеко Т.И. Видовое разнообразие зоопланктона водоемов Обского севера //Сб.: Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. – Тюмень. - ИПОС СО РАН.– 2000. – Вып. 1. – С. 127-134.
- Семенова Л.А., Князева Н.С., Алексюк В.А., Степанова В.Б. Экологическое состояние Оби в районе г. Салехарда в 1997 г. // Тезисы докл. обл. научной конф. «Окружающая среда» – Тюмень. - 1998. – С. 72-74
- Юхнева В.С. Состав и распределение зоопланктона в Нижней Оби // Зоологический журнал. - 1970. - Т. 49. - Вып. 5. - С. 660-664.

**ВИДОВОЙ СОСТАВ, ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА
РАЗЛИЧНЫХ РАЗМЕРНЫХ ФРАКЦИЙ ПРОТОЗОЙНОГО ПЛАНКТОНА
В ОЗЕРАХ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УРОВНЮ ТРОФИИ**

Д.С. Бардинский

Институт Озёроведения РАН

196105 С.-Петербург, ул. Севастьянова, д. 9, Россия, bardos777@mail.ru

Изучение структуры планктонных сообществ имеет большое значение для познания процессов функционирования водных экосистем, важным звеном которых являются простейшие. Планктонные инфузории – многочисленная и представительная группа простейших, на долю которой приходится значительная часть общей продукции и метаболизма микрогетеротрофов водных экосистем (Мамаева, 1979). Во многих водных биоценозах они являются основными преобразователями бактериальной и водорослевой продукции (Копылов, 1983). Многие виды инфузорий являются биоиндикаторами органического загрязнения водной среды, что позволяет использовать их для оценки сапробного состояния водоёмов.

Цель работы - выявить роль отдельных размерных фракций инфузорий в численности и биомассе планктонного сообщества простейших в Верхнем и Нижнем Суздальских озерах, находящихся в городской черте Санкт-Петербурга и испытывающих разную антропогенную нагрузку. Верхнее Суздальское озеро активно используется горожанами для отдыха и купания в летние месяцы. На берегу Нижнего Суздальского озера расположено небольшое кладбище, а также идёт строительство новых городских кварталов, особенно активно за последние 3 года. По величине средней за сезон биомассы, типу сезонной динамики, составу доминирующих видов фитопланктона и средней концентрации хлорофилла “а” Верхнее Суздальское озеро характеризуется как мезотрофное, а Нижнее Суздальское высокоэвтрофное (Павлова, 2004). Необходимо отметить, что Верхнее Суздальское озеро имеет подпитку ключами.

Пробы воды для изучения сообщества планктонных инфузорий отбирались с мая по октябрь один раз в месяц в 2007 году. В Верхнем Суздальском озере (максимальная глубина 10 м), пробы отбирались с поверхности, 3.0 м, 6.0 м и из придонного горизонта. В Нижнем Суздальском озере (максимальная глубина 3 м) сбор проб производился с горизонта 1 м. Для отбора проб использовался батометр Руттнера объёмом 2 литра. Пробы обрабатывались в живом виде по общепринятой гидробиологической методике (Хлебович, 1997; Локоть, 1987, Лаврентьев, 1989) сразу же по возвращении в лабораторию. При обработке проб инфузории были разделены на группы по размерам: мелкие (до 40 мкм), средние (40-100 мкм), крупные (100-200 мкм) и группа размером свыше 200 мкм.

Инфузории, обнаруженные в планктоне Суздальских озёр, относятся к 5 отрядам (Gymnostomata, Oligotricha, Peritricha, Hymenostomata и Heterotricha). Доминирующие виды инфузорий принадлежали, в основном, к отряду Oligotricha. Это виды рода *Strombidium* – *S. mirabile*, *S. viride f. pelagica*; рода *Strobilidium* (*S. velox*) и *Tintinopsis* (*T. cratera*). Кроме этого, была отмечена высокая численность представителей рода *Paramecium*.

Как известно, многие виды простейших могут служить индикаторами трофического состояния водоёма. Поэтому по распространению планктонных инфузорий в водоёмах различной сапробности (Определитель пресноводных..., 1977) можно предварительно оценить трофический статус водоёма. В таблице 1 приводятся данные по распространению некоторых найденных планктонных инфузорий в двух исследованных озёрах. Также необходимо отметить, что видовой состав простейших, обнаруженных в планктоне Верхнего Суздальского озера, богаче, чем в планктоне Нижнего Суздальского озера.

В таблицу 1 вошли наиболее показательные виды простейших Верхнего и Нижнего Суздальских озёр. Найденные в В. С. оз. и часто встречающиеся виды *Strombidium viride*, *S. viride f. pelagica*, *S. velox*, *Tintinopsis cratera*, *Halteria grandinella*, *Strobilidium velox* – являются типичными для мезотрофных озёр, хотя некоторые из них, в том числе *Strombidium viride f. Pelagica*, *Tintinnopsis cratera*, *Strobilidium velox* мы обнаружили в планктоне Нижнего Суздальского озера. Обращает на себя внимание тот факт, что два полисапробных вида простейших *Paramecium putrium* и *Vorticella microstoma* обнаружены в наиболее загрязнённом Нижнем Суздальском озере. При этом численность *P. putrium* составляла до 450 тыс./м³. Также можно отметить обнаруженную в планктоне Н. С. озера *Paramecium aurelia*, которая является β-мезосапробом и часто встречается в грязных водоёмах с большим количеством органических веществ (Определитель пресноводных..., 1977). Этот вид отсутствует в планктоне Верхнего Суздальского озера.

Среднеразмерная фракция является основной в сообществе планктонных инфузорий и в исследованных озерах в нее входят основные массовые виды: *Strombidium mirabile*, *S. viride*, *S. viride f. pelagica*, *Strobilidium velox*, *Tintinopsis cratera*, *Halteria grandinella*, *Tintinnidium fluviatile f. cylindrica*, *Vorticella anabena*, *Vorticella natans*. Два вида - *Epistylis rotans* и *Vorticella anabena* присутствовали в планктоне только в июне. В мелкоразмерную фракцию можно отнести массовый вид *Urotricha farcta*.

Таблица 1.

Виды	Верхнее Суздальское	Нижнее Суздальское	Сапробность
<i>Coleps hirtus</i> Nitzsch	+	+	α-мезо
<i>Didinium nasutum</i> O.F.Muller	+		β-мезо
<i>Epistylis rotans</i> Svec	+		Олиго
<i>Halteria grandinella</i> O.F.Muller	+	+	α-β мезо
<i>Paramecium bursaria</i> Ehrenberg	+	+	α-β мезо
<i>Paramecium aurelia</i> Ehrenberg		+	β-мезо
<i>Paramecium putrium</i> Claparede et Lachmann		+	Полисапроб
<i>Strobilidium gyrans</i> Stokes	+		Олиго-β-мезо
<i>Strobilidium velox</i> Faure-Fremiet	+	+	β-мезо
<i>Strombidium mirabile</i> Penard	+	+	β-мезо
<i>Strombidium viride</i> Stein	+		Олиго
<i>Strombidium viride f. Pelagica</i> Kahl	+	+	β-мезо
<i>Tintinnidium fluviatile f. cylindrical</i> Gajewskaja	+		β-мезо
<i>Tintinnopsis cratera</i> Hada	+	+	β-мезо
<i>Vorticella anabena</i> Stiller	+		Олиго
<i>Vorticella microstoma</i> Ehrenberg		+	Поли
<i>Vorticella natans</i> Faure-Fremiet	+	+	α-β мезо
<i>Urotricha farcta</i> Claparede et Lachmann	+	+	α-β мезо

В крупноразмерной фракции доминируют виды рода *Paramecium*. Кроме этого в течении сезона в небольшом количестве встречался *Didinium nasutum*, также относящийся к крупноразмерной фракции. Из фракции с размерами более 200 мкм. в Верхнем Суздальском озере встречалась *Stokesia vernalis* и весной был отмечен холодолюбивый вид - *Amphileptus tracheliodes*. Вклад планктонных инфузорий разных размерных фракций в общие значения численности и биомассы сообщества неоднороден. Так основная роль мелкоразмерной фракции прослеживается во влиянии на численность сообщества, в то время как среднеразмерная фракция в основном влияет на значение биомассы. При этом необходимо отметить, что виды, входящие в среднеразмерную фракцию имеют разный индивидуальный вес клетки. Наличие крупных инфузорий, таких как *Strombidium mirabile*, *S. Viride* при сопоставимой численности с остальными представителями фракции может повлиять на значение общей биомассы группы. Крупноразмерная фракция, несмотря на высокий удельный вес входящих в неё инфузорий, не оказывает заметного влияния на биомассу сообщества из-за малой численности группы и нерегулярном присутствии в планктоне озёр (рис.1, 2).

При проведении наших исследований на Верхнем и Нижнем Суздальских озёрах была изучена динамика развития сообщества планктонных инфузорий в течении вегетативного сезона (рис.1и 2). После вскрытия водоёмов происходит быстрое развитие планктонных сообществ, в том числе инфузорий. Результаты показали, что в сезонной динамике развития простейших в Верхнем Суздальском озере имеются максимальные значения численности и биомассы в мае и июне и небольшое увеличение значений биомассы в сентябре (рис. 1). Такая сезонная динамика характерна для мезотрофных озёр. Нижнее Суздальское озеро имеет низкие значения численности и биомассы в мае, максимальные значения только в июне, а затем непрерывное снижение до конца вегетативного сезона (рис. 2). Подобная динамика характерна для эвтрофных водоёмов. Можно отметить, что по средним значениям показатели численности и биомассы протозойного планктона озёра отличаются почти в два раза. Соответственно средние значения для Верхнего Суздальского озера составили – численность (N) = 1923 тыс./м³, биомасса (B) = 0.11 г/м³ и для Нижнего Суздальского оз. численность (N) = 3880 тыс./м³, биомасса (B) = 0.3 г/м³. Максимальные значения численности для сообщества планктонных инфузорий в Верхнем Суздальском озера составили 2987 тыс./м³ (N) в июне, а минимальные – 425 тыс./м³ в октябре. При этом максимальная биомасса простейших в

данном озере была отмечена в мае и составила 0.184 г/м³ (рис.1, В). Численность средней фракции в мае для Верхнего оз. превышает численность мелкой фракции, а для июля значения изменяются на противоположные, а в августе соотношения размерных фракций аналогичны майским значениям. Для Нижнего Суздальского оз. максимальные значения численности были отмечены в июне и составили 7000 тыс./м³, а биомасса – 0.512 г/м³ (рис. 2, А, В).

При этом можно отметить, что высокие значения для биомассы сообщества Н. С. Оз. в июне зависят также и от крупноразмерной фракции, которая состояла из представителей рода *Paramecium*. В среднеразмерной фракции наибольшее влияние на значение численности и биомассы оказывали инфузории родов *Strombidium* и *Tintinnopsis*.

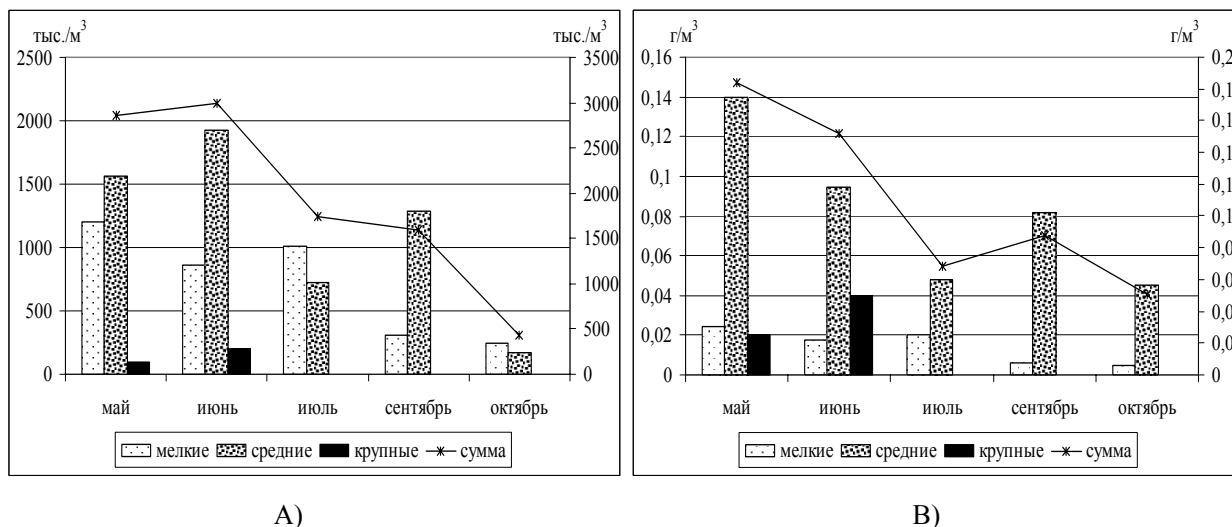


Рис. 1. Сезонная динамика планктонных простейших оз. Верхнего Суздальского в 2007г. Численность – А), биомасса – В)

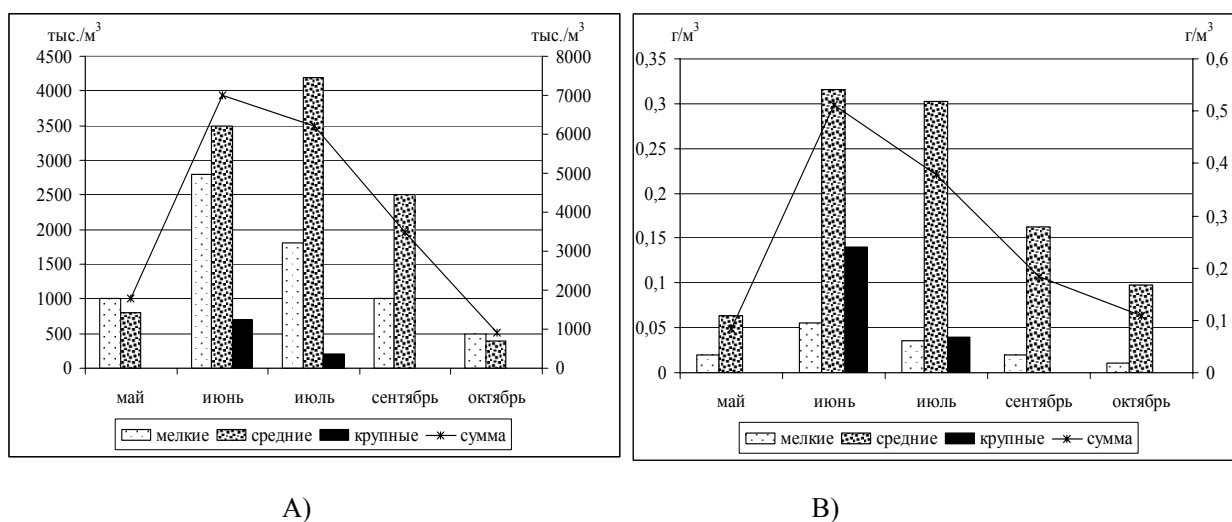


Рис.2. Сезонная динамика планктонных простейших оз. Нижнего Суздальского в 2007г. Численность – А), биомасса – В)

В таблице 2 представлены соотношения численности и биомассы основных размерных групп сообщества планктонных инфузорий в исследованных озёрах. Вклад мелкой фракции простейших, так же как и остальных групп инфузорий в общую численность и биомассу Верхнего Суздальского озера практически не отличается от значений, отмеченных для Нижнего Суздальского оз. (табл. 2).

Результаты исследований, проведённых на Верхнем и Нижнем Суздальском озере показали заметные различия в основных показателях сообщества планктонных инфузорий таких как численность и биомасса, а также в видовом составе данных озёр. Обнаруженные виды в Верхнем Суздальском озере характерны для озёр мезотрофного типа. Наличие полисапробных инфузорий, а также видов, обитающих в загрязнённых водоёмах, отмеченное для Нижнего Суздальского озера, подчёркивает трофический статус

исследованного эвтрофного водоёма. Также на это указывает тип сезонной динамики с одним максимумом в летний период.

Таблица 2. Доля отдельных размерных групп инфузорий в численности (N тыс./м³) (А) и биомассе (В г/м³) (В) сообщества простейших в Верхнем и Нижнем Суздальском озёрах.

Озеро	N	Вклад отдельных размерных групп (в %)		
		0-40 мкм	40-100мкм	100-200 мкм
Верхнее Суздальское	1923	38	59	3
Нижнее Суздальское	3880	37	58	5

А)

Озеро	В	Вклад отдельных размерных групп (в %)		
		0-40 мкм	40-100мкм	100-200 мкм
Верхнее Суздальское	0,1	13	76	11
Нижнее Суздальское	0,3	11	75	14

В)

Также необходимо отметить, что Нижнее Суздальское озеро испытывает сильную антропогенную нагрузку из-за строительства новых кварталов города. При этом, малая глубина, слабая проточность возможно усиливают отмеченное влияние на экологию озера. Верхнее Суздальское озеро имеет пиковую антропогенную нагрузку в летние месяцы. На протяжении календарного года нагрузка менее значима, чем в ситуации с Нижним Суздальским озером. Большая глубина Верхнего озера (до 10 м) и подпитка ключами позволяет снизить антропогенное влияние на экологию данного водоёма и поддержать его мезотрофный статус.

Список литературы.

- Копылов А.И.* Питание и продукция планктонных инфузорий Рыбинского водохранилища. // Автореферат кандидатской диссертации. Севастополь, 1983, с 23.
- Лаврентьев П.Я.* Сообщество планктонных инфузорий субарктических тундровых озёр, структура, роль в экосистеме, реакция на антропогенное воздействие. // Сборник научных трудов ГОСНИОРХ, 1989, вып. 292, с. 110-12
- Локоть Л.И.* Экология ресничных простейших в озёрах Центрального Забайкалья. // Наука, Сибирское отделение, 1987
- Мамаева Н.В.* Инфузории бассейна Волги. // Л., Наука, Ленингр. отделение, 1979, 150 с.
- Павлова О.А.* Структура фитопланктона малых озёр в условиях урбанизированного ландшафта. // Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук. С-Петербург, 2004, с.24
- Хлебков Т. В.* Структурно-функциональная роль планктонных инфузорий в разнотипных озёрах южной Карелии. // Реакция озёрных экос

ЗООПЛАНКТОЦЕНОЗЫ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ МЕЛКИХ ОЗЕР КОЛЛЕКТОРНОГО СТОКА ХОРЕЗМСКОЙ ОБЛАСТИ УЗБЕКИСТАНА.

Е.Н. Гинатуллина¹, Д.Б. Шерметова²

¹*Институт Водных Проблем Академии Наук Узбекистана
Ташкент 100125, ул. Ходжибаева 49, Узбекистан, e-ginatullina@yandex.ru*

²*Ургенчский Государственный Университет
г. Ургенч, Узбекистан*

К числу физико-химических условий Средней Азии, имеющих отношение к биопродуктивности, необходимо отнести особенности бассейнов рек и характер их вод: преобладание высокого горного стока при исключительной вертикальной зональности: снеговые поля нередко расположены всего в 100 км от знойной пустыни. Реки Средней Азии несут горноснеговую и ледниковую воду, бедную биогенами. Происходит уменьшение количества азота от

2-3 мг/л до 0.5, реже до 0.2 мг/л и фосфора в нижнем течении по сравнению с верхним, что объясняется также поступлением относительно бедных азотом вод из сбросных и осушительных каналов. Минимальное содержание азота наблюдается в водах сбросных каналов в конечном пункте. Сама река и оросители с речным питанием в летний период бедны организмами ввиду чрезмерной мутности воды (Музафаров, 1974).

Другая особенность состоит в том, что наблюдается увеличение количества растворенных солей сверху вниз по течению, что происходит за счет вымывания солей и поступление возвратных и грунтовых вод с большим содержанием растворенных солей. При увеличении солености до 1200 мг/л и дальнейшем росте минерализации воды карбонаты начинают выпадать в осадок, концентрация их стабилизируется и происходит метаморфизация вод из сульфатно-хлоридно-гидрокарбонатных в сульфатно-хлоридно-натриевые (Алекин, 1970). В связи с нарастающей тенденцией обводнения новых земель в Узбекистане с середины XX века, одновременно с исчезновением озер, питающихся речными водами, существенно увеличилось количество и площади конечных озер, служащих водоприемниками сбросных и возвратных с/х вод. Целью данной работы было изучить зоопланктоценозы мелких озер коллекторного стока в Хорезмской области Узбекистана (карта), выяснить особенности, характеризующие водные ценозы в условиях дренажного стока при действии такого стрессового фактора как высокая минерализация воды. Одной из таких особенностей является структура сообществ населяющих озера организмов, в нашем случае структура зоопланктона. Наблюдения проводились с июня 2007 г. по июнь 2008г. на 4-х мелких минерализованных озерах районов Хорезмской области: оз. Туйрекуль, Шуркуль и Ходжабаба с минерализацией до 5 г/л и в озере Эшанрабат в котором уровень минерализации воды, в основном превышал значение 12 г/л. Количественные и качественные сборы зоопланктона проводились 1 раз в конце каждого месяца. Исследования включали также определение содержания кислорода в воде, прозрачности, электропроводности, pH. Всего было собрано и обработано 76 проб зоопланктона, в основном с пелагиали озер.

Сбор зоопланктона осуществлялся при помощи сети Джеджи, $d = 18$ см (газ № 76). Обработка зоопланктона проводилась по общепринятым методикам согласно Методическим рекомендациям..., 1984 с использованием камеры Богорова. Соотношение видов внутри ценозов оценивалось по индексу плотности $-\sqrt{p \cdot b}$ (Пидгайко, 1978), где p - встречаемость вида в пробах, b - средняя биомасса вида. В качестве критерия для оценки зоопланктонных сообществ были взяты также количественные и структурные характеристики: средний вес одного организма; соотношение между биомассами хищников и фильтраторов, биомасса зоопланктона в 1 м^3 и видовое разнообразие, определяемое при помощи индекса Шеннона (H) по формуле: $H = -\sum b_i/B \cdot \log_2 b_i/B$, где b_i - биомасса i -го вида, B - средняя за сезон биомасса сообщества.

Абсолютное большинство озер на равнинных территориях Средней Азии относится к типу стоково-приточных и испарительно-приточных озер. (Никитин, 1986). Изученные озера Хорезмской области имеют небольшую площадь от 1-5 га, средняя глубина озер около 1.5м, максимальная – 2-2.3 м. По строению котловин озера надо отнести к эвтрофным; это мелководные, заросшие озера, с ровным дном. Однако, по уровню содержания биогенных элементов озера являются олиготрофными. Изученные озера коллекторного стока, характеризуются низкой прозрачностью воды (20-30 см), за исключением озера Эшанрабат, где прозрачность достигает дна, высокой цветностью (5 баллов) и высокой электропроводностью. Озера нестратифицированные, т.е. характеризуются отсутствием какого-либо расслоения водной массы в вегетационный период, с мая по октябрь в них наблюдается гомотермия. Температура воды в июле достигает 30°C . В холодное время температура воды подвержена резким перепадам вслед за изменением температуры воздуха; ледный период 2007-2008 гг. продолжался с декабря до начала февраля. Дно озер покрыто слоем ила до 1м (несколько меньше иловые отложения в озере Эшанрабат); в придонном слое наблюдается присутствие сероводорода. Содержание кислорода в озерах уменьшается от поверхности ко дну. Значения pH всегда немного смещены в щелочную сторону, за исключением ноября, когда во всех озерах pH несколько отклоняется в кислую сторону. Гидрохимические показатели озер приведены в табл. 1.

Минерализация несколько увеличивается от поверхности ко дну. Сезонная динамика минерализации имеет тренд к увеличению от лета к зиме (максимальное содержание в январе), с резким снижением показателей в весеннее время (начиная с февраля, наблюдается минимум в содержании солей). Причиной повышенной минерализации озер в границах от 3-5 г/л является поступление возвратных (дренажных) и грунтовых вод с большим содержанием растворенных солей; такова минерализация озер Туйрекуль, Шуркуль и Ходжабаба. Значения минерализации свойственной первой группе озер соответствует олигогалинному барьеру для распространения пресноводных видов, выделенному Андреевым, Андреевой, 2005 для Аральского моря; однако, в ее

границах еще возможно распространение эвригалинных пресноводных видов. Тогда как значения минерализации в озере Эшанрабат составляют от 12-14 г/л и переходят в разряд морской минерализации свойственной ранее Аральскому морю и характеризуются выпадением фауны ветвистоусых рачков, за исключением *Moina salina* вида эндемичного для Арало-Каспийского комплекса. Причина такой высокой минерализации лежит, вероятно, в особенностях почвообразующих пород местности, где располагается озеро.

Таблица 1. Гидрохимические характеристики терминальных озер Хорезмской области.

Озеро	pH	Электро-проводность, μS/cm	O ₂ , мг/л	Минерал., г/л
Ходжабаба	7.85	4350/4400	7.8/6.3	3.2/3.3
Шуркуль	8.2	3800/4900	6.6/5.6	2.8/3.1
Туйрекуль	8.1	4300/4900	9.2/8.3	3.1/3.2
Эшанрабат	8.2	18540	7.0/4.5	14.0/16.0

Примечание. Для величин электропроводности, концентрации кислорода и общей минерализации в числителе указаны значения для слоя 0.5 м, в знаменателе – 1 м.

Резкие колебания температуры и минерализации приводят к аномальным соотношениям между биомассами хищников и фильтраторов. Низкие значения индекса видового разнообразия, крайне малая средняя масса организма и низкие значения биомасс зоопланктона свидетельствует о стрессовой ситуации в экосистемах данных водоемов (табл.2). В процессе исследования нами обнаружено 20 видов коловраток, 11 видов ветвистоусых и 10 видов веслоногих рачков. Видовой состав озер Хорезма довольно беден. Наименьшее количество видов идентифицированных для 4-х озер было характерно для озера Эшанрабат – 7 видов. Для озер Туйрекуль, Ходжабаба и Шуркуль, где уровень минерализации составлял от 3-5 г/л, количество идентифицированных видов составило - 17, 16 и 14 соответственно.

Таблица 2. Структурные характеристики зоопланктоценозов терминальных озер Хорезмской области

Озеро	Ценоз	Биомасса мг/м ³	Индекс Шеннона	Доля хищ. %	Средняя масса организма, мг
Шуркуль	<i>C.vicinus</i> , <i>Th.vermifer</i> <i>D.mongolianum</i> <i>S.vetulus</i> , <i>B.plicatilis</i>	0.4-12.3	2.95	210	0.001
Туйрекуль	<i>D.mongolianum</i> <i>A.salinus</i> , <i>Th.vermifer</i> <i>B.plicatilis</i> , <i>A.herricki</i>	0.5-2686	0.82	4.6	0.005
Ходжабаба	<i>Th.vermifer</i> , <i>C.vicinus</i> <i>D.mongolianum</i> <i>B.plicatilis</i>	0.12-62.2	1.97	118	0.001
Эшанрабат	<i>B.plicatilis</i> , <i>A.salinus</i> <i>M.salina</i> , <i>Harpacticoida</i>	0.01-232.0	1.36	1.5	0.0007

Зоопланктоценозы минерализация озер Туйрекуль (рис.1), Шуркуль и Ходжабаба образуются в основном за счет *Diaphanosoma mongolianum*, *Thermocyclops vermifer*, *Cyclops vicinus*, *Brachionus plicatilis*, *Keratella quadrata*. В оз. Туйрекуль заметное влияние в сообществе играет также *Arctodiaptomus salinus*, а в оз. Шуркуль *Simocephalus vetulus* (в основном населяет зону, связанную с погруженной водной растительностью, а не с пелагиалью озера). К числу характерных видов данных сообществ относятся *Chydorus sphaericus*, *Alona rectangula*, *Mesocyclops ogunnus* *Onychocamptus mohammed*. Для более высокоминерализованного оз. Эшанрабат был характерен зоопланктоценоз составляющий исключение в ряду исследованных озер. Доминантным видом здесь выступила галобионтная коловратка *Brachionus plicatilis*, хотя ее ценотическое участие оказалось преобладающим в ходе сезонного исследования, нужно отметить, что вид так проявил себя только в апреле 2008 г., хотя в основном, встречался в минимальных количествах в зоопланктоценозе этого озера. В роли субдоминантов и характерных видов этого озера выступали *Arctodiaptomus salinus*, *Moina salina*, *Apocyclops dengizicus*, *Onychocamptus bengalensis*, *Schizopera aralensis*, *Cletocamptus sp.* Индекс сходства видового состава Серенса-Чекановского показывает, что между 3-мя озерами

Туйрекуль, Ходжибаба и Шуркуль сходство видового состава находится в пределах от 46.6-51.6%, а между 3-мя озерами и оз. Эшанрабат сходство по Серенсену составляет от 9.5-17%.

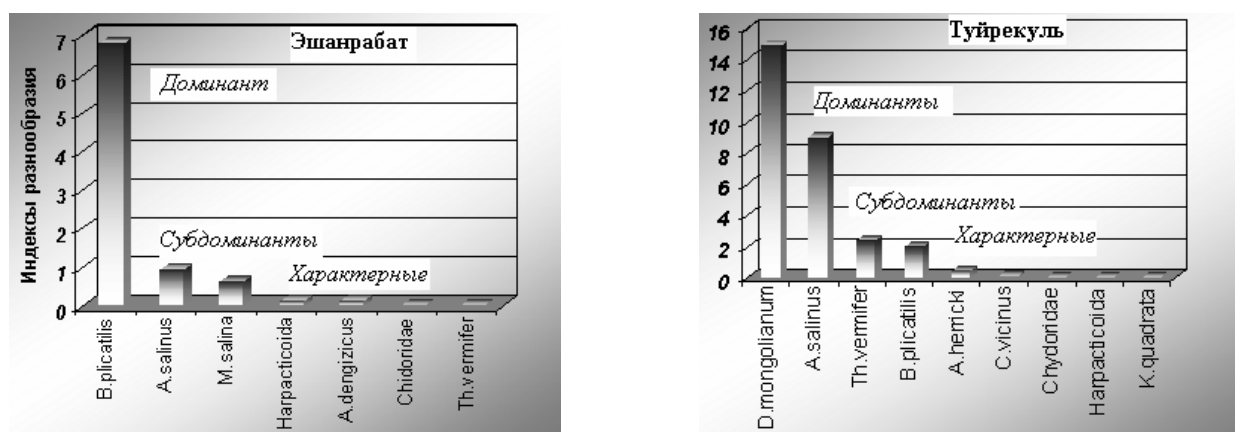


Рис. 1. Видовая структура пелагических зоопланктонных сообществ озёр Эшанрабат и Туйрекуль

Для оз. Туйрекуль были характерны аномальные повышения биомассы: в июне 2007 г. ее значения составили 2.64 г/м^3 ; 80% биомассы создавалось доминирующим видом *Diaphanosoma mongolianum*, 15% *Arctodiaptomus salinus*, 5% *Thermocyclops vermifer*. Показатели численности зоопланктона оз. Туйрекуль находились в границах от 0.2 до 371.6 тыс.экз/м³. В открытой части оз. Шуркуль и Ходжибаба доминировали циклопы: *Thermocyclops vermifer* (май-октябрь) и *Cyclops vicinus* (ноябрь-апрель) создавая от 55-95% биомассы. Численность в данных озерах составляла от 0.17 до 36.0 тыс.экз/м³, с максимумом величин в апреле 2008 г. В оз. Эшанрабат значения биомасс также как и в оз. Туйрекуль, колебались в широких границах. Максимальная за период наблюдения биомасса наблюдалась в апреле 2008 г. – 232 г/м^3 , тогда *Brachionus plicatilis* составил 98% всей биомассы зоопланктона. Из ветвистоусых рачков в Эшанрабате доминирует *Moina salina*, в июне 2008 г этот вид дал 20% всей биомассы, 70% *Arctodiaptomus salinus* 10% гарпактициды и *Apocyclops dengizicus*. Численность в озере находилась в границах от 0.022 до 442.6 тыс.экз/м³.

Таким образом, количественно зоопланктон озёр Хорезмской области развит, как правило, очень слабо. Аномальные колебания и низкие значения биомасс зоопланктона, аномальные значения соотношений между хищниками и фильтраторами свидетельствуют о неустойчивости планктоценозов озёр с минерализацией до 5 г/л, также как для оз. Эшанрабат с минерализацией до 12 г/л. Показатели биомассы были самыми высокими в Туйрекуле, что связано, по-видимому, с более высокими концентрациями биогенных элементов в озере в июне 2007 г. Максимум биомассы, наблюдался в озерах дважды в год: в мае-июне и в августе-сентябре. С октября по февраль показатели биомассы резко снижались во всех озерах. Попытка же оценить видовое разнообразие зоопланктона с помощью индекса Шеннона привела к неверному сравнению и вероятно значение индекса может быть правильно истолковано только для озера Туйрекуль.

Список литературы:

- Алекин О.А. Основы гидрохимии. Л., 1970
- Андреев Н.И., Андреева С.И. Соленостные барьеры и их роль в видообразовании и формировании фауны // Эволюция жизни на Земле: Матер. III Междунар. симп. — Томск: Изд-во ТГУ, 2005. С. 20-22.
- Музафаров М.О гидробиологических исследованиях оросителей Узбекистана, Тр. пр. и тем. совещ. Вып.1: Проблемы гидробиологии внутренних вод. Л.-М.: 1951, с. 79-84.
- Никитин А.М. Водные ресурсы и водный баланс озёр и водохранилищ Средней Азии. Тр СрАз РНИИ им. Бугаева М.: Гидрометеиздат, 1986, 231 с.
- Пидгайко М.Л. Зоопланктоценозы водоемов различных почвенно-климатических зон. Известия ГосНИИОРХ. т.135. Л.: 1978, с.3-110.
- Салазкин А.А., Иванова М.Б., Огородникова В.А. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция, 1984, с.33

ОТКЛИК ПРЕСНОВОДНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ НЕФТЕПРОДУКТОВ

В.П. Гусейнова¹, А.В. Курейшевич¹, Ю.В. Крылова², Е.А. Курашов²

¹Институт гидробиологии НАН Украины

Проспект Героев Сталинграда, 12, г. Киев, Украина, 04210, ztmc@ukr.net

²Кафедра экологической безопасности и устойчивого развития регионов
факультета географии и геоэкологии СПбГУ

С.-Петербург, В.О., 10-я линия, д.33/35, Россия, juliakrylova@mail.ru

В связи с усиливающимся загрязнением как морских, так и пресных вод нефтью и нефтепродуктами существенный интерес представляет исследование реакции микроводорослей на присутствие в воде этих токсикантов. Данные о воздействии нефти и нефтепродуктов на фитопланктон противоречивы, не систематизированы и касаются в основном морских водорослей. В естественных условиях отмечено различное действие нефти и нефтепродуктов на планктонные водоросли: стимулирующее, поражающее, либо отсутствие реакции последних на эти токсиканты (Миронов, 1985).

Целью настоящей работы было в экспериментальных условиях исследовать влияние бензина и дизтоплива на жизнедеятельность пресноводных планктонных водорослей и формирование альгосообществ.

Опыты проводили с фитопланктоном Каневского водохранилища р. Днепр (залив Оболонь) в весенний и летне-осенний сезоны. Пробы экспонировали в трехлитровых стеклянных аквариумах при естественном освещении в тени (освещенность не выше 15 тыс. лк). В качестве добавок нефтепродуктов использовали бензин А-92 и дизтопливо летнее. Токсиканты вносили в аквариумы с пробами фитопланктона в концентрациях, кратных 1, 10 и 20 ПДК (ПДК рыбохозяйственного значения = 0.05 мг/дм³). Для количественного учёта пробы фитопланктона фиксировали 40%-ным формальдегидом. Численность водорослей определяли прямым счётом с помощью микроскопа МБИ-3У42 в камере Нажотта. Биомассу фитопланктона оценивали расчётным объёмным методом (Топачевский, Масюк, 1984). В опытах с весенним фитопланктоном альгологический анализ проб проводили на 3-и и 8-е сутки, с летне-осенним – на 3-и, 6-е и 10-е сутки. Различия в составе веществ использовавшихся в экспериментах марок дизельного топлива выявляли при помощи анализов на хромато-масс-спектрометре TRACE DSQ II с квадрупольным масс-анализатором. Масс-спектры снимались в режиме сканирования по полному диапазону масс ((30-580 m/z) с последующей пошаговой обработкой хроматограмм с интервалом в 10 единиц масс. Идентификацию обнаруженных веществ проводили с использованием базы масс-спектров «NIST-2005».

Весенний фитопланктон. В весеннем фитопланктоне по численности и биомассе доминировали диатомовые водоросли. Полученные данные свидетельствуют, что его реакция на присутствие бензина и дизтоплива в среде существенно отличалась.

Наивысшее значение биомассы водорослей на 3-и сутки наблюдалось в контроле. В остальных вариантах опыта с добавками бензина этот показатель находился приблизительно на одном уровне и был ниже контрольного. Ситуация изменилась на 8-е сутки опыта – в варианте 1 ПДК произошло резкое увеличение биомассы и численности, свидетельствующее об активном делении водорослей. Такой всплеск этих показателей произошел из-за массового развития диатомовых и зеленых водорослей. Варианты с добавками бензина из расчета 10 и 20 ПДК мало отличались друг от друга. Количественные показатели водорослей в них были ниже контрольных значений и оставались приблизительно на том же уровне, что и на 3-и сутки.

В вариантах опыта с добавками дизтоплива на 3-и сутки биомасса водорослей в контроле и вариантах 1 и 10 ПДК возросла по сравнению с исходной пробой в 2 раза. Это произошло вследствие увеличения количества Bacillariophyta, в частности *Stephanodiscus hantzschii* Grun. in Cl. et Grun., доминировавшего, как по численности, так и по биомассе в исходной пробе и в других вариантах к моменту первой съемки. В варианте с добавкой из расчета 10 ПДК показатель биомассы был ниже, чем в контроле в 2 раза. К 6-м суткам эксперимента наименьшее значение биомассы оказалось в контроле. В вариантах с добавками дизтоплива из расчета 10 и 20 ПДК этот показатель был выше, чем в контроле почти в 4 раза, а в варианте 1 ПДК – в 1.8 раза. Такое резкое увеличение биомассы, очевидно, связано с интенсивным развитием и увеличением размеров диатомовой водоросли *Melosira varians* Ag., а также массовым развитием таких представителей зеленых водорослей, как *Acutodesmus acuminatus* (Lagerh.) Tsar., *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew., *Desmodesmus caudato-aculeolatus* (Chod.) Tsar. var. *spinatus* (Deduss.) Tsar. и *Monoraphidium irregulare* (G. Sm.) Kom.-Legn. in Fott.

Синезеленые водоросли. Известно, что массовое развитие Cyanophyta приходится в основном на летние месяцы. Неудивительно, что синезеленых водорослей в составе весеннего фитопланктона содержалось очень мало. В исходной пробе их численность составила 14 %, а биомасса только 1 % от общих значений. На 3-и сутки эксперимента эти показатели в контроле и в вариантах с добавками дизтоплива уменьшились, а в вариантах с добавками бензина представители Cyanophyta вообще отсутствовали. На 6-е сутки эксперимента нами было отмечено отсутствие синезеленых водорослей во всех вариантах опыта.

Диатомовые водоросли. В весенний сезон основным доминантом и по численности и по биомассе выступил *Stephanodiscus hantzschii*, причем были четко отмечены три размерные формы этой водоросли. Среди других представителей диатомовых водорослей присутствовали в значительном количестве: *Asterionella formosa* Hass., *Diatoma tenue* Ag., *Synedra acus* Kütz., а также некоторые представители родов *Achnanthes*, *Navicula*, *Nitzschia*. Гораздо реже встречались представители родов *Aulacoseira* и *Melosira*, очевидно, это связано с тем, что в это время года они присутствуют в составе альгосообществ в незначительном количестве.

Самые высокие значения биомассы диатомовых водорослей наблюдались на 3-и сутки в вариантах с добавками дизтоплива из расчета 1 и 10 ПДК. Единственным доминантом в этих вариантах и по численности, и по биомассе продолжала оставаться водоросль *Stephanodiscus hantzschii*. На 6-е сутки в вариантах с добавками бензина из расчета 1 ПДК и дизтоплива 10 ПДК и 20 ПДК отмечались самые высокие значения биомассы, причем доминировала в них *Melosira varians*, несмотря на то, что в начале эксперимента эта водоросль присутствовала в пробах в единичных количествах.

Зеленые водоросли. На 3-и сутки эксперимента показатель биомассы зеленых водорослей был довольно высоким во всех вариантах эксперимента, за исключением вариантов с добавками бензина из расчета 10 ПДК и 20 ПДК. К 6-м суткам этот показатель немного вырос во всех аквариумах, а варианте с бензином из расчета 1 ПДК достиг наивысшего значения за весь эксперимент. Поражает доля представителей Chlorophyta в общей биомассе – 46 %. Доминировали виды хлорококковых водорослей с довольно мелкими размерами. Для того чтобы достичь такого высокого значения биомассы их количество должно быть очень большим (доля Chlorophyta в общей численности составила почти 90%). Основными доминантами по численности и биомассе среди зеленых водорослей были *Acutodesmus acuminatus*, *Desmodesmus communis* и *Monoraphidium irregulare*.

Летне-осенний фитопланктон. В этот сезон в пробах по численности и биомассе доминировали синезеленые водоросли. Реакция летне-осеннего фитопланктона, как и весеннего, на добавки бензина отличалась от таковой при внесении добавок дизтоплива.

В варианте опыта с добавкой бензина из расчета 1 ПДК на 3-и сутки наблюдалось максимальное значение биомассы за время всего эксперимента. Оно было выше, чем в контроле в 2.6 раза. Это было связано с массовым развитием диатомовых водорослей *Aulacoseira* sp. (ее вклад в общую биомассу составил 36%), *Nitzschia pusilla* Grun. (17%) и *Melosira varians* (12%). Из представителей Cyanophyta большую часть биомассы формировал основной возбудитель «цветения» воды *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. – 29.5%. Однако, по сравнению с контролем его доля в общей биомассе уменьшилась в 1.6 раза. На 6-е сутки эксперимента биомасса была все еще выше, чем в контроле (в 1.2 раза), а на 10-е – ее значение резко уменьшилось по сравнению с контролем (в 2.5 раза). Процентное соотношение по биомассе представителей Cyanophyta и Bacillariophyta оставалось приблизительно на том же уровне, хотя в целом наблюдалось уменьшение общего количества водорослей.

При добавке бензина из расчета 10 ПДК на 3-и сутки отмечено снижение биомассы водорослей (в 1.4 раза) по сравнению с контролем. К 6-м суткам эксперимента ее значение уменьшалось, отличаясь от контроля уже в 3.2 раза, и оставалось приблизительно на этом же уровне и на 10-е сутки. Количественные показатели водорослей в варианте с добавкой бензина из расчета 20 ПДК мало отличались от таковых в варианте 10 ПДК.

В аквариуме с добавкой дизтоплива из расчета 1 ПДК на 3-и сутки эксперимента наблюдалось снижение биомассы водорослей в 1.4 раза по сравнению с контролем. Интересен тот факт, что на 6-е сутки значение биомассы в этом варианте выросло и даже стало выше, чем в контроле (в 1.3 раза). Возможно, это связано с тем, что сначала дизтопливо блокирует какие-то метаболические процессы у водорослей, то есть является по сути токсикантом, а затем очевидно нефтеокисляющие бактерии переводят сложные углеводороды дизтоплива в менее токсичные и доступные для усвоения клетками водорослей. Однако к концу эксперимента (на 10-е сутки) биомасса водорослей в контроле продолжала увеличиваться, тогда как в варианте с добавкой дизтоплива из расчета 1 ПДК ее значения все же отставали от контрольных (в 2 раза).

При добавке дизтоплива из расчета 10 ПДК на 3-и сутки наблюдалось наименьшее за весь эксперимент значение биомассы водорослей. Важно отметить, что существенно уменьшался этот показатель у синезеленых водорослей – с 47.5% от общей биомассы в контроле до 20% в данном варианте опыта. Так, доля *Microcystis aeruginosa* в общей биомассе снизилась с 34% до 5%. Интересно отметить, что другой представитель Cyanophyta – *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Br  b. – был менее чувствителен к дизтопливу. Его биомасса увеличилась с 1% в контроле до 15% в данном варианте опыта.

На 6-е сутки биомасса водорослей во всех вариантах эксперимента увеличилась. При добавке дизтоплива из расчета 10 ПДК ее значение сравнивалось с контролем, однако к 10-м суткам оно вновь существенно отставало от показателей в контроле. В варианте 20 ПДК на 3-и сутки биомасса по сравнению с контролем снизилась в 2.7 раза. К 6-м суткам ее значение существенно возросло, но все же оставалось ниже, чем в контроле (в 1.4 раза). На 10-е сутки биомасса водорослей оставалась приблизительно на этом же уровне, однако примерно в 2 раза ниже, чем в контроле.

Синезеленые водоросли. Практически во всех вариантах опыта присутствовали *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wesenbergii* Kom. in Kondrat., *Anabaena flos-aquae*, *Phormidium muticola* Hub.-Pest. et Naum., в некоторых – *Microcystis pulvereae* (Wood) Forti emend. Elenk., а также представители родов *Oscillatoria*, *Merismopedia*, *Gomphosphaeria* и *Gloeocapsa*.

Показатели биомассы Cyanophyta в исходной пробе были выше, чем в других вариантах опыта. Даже в контроле на 3-и сутки их биомасса снизилась в 3 раза. Это, вероятно, объясняется тем, что синезеленые водоросли, и особенно *Microcystis aeruginosa*, очень чувствительны к смене условий существования.

На 3-и и 6-е сутки эксперимента в варианте с добавкой бензина из расчета 1 ПДК по сравнению с контролем биомасса Cyanophyta увеличилась в среднем на 40%. Это очевидно связано с тем, что данная концентрация не только не является губительной для синезеленых водорослей, но и приводит к некоторой стимуляции их развития. При добавке бензина из расчета 10 ПДК биомасса была выше, чем в контроле в 1.2 раза. Во всех остальных вариантах опыта показатель биомассы синезеленых водорослей был меньше, чем в контроле.

Важно отметить, что добавки всех исследуемых концентраций данного дизельного топлива влекли за собой угнетение Cyanophyta.

Диатомовые водоросли. Bacillariophyta в большинстве проб были представлены видами: *Aulacoseira granulata* (Ehr.) Sim., *Aulacoseira granulata* (Ehr.) Sim. f. *granulata*, *Aulacoseira* sp., *Melosira varians*, *Nitzschia pusilla* и др.

Одно из самых высоких значений биомассы диатомовых водорослей (15.5 мг/дм³) нами было отмечено на 6-е сутки при добавке дизтоплива из расчета 1 ПДК. Такая высокая биомасса была достигнута в данном случае не за счет увеличения количества клеток водорослей, а за счет увеличения их размеров. Так, размеры клеток водоросли *Melosira varians* увеличились в среднем на 30 %, *Aulacoseira granulata* – на 55%, *Aulacoseira* sp. – на 46 %. Следует также отметить, что в данном варианте по биомассе доминировала такая крупноклеточная водоросль, как *Melosira varians*, объем которой больше объема водоросли *Aulacoseira* sp., доминировавшей в контроле, в среднем в 5 раз. Однако факт увеличения размеров клеток диатомовых водорослей не означает, что усваиваемые углеводороды из нефтепродуктов положительно влияют на их жизнедеятельность. При благоприятных условиях эти водоросли размножаются путем простого деления, в результате чего каждой из двух дочерних клеток достается по одной створке, вторую (более мелкую – гипотеку) они достраивают. Таким образом, с каждым последующим делением клетки постепенно мельчают. В нашем же случае, судя по показателю численности, клетки просто увеличивались в размерах, часто даже разрушались, но не делились, очевидно, вследствие проникновения в них углеводородов нефтяного происхождения. Это свидетельствует о том, что нефтепродукты отрицательно влияют на нормальный рост и развитие клеток водорослей.

Зеленые водоросли. Из представителей Chlorophyta в большинстве проб присутствовали *Desmodesmus communis*, *Dictyosphaerium pulhellum* Wood, *Monoraphidium irregulare* и др.

Интересен факт увеличения биомассы водорослей на 10-е сутки эксперимента в варианте с добавкой бензина из расчета 20 ПДК не только за счет деления клеток водорослей, но и за счет увеличения количества видов в этом варианте до 39, что почти в 4 раза больше, чем в контроле. Основным доминантом по численности и биомассе в данной пробе была водоросль *Desmodesmus communis*. Остается только констатировать тот факт, что при самой большой концентрации бензина на 10-е сутки наблюдалось «буйство жизни». Очевидно, что за такой срок бактерии разложили нефтяные углеводороды, и условия стали благоприятными для деления зеленых водорослей и прорастания спор многих видов.

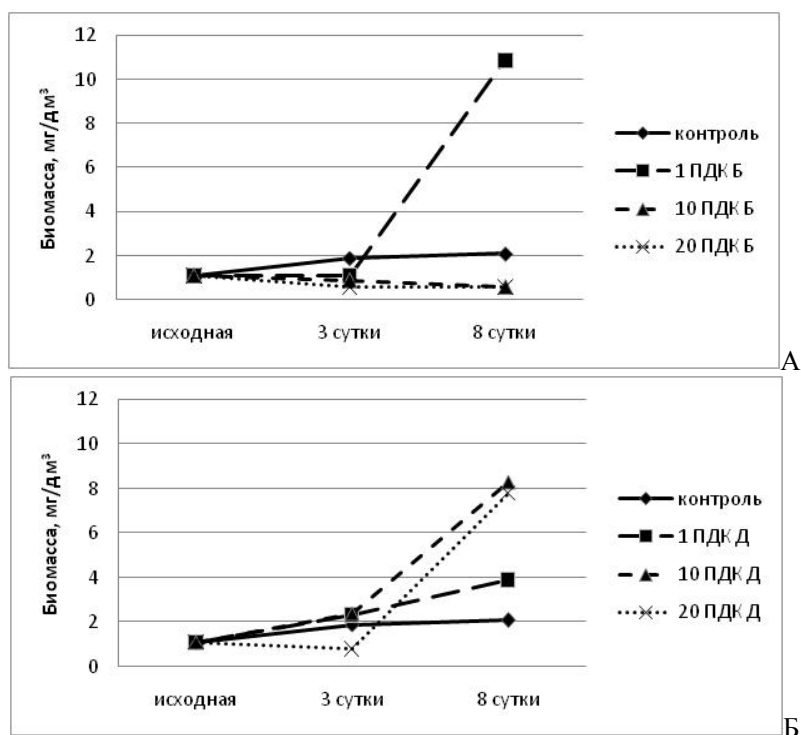


Рис. 1. Изменения биомассы водорослей при воздействии нефтепродуктов (А – бензин, Б – дизельное топливо) на пробы весеннего фитопланктона

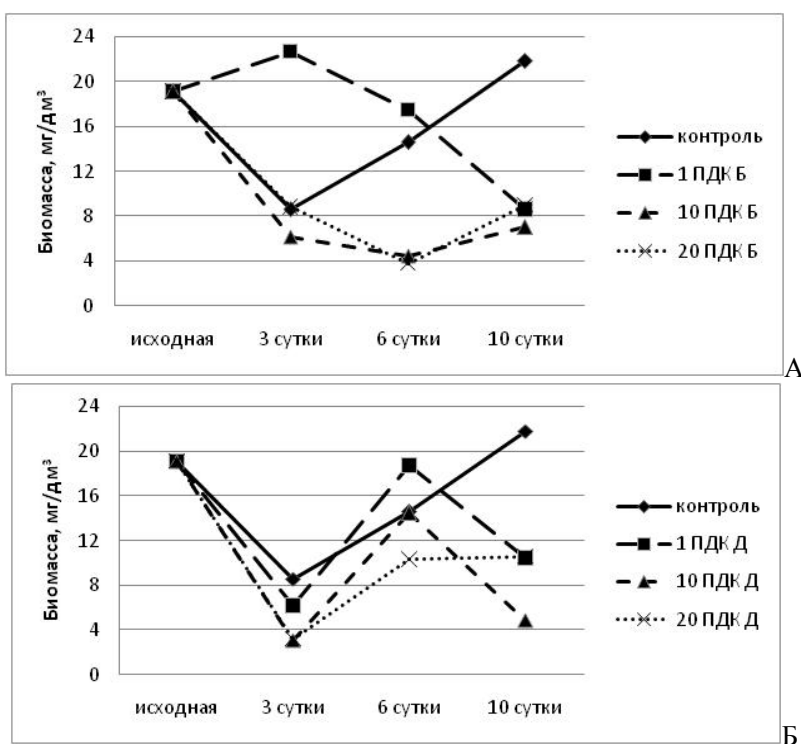


Рис. 2. Изменения биомассы водорослей при воздействии нефтепродуктов (А – бензин, Б – дизельное топливо) на пробы осеннее-летнего фитопланктона

Нельзя оставить без внимания факт наличия представителей разных отделов водорослей именно в этой пробе: Dinophyta, Xanthophyta, Cryptophyta, Euglenophyta.

Нас заинтересовал тот факт, что воздействие нефтепродуктов, в частности дизтоплива, примененного нами в первом эксперименте, отличалось от воздействия дизтоплива, которое было использовано нами во втором эксперименте. По результатам сравнительного хромато-масс-спектрометрического анализа двух видов дизтоплива было установлено, что в дизтопливе №2 содержится 7 веществ, которые отсутствуют в дизтопливе №1, и, которые (все или большинство) могут быть токсичными для водорослей. Одно из обнаруженных вещество содержит в своей

молекуле триазиновое основание. Известна серия триазиновых пестицидов, применяемых в качестве гербицидов и дефолиантов. Другое вещество относится к группе нафтохинонов, многие из которых обладают антибактериальными, фунгицидными и, возможно, альгицидными свойствами. Два других вещества также, вероятно, могут ингибировать развитие водорослей, поскольку нафталиновая и бензеновая часть их молекул обладают токсичными свойствами. Интересно выявленное вещество, близкое по спектру к психоактивному наркотику хармалину (harmalol), который также является плазматическим ядом и, возможно, может давать ингибирующий эффект на водоросли, поскольку в природе подобные вещества могут участвовать в аллелопатических взаимодействиях.

1. Внесение добавок бензина и дизтоплива, кратных 1 ПДК, не оказывает существенного угнетающего влияния на фитопланктон. В большинстве случаев наблюдалось стимулирование роста и развития диатомовых и зеленых водорослей.

2. Синезеленые водоросли оказались наиболее чувствительными к присутствию в среде нефтепродуктов. Внесение добавок бензина и дизтоплива, кратных 10 ПДК и 20 ПДК, оказывало на них губительное воздействие.

3. Нефтепродукты, реализуемые под одним и тем же названием (дизтопливо летнее), отличаются по токсичности воздействия на планктонные водоросли, что связано с их различным составом.

4. Нефтепродукты оказывают существенное влияние на состав альгосообществ. Выживают виды, пережившие первичное токсическое действие бензина и дизтоплива и, очевидно, способные использовать углеводороды нефтепродуктов в процессах жизнедеятельности. Эти виды занимают ниши, освободившиеся в результате гибели более чувствительных к данному виду загрязнения водорослей. Таким образом происходит смена состава альгосообщества.

Список литературы

Миронов О.Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами. – Л.: Гидрометеиздат, 1985. – 126 с.

Пресноводные водоросли Украинской ССР. – Киев: Вища школа, 1984. – 333 с.

БАКТЕРИОБЕНТОСНЫЕ СООБЩЕСТВА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ Г. ЧЕРЕПОВЦА

А.Н. Дзюбан

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742, п. Борок Ярославской обл., Россия, microb@ibiw.yaroslavl.ru*

Череповецкий комплекс, расположенный в северо-восточной части Рыбинского водохранилища на берегах р. Шексны и ее притоков, является одним из крупных промышленных центров на Верхней Волге. Его предприятия сбрасывают в воду большое количество промышленно-коммунальных сточных вод, богатых различными органическими и минеральными отходами. При попадании поллютантов в водоемы первым барьером на их пути становится бактериальная флора, особенно в донных отложениях, где происходит накопление этих отходов и их деструкция. При наличии легкоусваиваемых органических веществ бактериальные сообщества подвергают соокислению трудно минерализуемые соединения сточных вод, однако токсиканты значительно снижают интенсивность кометаболизма.

Общее количество бактерий оценивали на мембранных фильтрах под микроскопом Эргавал, а численность специфических групп бактерий – на питательных средах (Кузнецов, Дубинина, 1989). Гетеротрофов - в чашках Петри на агаризованной среде с 3% гидролизата белка (РПА), углеводородоксиляющих, маслянокислых и сульфатредуцирующих - в пробирках по предельному разведению проб, дающих положительный результат (Meynell, Meynell, 1965). Общую активность бактериального сообщества оценивали в опытах с добавкой радиоактивной метки ^{14}C -карбоната. Скорость образования и окисления метана определяли газохроматографическим методом (Кузнецов, Дубинина, 1989; Boon, Sorrel, 1991). Для определения продукции CH_4 были сконструированы герметичные пластиковые сосуды, позволяющие проводить эксперименты с ненарушенной иловой колонкой (Дзюбан, 1992)]. Концентрацию метана анализировали на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором (FID), в токе гелия с сорбентом "Porapak-N".

Исследования численности и функционирования различных групп бактериобентоса Рыбинского водохранилища вблизи г. Череповца выявили изменения микробных сообществ,

происходящие под влиянием промышленно-бытовых отходов (Романенко и др., 1990; Дзюбан и др., 2000). Многолетние поступления стоков привело к загрязнению донных отложений, которые превратились в источник вторичного загрязнения. В них накапливаются полихлорированные бифенилы ПХБ (до 10 мг/кг), полиароматические углеводороды ПАУ (до 220 мг/кг), нефтепродукты (в наиболее загрязненных местах образуют нефтяную пленку), металлы, фенолы, соединения азота, серы и другие вещества (Козловская и др., 1990; 1994). Вне этой зоны - к центру водохранилища - содержание нефтепродуктов снижается до 50 раз, металлов - 10-50 раз, ПАУ - 50-200 раз, а ПХБ – отсутствуют (табл. 1).

Таблица 1. Содержание в грунтах ПХБ, ПАУ, нефтепродуктов и ряда металлов, мг/кг

Параметры измерений	Участки водоема	
	Открытая зона водохранилища	Зона влияния г. Череповца
ПХБ	0	1.3 - 9.8
ПАУ	0.9 - 3.4	45 - 822
Нефтепродукты	0.3 - 1.4	16 - 65
Металлы: Cd	0.12 - 0.16	3.6 - 8.2
Cr	20 - 30	37 - 153
Pb	8 - 12	84 - 160
Zn	25 - 30	930 - 1830
Hg	0.05 - 0.10	0.15 - 0.26

Донные отложения водоемов формируются медленно, и в них накапливаются как поллютанты (за весь период антропогенного воздействия), так и продукты их микробиологической трансформации. В Рыбинском водохранилище грунты весьма гетерогенны. Они представлены деградированными почвами, песчанистыми и торфянистыми илами. В акватории Череповецкого промышленного центра - это часто черные пески и илы с резким запахом и нефтяной пленкой. По ряду физико-химических характеристик (рН, HCO_3^- , NO_2^-) грунты отдельных зон практически не различаются, но по другим – в грунтовом комплексе у г. Череповца отмечаются серьезные сдвиги природных свойств (табл. 2).

Таблица 2. Гидролого-гидрохимическая характеристика поверхностного слоя грунтов Рыбинского водохранилища

Параметры измерений	Участки водоема	
	Открытая зона водохранилища	Зона влияния г. Череповца
Тип грунтов	песчанистый ил - серый ил	грязный песок - черный ил
рН	7.0 - 7.4	7.2 - 7.6
Eh, mV	90 - 260	50 - 120
HCO_3^- , мгС/дм ³	15 - 40	23 - 264
SO_4^{2-} , мг S/ дм ³	0.2 - 6.2	23 - 960
$\text{C}_{\text{орг}}$, г/дм ³	0.1 - 2.2	2.2 - 14.7
CH_4 , мл/ дм ³	0.2 - 28	15 - 180

Структура бактериобентоса, в отличие от бактериопланктона, консервативна и ее значительные изменения отражают глубокое и хроническое воздействие на экосистему водоема или сообщества отдельных участков. Общие характеристики бактериального населения поверхностных слоев грунтов Рыбинского водохранилища, при сопоставлении открытой зоны и Череповецкой акватории, дают представления о неоднозначных изменениях в донных комплексах, подверженных токсическому воздействию промышленных и коммунальных сточных вод. Количественные показатели (общая численность и биомасса бактерий) варьируют в близких пределах. Функциональные – изменяются весьма резко. Причем часть из этих показателей значительно увеличивается, а другая, обусловленная состоянием окислительных систем, – уменьшается (табл. 3).

Однако общие показатели состояния бактериобентоса не позволяют четко и однозначно выявить ответную реакцию микробных сообществ на поступление и аккумуляцию промышленно-бытовых стоков. Оценка же численности и физиологической активности специфических групп бактерий, обладающих более тесной зависимостью от окислительно-восстановительных условий, потока конкретных субстратов и донаторов специфических ионов, дают возможность получить необходимый ответ.

Таблица 3. Общая характеристика бактериобентоса

Параметры измерений	Участки водоема	
	Открытая зона водохранилища	Зона влияния г. Череповца
Общая численность бактерий (N), 10^9 кл/см ³	<u>1.5 - 9.45</u> 3.71	<u>3.77 - 21.30</u> 5.45
Активнодышащие бактерии, 10^9 кл/см ³	<u>0.91 - 7.65</u> 1.75	<u>0.23 - 6.83</u> 1.05
Активнодышащие бактерии, % от N	<u>31 - 60</u> 49	<u>15 - 34</u> 21
Потребление O ₂ , мг/(м ² сут)	<u>120 - 310</u> 220	<u>10 - 300</u> 260
Темновая ассимиляция CO ₂ , мкг C/(дм ³ сут)	<u>260 - 2150</u> 540	<u>10 - 3880</u> 1820

Примечание: над чертой - размах колебаний, под чертой – среднее значение

Численность аэробных гетеротрофов, потребителей легкоминерализуемых органических веществ белковой природы, возрастает на участках, принимающих в основном бытовые стоки, более чем в 100 раз. Здесь же отмечается резкое увеличение углеводородокисляющей микрофлоры. В зоне воздействия г. Череповца значительно возрастает также численность анаэробов: маслянокислых бродильщиков, метаногенов, а в некоторых точках, где особенно заметно поступление технических отходов – сульфатредуцирующих бактерий (табл. 4). Подобные изменения свидетельствуют о бесспорных сдвигах в структуре микробных сообществ поверхностных аэрируемых слоев грунтов, проявляющихся в преобладании анаэробных групп микроорганизмов.

Таблица 4. Численность в грунтах бактерий ряда физиологических групп

Физиологические группы, 10^3 кл/см ³	Участки водоемов	
	Открытая зона водохранилища	Зона влияния г. Череповца
Гетеротрофные на РПА	<u>10 - 200</u> 100	<u>100 - 40000</u> 9400
Углеводород-окисляющие	<u>0.1 - 60</u> 1.7	<u>100 - 10000</u> 700
Маслянокислые бродильщики	<u>1 - 100</u> 10	<u>10 - 10000</u> 1000
Сульфатредуцирующие	<u>0.1 - 6</u> 0.6	<u>25 - 2500</u> 80

Примечание: над чертой - размах колебаний, под чертой – среднее значение

Еще более явно обнаруживается перестройка в бактериальных комплексах при анализе и сопоставлении протекающих в грунтах процессов. Если в открытой зоне водохранилища потоки метанобразования и метаноокисления сбалансированы и не превышают 1 мл СН₄/дм³ грунта за сутки, то у г. Череповца превалируют анаэробные процессы метаногенеза, а его окисление в ряде участков явно подавлено. То есть отмечается перестройка микробных сообществ из преимущественно аэробных в преимущественно анаэробные (табл. 5).

Таблица 5. Интенсивность некоторых микробиологических процессов в поверхностных слоях грунтов

Процессы, мл СН ₄ /(дм ³ сут)	Участки водоема	
	Открытая зона водохранилища	Зона влияния г. Череповца
Продукция метана	<u>0.6 - 1.45</u> 0.3	<u>0.7 - 60</u> 16.5
Окисление метана	<u>0.1 - 1.23</u> 0.2	<u>0 - 6.3</u> 1.2

Примечание: над чертой - размах колебаний, под чертой – среднее значение

Значительный рост на берегах Верхней Волги городов и промышленных центров приводит к постоянному поступлению в воду рек и водохранилищ все большего количества промышленно-коммунальных сточных вод. Из-за недостаточной очистки они содержат не только

легкогидролизуемые органические соединения, которые разрушаются микрофлорой, но также много других веществ, в том числе и токсических. В результате в последние годы на Верхней Волге местами сложилась предкризисная ситуация (Копылов и др., 1994), требовавшая неотложных и детальных экологических исследований, в том числе микробиологических.

Одним из подобных локальных участков является Череповецкая зона Рыбинского водохранилища (Романенко и др., 1990), где под воздействием многолетних поступлений разнообразных отходов города и металлургического комбината произошли серьезные изменения естественных природных условий. Последнее отразилось на структуре и функционировании бактериального населения грунтов, которое выполняет важную роль во внутриводоемных процессах самоочищения.

В грунтах, подвергающихся воздействию техногенных стоков формируются специфические микробные комплексы, в которых анаэробные процессы преобладают над аэробными. Зарегистрировано, что по сравнению с фоновыми характеристиками численность маслянокислых бактерий (первичных бродильщиков), относящихся к роду *Clostridium*, в загрязненных отложениях возрасла на 1-2 порядка, составляя до 10 млн.кл/мл; интенсивность образования метана увеличилась в 15 раз, достигая 60-120 мл CH_4 /(л сут); численность бактерий восстанавливающих сульфаты и интенсивность процесса сульфатредукции (в зонах поступления сульфатных сточных вод) возросли на 1-3 порядка, составляя 2.5 млн. кл/мл и 4 мг S /(л сут), соответственно. В результате техногенного воздействия в грунтах происходит изменение анаэробного бентосного сообщества из метаногенного в преимущественно сульфидогенное (Дзюбан, Косолапов, Кузнецова, 2003).

Таким образом, в районах, испытывающих хроническое загрязнение промышленно-бытовыми сточными водами, несмотря на постоянную физическую аэрацию придонных слоев воды, в донных отложениях происходит разрушение естественных аэробных микробных сообществ и образование анаэробных. Последние интенсивно разлагают поступающее аллохтонное органическое вещество с образованием различных восстановленных соединений – конечных и промежуточных продуктов анаэробного микробиологического распада – метана, сероводорода, меркаптана, аммиака и других токсичных для большинства гидробионтов веществ с выносом их в водную толщу.

В целом бактериальное звено донных отложений Рыбинского водохранилища в акватории г. Череповца под воздействием массированных и разнообразных поллютантов теряет одну из своих важнейших функций – деструкция поступающих в водоем органических и минеральных веществ, а грунты превращаются в мощный источник вторичного загрязнения.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, грант № 08-05-00079.

Список литературы

- Дзюбан А.Н. Влияние реки Трубеж на микробиологические процессы в озере Плещеево // Факторы и процессы эвтрофикации озера Плещеево. Ярославль, 1992. С. 144-161.
- Дзюбан А.Н., Косолапов Д.Б., Копылов А.И., Крылов И.Н. Рыбинское водохранилище в зоне влияния г. Череповца // Современная экологическая ситуация в Рыбинском и Горьковском водохранилищах: состояние биологических сообществ и перспективы рыбозаповедения. Ярославль: ЯрГТУ, 2000. С. 161-168.
- Дзюбан А.Н., Косолапов Д.Б., Кузнецова И.А. Бактериобентосные сообщества Рыбинского водохранилища в зоне влияния г. Череповца // Микроорганизмы в экосистемах озер, рек, водохранилищ. Иркутск, 2003. С. 45-47.
- Козловская В.И., Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М., Халько В.В., Винников Я., Анохин С.В. Влияние загрязняющих веществ на состояние рыбы в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища // Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск, 1990. С. 123-143.
- Копылов А.И., Лукьяненко В.И., Литвинов А.С., Ривьер И.К., Флеров Б.А. Современное экологическое состояние Верхней Волги // Современное экологическое состояние Верхней Волги. Ярославль, 1994. С. 3-6.
- Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М., 1989. 286 с.
- Романенко В.И., Захарова Л.И., Романенко В.А., Гаврилова В.В., Соколова Е.А. Оценка качества воды по микробиологическим показателям в Рыбинском водохранилище//Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск, 1990. С. 24-41.
- Boon P.I., Sorrel B.K. Biogeochemistry of billabong sediments. 1. The effect of macrophytes //Freshwat. Biol., 1991. V.26, N 2, P. 209-226.
- Meynell G.G., Meynell E. Theory and practice in experimental bacteriology. Cambridg. At the University Press, 1965. 300 p.

ВЛИЯНИЕ «ЦВЕТЕНИЯ» СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА ЭКОЛОГИЧЕСКУЮ СИТУАЦИЮ В КУРШСКОМ ЗАЛИВЕ

О.А. Дмитриева, А.С. Семенова, Н.Н. Чукалова

Атлантический научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
(АтлантНИРО)

236022, г. Калининград, ул. Дм. Донского, д. 5, Россия
phytob@yandex.ru, a.s.semenowa@rambler.ru, chuk_nn@rambler.ru

Куршский залив, расположенный в юго-восточной части Балтийского моря представляет собой мелководный, малопроточный, хорошо прогреваемый водоем с высоким содержанием биогенных элементов в воде и илистых грунтах, отсутствием летней стратификации. Ежегодно в заливе отмечаются «цветения» потенциально-токсичных синезеленых водорослей *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralf, *Microcystis aeruginosa* Kutz. emend. Elenk. В годы, когда отмечается наиболее сильный прогрев воды в заливе в летне-осенний период, биомасса фитопланктона в среднем по заливу может достигать 80-640 г/м³, что приводит к биологическому загрязнению водоема, особенно в прибрежной зоне. Высокие суммарные значения показателей фитопланктона в заливе являются следствием процесса эвтрофирования. Эти процессы особенно сильно выражены в южной части Куршского залива, характеризующейся замедленным водообменом (около 1 год⁻¹). Куршский залив является важнейшим рыбохозяйственным водоемом. С целью рассмотреть возможные влияния «цветения» потенциально токсичных синезеленых водорослей на экологическую ситуацию в заливе, была проведена комплексная оценка гидробиологических показателей этого водоема.

Регулярный мониторинг гидробиологических показателей Куршского залива проводился с 2002 по 2007 г. ежемесячно с марта по ноябрь. На 6-ти стандартных станциях открытой части залива и стандартной мониторинговой станции прибрежной зоны были исследованы характеристики фито- и зоопланктона, аномалии и показатели смертности зоопланктона, проведен морфопатологический анализ основного промыслового вида ихтиофауны Куршского залива – леща (*Abramis brama* L.). Количественная обработка 130 проб осадочного планктона Куршского залива проводилась по общепринятой методике (Методика изучения, 1975). Все виды фитопланктона на основании литературных данных были разделены на потенциально токсичные и нетоксичные (Перечень, 2004). Оценка вклада биомассы потенциально токсичных видов фитопланктона в суммарную биомассу фитопланктона, в период их максимального развития в заливе, рассчитывалась по данным за июль – сентябрь 2002-06 гг. Фиксация проб зоопланктона производилась 4% формалином с сахарозой (Haney, Hall, 1973). Для определения живой и мертвой фракции пробы зоопланктона окрашивались 2 различными методами с использованием нейтрального красного и анилинового голубого красителей (Dubovskaya et al., 2003; Crippen, Perrier, 1974). Камеральная обработка 710 проб зоопланктона осуществлялась стандартными методами (Методика изучения, 1975). Морфопатологические исследования леща проводили в 2005-2007 гг. по стандартной методике (Решетников и др., 1998). Всего изучено 1066 экз. рыб, размерами 15,0- 60,0 см.

В 2002-06 гг. в составе фитопланктоценоза Куршского залива было отмечено 469 видов фитопланктона из 8 систематических отделов из них 25 потенциально токсичных: синезеленых - 15, динофитовых – 3, зеленых - 7. Потенциально токсичные синезеленые водоросли развиваются в массовых количествах в фитопланктоне Куршского залива в летне-осенний период. В весеннем планктоне доминируют диатомеи – индикаторы эвтрофных вод (таблица 1). Для сезонной динамики биомассы фитопланктона характерно два максимума: весенний, обусловленный развитием диатомовых водорослей, и обширный летний, обусловленный развитием синезеленых и диатомовых водорослей.

Таблица 1. Состав доминирующего комплекса фитопланктона Куршского залива в 2002–04 гг.

Весна	Лето	Осень
<i>Aulacosira islandica</i> (O. Mull) Sim., виды рода <i>Stephanodiscus</i> (<i>S. agassizensis</i> (Hakansson et Kling), <i>S. minutulus</i> (Kutz. Cleve et Moller), <i>S. hantzschii</i> (Grun.), <i>Actinocyclus normanii</i> (Greg.) Hust.	<i>Microcystis aeruginosa</i> * Kutz. emend. Elenk, <i>M. wesenbergii</i> * (Komarek), <i>Woronichinia compacta</i> * (Lemm.) Komarek et Hindak, <i>Planctotrix agardhii</i> * (Gom), <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> * (L.) Ralf.	<i>Planctotrix agardhi</i> * (Gom), <i>Woronichinia compacta</i> * (Lemm.) Komarek et Hindak, <i>Microcystis aeruginosa</i> * Kutz. emend. Elenk, <i>M. wesenbergii</i> * (Komarek), <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> * (L.) Ralf.

* - потенциально токсичный вид фитопланктона.

Полученные величины средней за сезон биомассы фитопланктона за 2002 – 06 гг. (33 - 70 г/м³) значительно выше, чем нижняя граница (20 г/м³), характерная для гиперэвтрофных водоемов (Трифенова, 1990) (Рис. 1).

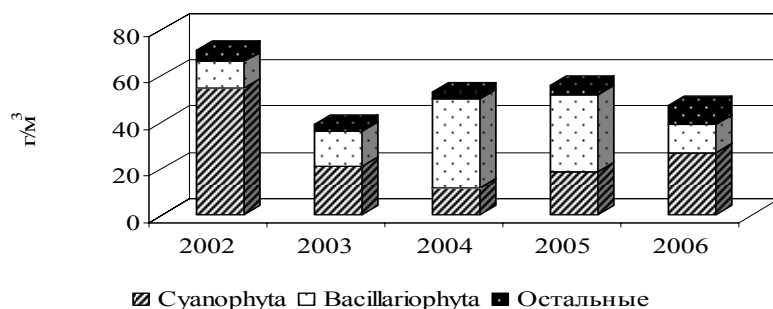


Рис. 1. Межгодовая динамика средней за вегетационный сезон биомассы основных систематических отделов фитопланктона Куршского залива.

Динамика развития потенциально токсичной флоры в 2002–06 гг. в Куршском заливе имела свои особенности. Наибольший вклад потенциально токсичных видов в суммарную биомассу фитопланктона был отмечен в 2002 г.: в июле - сентябре он составил 80–89 %, за счет массового развития потенциально-токсичных *Microcystis aeruginosa* (5-300 г/м³) и *Aphanizomenon flos-aquae* (53–1 058 г/м³) (Рис. 1). Вклад биомассы потенциально токсичных видов в суммарную биомассу фитопланктона июле-сентябре 2003 г. составил 40-71 % и был максимальным в августе, за счет развития *Microcystis aeruginosa* (9–63 г/м³). Вклад биомассы потенциально токсичных водорослей в суммарную биомассу фитопланктона в июле-сентябре 2004 г. был достаточно равномерным и наименьшим за период исследования - 22-24 %, в 2005 г. этот показатель составлял не более 23-41 %. В составе сообществ фитопланктона в 2004-05 гг. доминировала крупноклеточная диатомея *Actinocyclus normanii*. Однако в июле-сентябре 2006 г. вклад биомассы потенциально токсичных водорослей в суммарную биомассу фитопланктона как в 2002 г. был достаточно высоким, составляя 67-82 %. В составе фитопланктона доминировали *Aphanizomenon flos-aquae* (3–54 г/м³) и виды рода *Microcystis* (9-95 г/м³). Таким образом, наибольший вклад биомассы потенциально-токсичных видов в суммарную биомассу фитопланктона (67-89 %) отмечался в 2002 и 2006 гг., в этот период были отмечены «гиперцветения» синезеленых водорослей (биомасса фитопланктона составляла более 100 г/м³).

Зоопланктон Куршского залива в период исследования был представлен более чем 50 видами и подвидами, относящимся к трем систематическим группам: Rotatoria, Cladocera и Copepoda. В сезонной динамике зоопланктонного сообщества наблюдалось два пика численности: первый – в мае, был связан с массовым развитием коловраток *Keratella quadrata* (Müll.) и *K. cochlearis* (Gosse), второй – в июле определялся массовым развитием *Chydorus sphaericus* (O.F.Müller). По биомассе в период исследований доминировала *Daphnia galeata* G.O. Sars., пик биомассы, которой отмечался в мае-июне. В период исследования у зоопланктеров Куршского залива были выявлены аномалии, визуально зафиксированные в процессе обработки проб: бледная окраска особей, раскрытые створки у Cladocera (0,1-90 %), опухлеобразные наросты у Crustacea (0,5-30 %), распавшиеся колонии у представителей р. Conochilus (0,2-70 %). Наибольшая встречаемость аномалий (до 90%) на отдельных станциях была выявлена в июле-августе 2002 г. и 2006 г., когда наблюдалось «гиперцветение» вод залива потенциально токсичными синезелеными водорослями. В этот же период отмечалось большое число эффиопальных самок, свободных эффиопиев и абортированной молодежи Cladocera. В начале июня 2007 г. в прибрежной зоне Куршского залива наблюдалось локальное повышение смертности зоопланктона, при этом доля мертвых особей зоопланктона от численности и биомассы составляла – 36 и 46 % соответственно и превышала фоновые значения в 5-8 раз (рис. 2А). В период, когда доля биомассы потенциально токсичных синезеленых водорослей *Planctotrix agardchii*, *Woronichinia compacta*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis viridis*, *Microcystis wesenbergii*, *Anabaena lemmermanii* в суммарной биомассе фитопланктона была наибольшей (59 %), смертность организмов зоопланктона была самой высокой за период исследования (рис. 2Б).

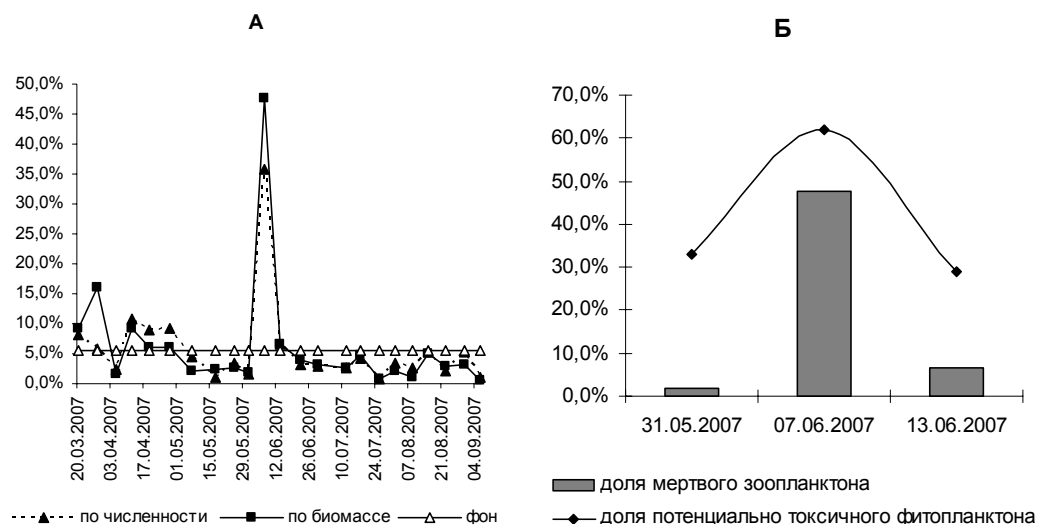


Рис. 2. Смертность зоопланктона с марта по сентябрь 2007 г. в прибрежной зоне Куршского залива: А - сезонная динамика доли численности и биомассы мертвых зоопланктеров от численности и биомассы живых; Б - изменения относительного содержания мертвого зоопланктона и относительной биомассы потенциально токсичного фитопланктона.

В летний период 2005 - 2007 гг. у 43,8 % взрослых особей леща были обнаружены морфопатологические изменения. На коже у 22 % особей отмечены геморрагии, ослизнения и ерошение чешуи. На жаберных дугах леща найдено большое количество клеток синезеленых водорослей, вследствие чего у 70 % особей отмечены изменение цвета, повышенное кровенаполнение органа. Гистологические исследования жаберной ткани показали отек и потерю респираторного эпителия. У 79 % рыб печень была увеличена, мозаичная, с кровоизлияниями. Гистологические исследования показали различную степень дистрофических изменений в гепатоцитах, участки дискомплексации печеночных балок, точечные геморрагии и в ряде случаев образование ложных долек. Патологические процессы в почках рыб, выражавшиеся в изменении цвета и нарушении структуры органа, найдены у 58 % особей. Гистологические исследования показали признаки дистрофии эпителия канальцев, разрастание соединительной ткани среди гемопоэтической паренхимы, гиперплазию и дистрофию эпителия извитых канальцев. У 36,4 % особей леща отмечали несколько типов повреждений одновременно. При этом 22,4% особей имели два, 8,3 %- три, 4,9 %- четыре, а 0,8 % - пять типов патологических изменений. Наибольшее количество больных рыб отмечено в летний период 2006 г. (79%), наименьшее - в 2007 г. (13,9%).

Морфометрические особенности Куршского залива, комплекс гидрологических и гидрохимических условий, вызывает ежегодное массовое развитие потенциально токсичных видов синезеленых водорослей. Интенсивность и продолжительность «цветения» синезеленых водорослей зависит от сочетания ряда гидрометеорологических факторов, и в большей степени обусловлена летним прогревом воды (Александров и др., 2006). Ранее отмечалось, что в теплые годы количественные показатели развития планктона определялись преимущественно вегетацией синезеленых, в холодные годы - диатомовых водорослей (Семенова, Смыслов, 2005). Средняя температура воды за лето в 2002 г. была – 19,8 °С, 2003 г. – 19,3 °С, 2004 г. – 18,7 °С, в 2005 г. – 18,3 °С в 2006 – 19,8 °С г. Таким образом, наибольший вклад в суммарную биомассу потенциально токсичных синезеленых водорослей (67-89 %) отмечался в 2002 и 2006 гг, когда средняя температура воды за лето превышала 19 °С. В те же годы 2002 и 2006 гг. биомасса потенциально токсичных видов синезеленых водорослей достигала 120 - 1069 г/м³, т.е. была выше уровня, при котором наступает биологическое загрязнение водоема, что сопровождалось ухудшением гидрохимических характеристик воды. Так в Куршском заливе в период «гиперцветения» в воде наблюдалось увеличение концентрации общего до 7 раз в 2002 г. и аммонийного азота до 800-1000 мкг/л, БПК₅ до 10-19 мг/л, рН до 9,8-10,0 что превышало ПДК для рыбохозяйственных водоемов и могло негативно сказываться на состоянии зоопланктона и рыб (Александров и др., 2006). На современном этапе исследований установлено, что отдельные штаммы *Aphanizomenon flos-aquae* синтезируют афанотоксины (нейротоксины), *Microcystis aeruginosa* – микроцистины (гепатотоксины). Известно, что эндотоксины попадают в воду при разрушении клеток, а концентрация альготоксинов в воде прямо пропорциональна количеству особей токсичной флоры (Jacoby et al., 2000). Аномалии зоопланктона в Куршском заливе в годы «гиперцветений» (2002 и 2006 гг.), когда биомасса синезеленых водорослей достигала 100 -1200 г/м³, были выражены наиболее сильно. Различные аномалии имели до 90% особей в пробах, что, возможно,

обусловлено как неблагоприятным гидрохимическим режимом, так и воздействием альготоксинов. Аналогичные изменения сообщества зоопланктона были выявлены И.Н. Андронниковой для зон экологического риска Ладожского озера (Андроникова, Распопов, 2007). Опыты по питанию *Daphnia galeata* синезелеными водорослями позволили сделать вывод о том, что дафнии потенциально способны не только отфильтровывать водоросли *Aphanizomenon flos-aquae* в процессе питания, но и ассимилировать их биомассу во вторичную продукцию. Ассимиляция дафниями биомассы синезеленых водорослей составила 0,18 кал/(мг•сут.). (Семенова, Александров, 2007). Очевидно зоопланктеры в Куршском заливе, подвергаются воздействию токсинов синезеленых водорослей извне, а также накапливают их в процессе питания и могут передавать токсины далее по трофической цепи вплоть до рыб. Способность аккумулировать альготоксины была показана как для организмов зоопланктона, так и для зообентоса и рыб (Magalhaes et al., 2003). Возможно, это объясняет наличие морфопатологических изменений не только на коже, но и в паренхиматозных органах леща. Обнаруженные морфопатологические и гистопатологические изменения в коже, жабрах, печени и почках леща схожи с симптомами поражения рыб альготоксинами, и, возможно, служат результатом хронического воздействия токсинов синезеленых водорослей на организм рыб и это, по-видимому, сопровождается гибелью ослабленных особей. Наибольшее количество больных рыб отмечено в летний период 2006 г. (79%), когда отмечалось «гиперцветение» потенциально токсичных синезеленых водорослей. Минимальное - в 2007 г. (13,9%), в этот год «гиперцветение» отмечено не было.

Отмечаемые аномалии в зоопланктоне и патологии рыб носят временный сезонный характер и свидетельствуют о неблагоприятной экологической ситуации в период «гиперцветения» водорослей и, очевидно, связаны с воздействием токсинов синезеленых водорослей на гидробионтов. Продолжающиеся процессы эвтрофирования водоема и учащение случаев его «гиперцветения» в последнее десятилетие могут привести к ухудшению гидрохимических показателей в период массового развития синезеленых водорослей, увеличению смертности и аномалий у зоопланктона, локальных заморов молоди рыб, в мелководной прибрежной зоне, увеличению заболеваемости старших возрастных групп основного промыслового объекта Куршского залива – леща. В современный период, из-за интенсивных и продолжительных «цветений» синезеленых водорослей экологическую ситуацию в Куршском заливе по гидрохимическим и гидробиологическим показателям в летне-осенний сезон наиболее теплых лет, можно оценить как неблагоприятную.

Список литературы

- Андроникова И.Н., Распопов И.М. Зоны экологического риска в прибрежных районах Ладожского озера. // Биология внутренних вод. 2007. №2. С. 3-10.
- Александров С.В. Сенин Ю. М. Смыслов В.А. Первичная продукция планктона, содержание хлорофилла и биогенных элементов как показатели экологического состояния Куршского и Вислинского заливов Балтийского моря // Биология внутренних вод, 2006. №1. С. 41-47.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М.: Наука, 1975. 240 с.
- Решетников Ю.С. Оценка благополучия рыбной части сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб // Успехи современной биологии. 1999. Т. 119, №2. С. 195-175.
- Семенова С.Н., Смыслов В.А. Состояние фитоплена Куршского залива Балтийского моря на рубеже XX- XXI веков // Гидробиологические исследования в бассейне Балтийского моря, Атлантическом и Тихом океанах на рубеже тысячелетий. Сб. научн. Тр. к 40-летию Калининградск. отд. ГБО РАН. Калининград, 2005. С. 17- 63.
- Семенова А.С., Александров С.В. К методике потребления зоопланктоном синезеленых водорослей в период «цветения» Куршского залива. Биология внутренних вод: материалы докладов XIII Международной школы-конференции (Борок, 23-26 октября 2007 г.).Р.: «Рыбинский Дом печати», 2007. С.190-196.
- Трифонов И.С. Экология и сукцессия озерного фитопланктона. Л.: Наука, 1990.181 с.
- Checklist of the harmful species of the Baltic Sea // Report of the ICES-IOC-SCOR Study Group on GEOHAB Implementation in the Baltic (SGGIB). 1-2 April 2004. Helsinki, Finland. P. 21.
- Crippen R.W., Perrier J. L. The use of Neutral Red and Evans Blue for Live / Dead determination of marine plankton. // Stain Tech. 1974. V. 49, №2. P. 97-104.
- Dubovskaya O.P., Gladyshev M.I., Gubanov V.G., Makhutova O.N. Study of non-consumptive mortality of Crustacean zooplankton in a Siberian reservoir using staining for live/dead sorting and sediment traps. // Hydrobiologia. 2003. 504. P. 223-227.
- Jacoby J.M., Collier D.C., Welch E.B., Hardy F.J., Crayton M. Environment factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*.// Can. J. Fish. Aquat. Sci. № 57 (1). 2000. P. 231- 240.
- Haney J.F., Hall D.J. Sugar-coated Daphnia.: Apreservation technique for Cladocera.// Limnol. and Oceanog. 1973. Vol.18, No 2. P.331-333.
- Magalhaes V.F., Marinho M.M., Domingos P., Oliveira A.C., Costa S.M., Azevedo L.O., Azevedo S.M.F.O. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustacean from Sepetiba Bay (Brasil, RJ) // Toxicon. № 42. 2003. P. 289-295.

ВКЛАД РАЗЛИЧНЫХ АВТОТРОФНЫХ СООБЩЕСТВ В ФОРМИРОВАНИЕ УРОВНЯ ПЕРВИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ОЗЕРА НАРОЧЬ В ПЕРИОДЫ ЭВТРОФИРОВАНИЯ И ДЕЭВТРОФИРОВАНИЯ

А.А. Жукова

Белорусский государственный университет
220030, г. Минск, пр. Независимости, 4, Беларусь, lakes@tut.by

Озеро Нарочь (54°52' N, 26°50' E) является крупнейшим и наиболее исследованным водоемом Беларуси, а также природным ядром Национального парка «Нарочанский». Это мезотрофно-олиготрофное полимиктическое озеро, его площадь составляет 79.6 км², средняя глубина – 8.9 м, максимальная – 24.8 м.

Гидробиологические наблюдения проводятся на озере более 60 лет. За этот период озеро претерпело значительные изменения (Остапеня, 2000). Антропогенное эвтрофирование, начавшееся в конце 1960-х гг., было приостановлено в результате проведения в начале 1980-х гг. комплекса природоохранных мероприятий на водосборной территории, основной целью которого было значительное снижение внешней биогенной нагрузки на экосистему. Как следствие с 1986 г. в озере наблюдалось резкое снижение общего фосфора, с 1992 г. – азота. Произошедшее в это же время (в начале 1990-х гг.) вселение в озеро активного моллюска-фильтратора *Dreissena polymorpha* Pallas привело к активному осаждению взвеси и перераспределению потоков биогенных элементов, а, следовательно, и продукционной активности в экосистеме из толщи воды в придонный экотон – в озере происходит процесс бентификации (рис. 1).

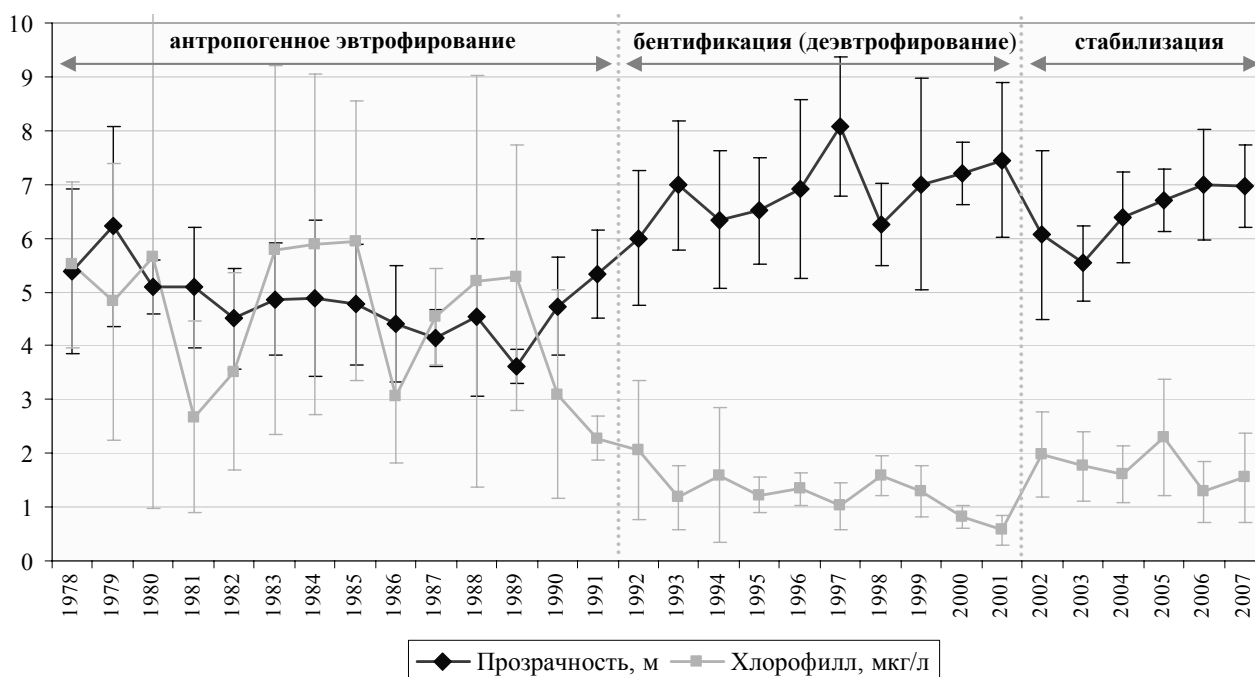


Рис. 1. Многолетняя динамика величин прозрачности и содержания хлорофилла в воде оз. Нарочь

В сравнении с периодом эвтрофирования (1978-1990 гг.) с начала 1990-х гг. в оз. Нарочь отмечается увеличение прозрачность воды, снижение биомассы фитопланктона и концентрации хлорофилла в озерной воде, изменение биогенного фонда и целого ряда других гидроэкологических параметров (табл. 1). Однако, показатели продукции и деструкции планктона в периоды эвтрофирования и деэвтрофирования озера не различались.

В последние годы в озере наблюдается относительная стабилизация озерной экосистемы в новом состоянии при меньшем размахе межгодовых колебаний показателей качества воды. Уровень продукции и деструкции в планктоне несколько увеличился, причем по сравнению с предыдущими годами отмечается преобладание в озерной воде продукционных процессов.

Таблица 1. Показатели качества воды в оз. Нарочь в разные периоды исследований (приведены средние для среднесезонных значений \pm стандартное отклонение)

Показатель	1978-1990 гг.	1991-2001 гг.	2002-2007 гг.
Прозрачность, м	4.8 \pm 0.6	6.7 \pm 0.8	6.4 \pm 0.7
Взвешенное вещество, мг/л	1.79 \pm 0.30	0.77 \pm 0.17	1.02 \pm 0.07
Зольность сестона, %	45.6 \pm 4.08	50.6 \pm 5.52	43.0 \pm 1.9
БПК ₅ , мг O ₂ /л	1.05 \pm 0.13	1.04 \pm 0.20	1.11 \pm 0.16
C _{общ.} , мг/л	5.36 \pm 0.44	5.40 \pm 0.51	5.56 \pm 0.30
N _{общ.} , мг/л	0.83 \pm 0.23	0.49 \pm 0.27	0.73 \pm 0.20
P _{общ.} , мг/л	0.026 \pm 0.010	0.016 \pm 0.002	0.015 \pm 0.002
Концентрация хлорофилла, мкг/л	4.69 \pm 1.19	1.36 \pm 0.50	1.75 \pm 0.36
Биомасса фитопланктона, мг/л	2.17 \pm 1.05	0.93 \pm 0.87	1.20 \pm 0.36
Биомасса зоопланктона, мг/л	1.05 \pm 0.36	0.55 \pm 0.26	0.61 \pm 0.15
Биомасса бактериопланктона, мг/л	0.42 \pm 0.09	0.35 \pm 0.16	0.34 \pm 0.10
Валовая первичная продукция планктона в пелагиали*, мг C/м ³ *сут	52.7 \pm 12.9	56.4 \pm 11.7	96.2 \pm 16.9
Деструкция планктона в пелагиали*, мг C/м ³ *сут	49.4 \pm 11.4	51.0 \pm 10.9	63.4 \pm 17.7
Примечание: данные в таблице рассчитаны на основании архивных материалов НИЛ гидроэкологии			
* на глубине с оптимальными световыми условиями			

До настоящего времени было две попытки составления биотического баланса экосистемы оз. Нарочь. Первый биотический баланс оз. Нарочь (Винберг и др., 1971) был составлен на основании данных, полученных в период с 1946 по 1969 гг. Несмотря на то, что первый баланс был составлен с некоторыми допущениями, в частности, интересующее нас функционирование автотрофного блока в экосистеме было оценено приблизительно, это событие было знаковым как в истории изучения озерной экосистемы, так и в отечественной гидробиологии, являясь одной из первых попыток описания функционирования озерной экосистемы в виде балансовой модели. Несомненно, составление первого биотического баланса, его анализ, выявление недоработок и недостающих звеньев, активировало работу в данном направлении, что выразилось впоследствии составлением второго, более полного и подробного биотического баланса, опубликованного в монографии «Экологическая система Нарочанских озер» (1985). В основу его положены данные комплексных исследований озера в конце 1970-х–начале 1980-х гг. Настоящая работа является попыткой составления автотрофной части третьего биотического баланса и дает возможность проследить, как изменялся вклад различных автотрофных звеньев в различные периоды развития экосистемы озера.

Первые наблюдения за первичной продукцией планктона оз. Нарочь были проведены в 1948 г., более систематически первичная продукция изучалась с 1958 г. С 1968 г., после включения озера Нарочь, Мястро, Баторино в план исследований по Международной биологической программе, исследования фитопланктона стали носить регулярный характер; а с 1978 г. изучение структуры и продукционных параметров планктона проводится в режиме мониторинга – ежемесячно в течение вегетационного сезона.

Вклад планктона в формирование автотрофной части первого биотического баланса был рассчитан на основании исследований, проведенных в летние месяцы 1946-1947, 1958, 1962 и 1968 гг. и круглогодично в 1955-1956 гг. Среднегодовая биомасса фитопланктона в разные годы различалась в два-три раза, составив для оз. Нарочь в среднем около 1.0 мг сырого вещества/л. Валовая первичная продукция планктона определялась с помощью метода склянок в кислородной модификации в течение вегетационного сезона на пелагической станции в 1958, 1968 и 1969 гг., и в августе-сентябре 1960 и 1962 гг. В разные годы исследований наблюдали небольшие колебания продукции фитопланктона, максимальные значения в оз. Нарочь за этот период исследования составили 0.2-0.4 мг O₂/л*сутки.

Данные первых исследований видового состава и биомассы макрофитов (Захаренкова, 1959) послужили основой для расчета их вклада в суммарный пул первичной продукции в озере. Однако, последующие исследования и анализ динамики развития макрофитов в озере показали, что значения биомассы макрофитов были несколько завышены (Жукова, 2007). Для расчета продукции макрофитов их Р/В-коэффициент был принят равным 1.25, хотя основную массу погруженных макрофитов в озере (80 % суммарной биомассы) составляли харовые водоросли, для которых отношение Р/В значительно ниже. Продукция перифитона при составлении этого баланса

экспериментально не определялась, поэтому было сделано допущение, что продукция обрастаний близка к продукции макрофитов. Продукция микрофитобентоса не учитывалась.

Если принять, что биомасса макрофитов при составлении первого биотического баланса была завышена на 30 % и их Р/В-коэффициент равен 0.9, как при расчете второго баланса (Экологическая система..., 1985), а продукция эпифитона составляет 60 % продукции макрофитов (Жукова, 2007), то вклад различных сообществ в суммарную продукцию озера будет выглядеть следующим образом: фитопланктон – 608, макрофиты – 374, эпифитон – 224 ккал/м²·сезон или соответственно 50, 31 и 19 % суммарной первичной продукции (табл. 2).

Таблица 2. Суммарный уровень валовой первичной продукции (ВПП) в оз. Нарочь и вклад различных автотрофных сообществ в его формирование в различные периоды исследования

Период исследования, годы	Σ ВПП, ккал/м ² за вег. сезон	Вклад различных сообществ в формирование уровня первичной продукции, %				Источник
		Ф	М	П	Мфб	
1950-е – 1960-е	1206	50,4	31,0	18,6	н	Винберг и др., 1971*
конец 1970-х – начало 1980-х	1207	60,4	12,6	27,0	н	Экологическая система..., 1985*
2002-2004	1403 (1338**)	44,6	31,1	17,8	6,6	наши данные
Примечание: «н» – отсутствие данных * с учетом наших поправок (см. по тексту) ** без учета продукции микрофитобентоса						

С середины 1970-х гг., когда началось интенсивное освоение водосборной территории озера, многократно возросла рекреационная нагрузка на озерную экосистему и резко усилился процесс антропогенного эвтрофирования, начавшийся в конце 1960-х гг. Средняя биомасса водорослей планктона за вегетационный сезон (май-октябрь) была практически одинаковой в периоды 1968-1972 и 1976-1980 гг., составив соответственно 0.98 ± 0.35 и 0.99 ± 0.63 мг/л, хотя их численность увеличилась в несколько раз – 2.84 ± 0.97 против 14.97 ± 10.79 млн. кл./л, т. е. в озере произошла замена крупноклеточных видов водорослей на мелкоклеточные (Экологическая система..., 1985). При этом продукционно-деструкционные показатели планктона за период с 1948 г. по 1985 г. существенно не изменились.

Оценку биомассы и продукции макрофитов проводили на основании данных, полученных в 1978-1981 гг. Р/В-коэффициент для всех макрофитов (кроме харовых водорослей) принят 1.2, для харовых водорослей – 0.75. Рассчитанная годовая продукция надводной растительности составила 849, погруженной – 3460 тонн абсолютно сухой массы (Экологическая система..., 1985). Снижение прозрачности в конце 1970-х гг. привело к сокращению глубины распространения макрофитов в озере с 9.0 до 7.5 м (по сравнению с данными съемки середины 1950-х гг.), а также уменьшению зоны зарастания (с 24 до 17 км²) и биомассы макрофитов (в 1.5 раза по сравнению с данными 1968 г.).

При составлении второго биотического баланса оз. Нарочь были использованы первые экспериментальные сведения об эпифитоне (Экологическая система..., 1985). Помимо изучения видового состава водорослей была оценена биомасса эпифитона различных видов макрофитов, которая колебалась от 0.3 мг/г сухой массы растения на тростнике до 1483.3 мг/г сухой массы макрофита для обрастаний хары (менее сильно изменяясь в расчете на поверхность макрофитов – от 0.1 до 13.3 мг/10 см²), а также содержание хлорофилла в биомассе обрастаний (0.03-1.71 %). При расчете продукции эпифитона по его биомассе был принят Р/В-коэффициент, близкий к таковому фитопланктона оз. Нарочь (70 и 75 за вегетационный сезон соответственно), однако анализ современных литературных данных показал, что Р/В-коэффициент в сообществе эпифитона обычно не превышает 40 за период вегетации. С учетом такой поправки вклад фитопланктона в формирование уровня первичной продукции в озере составлял 729, макрофитов – 152, эпифитона – 326 ккал/м²·сезон или соответственно 60, 13 и 27 % суммарной первичной продукции в озере (см. табл. 2).

Оценку вклад автотрофных сообществ в формирование суммарного уровня продукции на современном этапе развития оз. Нарочь рассчитывали исходя из полученных автором данных о продукции планктона, эпифитона, микрофитобентоса и надводных макрофитов (Жукова, 2007) с привлечением литературных сведений о продукции погруженных макрофитов (Гигевич, Власов, Вынаев, 2001) и биомассе их обрастаний (Экологическая система..., 1985). Для расчета суммарного

уровня первичной продукции в озере также привлечены данные мониторинговых наблюдений за продукцией планктона в пелагиали.

Для расчета уровня первичной продукции озеро условно разделили на зоны:

- прибрежная зона (от уреза воды до глубины 2 м), где присутствуют полупогруженные макрофиты. Участки открытой воды занимают около 75 % площади дна, что создает благоприятные условия для развития донных микроводорослей.
- литоральная зона (от уреза воды до глубины 9 м), где световые условия благоприятны для развития донных и прикрепленных автотрофных сообществ. Участки в диапазоне глубин 2-7,5 м заняты плотными зарослями погруженных макрофитов.
- пелагическая зона (глубина более 9 м) – единственным продуцентом является фитопланктон.

Распределение вклада различных сообществ в формирование суммарного уровня первичной продукции в различных зонах озера по данным за 2002-2004 гг. представлено на рисунке 2.

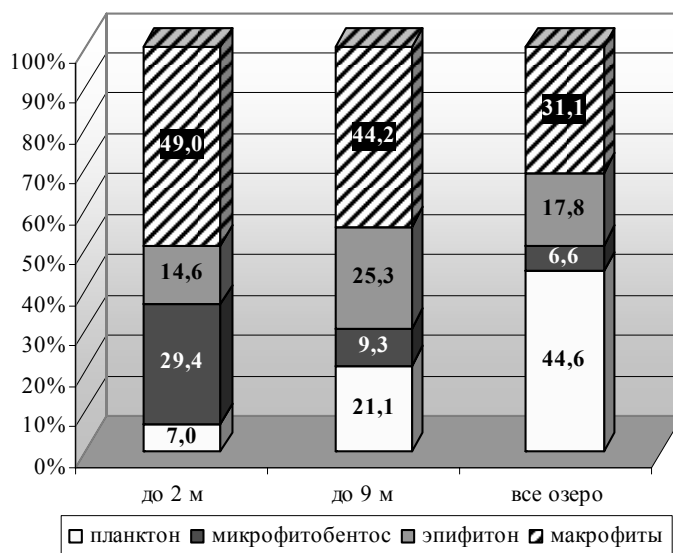


Рис. 2. Относительный вклад различных автотрофных сообществ в продукцию органического вещества в оз. Нарочь (рассчитано по данным за вегетационные сезоны 2002-2004 гг.)

Приведенные на рисунке 2 данные наглядно демонстрируют важную роль литоральных продуцентов в формировании фонда первичной продукции оз. Нарочь. В прибрежной зоне (до глубины 2 м) основным продуцентом органического вещества на протяжении вегетационного сезона являются надводные макрофиты, создающие около половины фонда первичной продукции. Вклад микрофитобентоса также значителен – около 30 %, на долю эпифитона приходится 15 %, планктона – лишь около 7 % суммарной первичной продукции в прибрежной зоне. В летние месяцы на долю надводных макрофитов в этой зоне приходится более 60 % суммарной продукции.

Для 9-м зоны соотношение вклада различных автотрофных сообществ в общий пул первичной продукции несколько меняется по сравнению с прибрежной зоной. На участках литорали с глубинами более 2 м продукция микрофитобентоса незначительна ввиду неблагоприятного светового режима под покровом макрофитов. Вклад донных водорослей в формирование суммарного уровня первичной продукции в литоральной зоне снижается до 9 %, фитопланктона, напротив, возрастает до 21 %. Основная же часть новообразованного органического вещества в этой зоне формируется за счет макрофитно-эпифитонного комплекса.

На участках акватории с глубинами свыше 9 м характер грунтов и световые условия в придонном экотоне неблагоприятны для развития донных и прикрепленных автотрофных организмов, поэтому единственным продуцентом органического вещества здесь является планктон. При расчете на озеро в целом вклад планктона в суммарную первичную продукцию возрастает до 45 %, однако более половины образующегося в озере органического вещества приходится на долю донных и прикрепленных сообществ продуцентов. Литоральная зона, и особенно ее прибрежная часть, характеризуются высокой продуктивностью. Основная часть пула органического вещества в озере – 70 % – формируется на участке акватории от уреза воды до глубины 9 м (51 % площади озера), 22 % – в прибрежной зоне до глубины 2 м (13,5 % площади озера). Удельная продуктивность прибрежной зоны, литорали и пелагиали составляет соответственно 2305, 2008 и 819 ккал/м² (в среднем для озера 1403 ккал/м²).

В качестве основных выводов к изложенному можно заключить следующее.

Основным источником новообразования органического вещества в оз. Нарочь на современном этапе развития экосистемы становятся донные и прикрепленные автотрофные сообщества литорали, что было характерно для озера в период, предшествовавший эвтрофированию. Процесс бентификации приводит к тому, что в озере возрастает роль литорального макрофитно-эпифитонного комплекса, вклад микрофитобентоса ограничен развитием сообщества в узкой прибрежной полосе, в пределах которой его роль существенна.

Анализ данных о первичной продукции трех периодов, характеризующих различные этапы развития озерной экосистемы, показывает, что суммарный уровень новообразования органического вещества остается примерно на одном уровне за весь период изучения озера. Однако, в различные периоды наблюдений происходит перераспределение вклада в суммарную первичную продукцию между различными автотрофными звеньями.

Список литературы.

- Биологическая продуктивность озер разного типа / Г.Г. Винберг и др. // Биопродуктивность озер Белоруссии / Под ред. П.Г. Петровича. – Мн.: БГУ, 1971. – С. 5-33.
- Гигевич Г.С., Власов Б.П., Вынаев Г.В. Высшие водные растения Беларуси: эколого-биологическая характеристика, использование и охрана / Под ред. Г.С. Гигевича. – Мн.: БГУ, 2001. – С. 76-86.
- Жукова А.А. Оценка значимости различных автотрофных компонентов в формировании продуктивности мезотрофного озера: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03. 00. 18. – Мн., 2007. – 24 с.
- Захаренкова Г.Ф. Водная растительность озер Нарочанской группы и ее продуктивность // Тр. V науч. конф. по изуч. внутр. водоемов Прибалтики. – Мн., 1959. – С. 14-18.
- Остапеня А.П. Нарочанские озера: проблемы и прогнозы // Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды: Мат. Междунар. науч. конф. 20-25 сент. 1999 г., Минск-Нарочь / Под ред. Т.М. Михеевой. – Мн.: БГУ, 2000. – С. 282-292.
- Экологическая система Нарочанских озер / Под ред. Г.Г. Винберга. – Мн.: Университетское, 1985. – 303 с.

АНАЛИЗ ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ ЧЕРНОМОРСКОГО ШПРОТА *SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS* (RISSO) В ПРИБРЕЖНЫХ РАЙОНАХ КРЫМА С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

А.В. Завьялов

Институт биологии южных морей НАН Украины
г. Севастополь, Украина, andrej-zavyalov@yandex.ru

В настоящее время одной из важнейших проблем является чистота окружающей среды, обострившаяся в связи с интенсивным ростом промышленности, увеличением народонаселения, урбанизацией приморских территорий. В данной ситуации Крымский регион и черноморское побережье может служить своего рода миниатюрной моделью для изучения последствий этих глобальных процессов.

Для анализа этой проблемы следует выбрать различные индикаторы, в том числе биологические. Показатели зараженности массовых пелагических промысловых видов рыб являются удобными маркерами для комплексной оценки влияния природных и антропогенных факторов на состояние промысловых популяций, занимающих важное положение в экосистеме и имеющих существенное хозяйственное значение. Идеальным объектом является черноморский шпрот, характеризующийся коротким жизненным циклом (3 – 4 года), рано достигающий половой зрелости и совершающий ограниченные сезонные миграции в прибрежной части моря (Овен и др., 1997).

В качестве индикатора биологического загрязнения выбраны личинки фонового паразита - анизакидной нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Rud., 1802) — одного из массовых паразитов многих донных и пелагических видов рыб (Корнейчук и др., 2007). Нематода встречается повсеместно в акватории Чёрного и Азовского морей, а также в других районах Мирового океана и является самым распространённым паразитом морских и пресноводных гидробионтов (Гаевская, 2005). На этом основании целью данной работы явилось определение показателей инвазии черноморского шпрота личинками нематоды *Hysterothylacium aduncum* из различных районов промысла у побережья Крыма.

Отбор проб шпрота и прилова осуществляли от Евпатории до мыса Чауда (Феодосийский залив) в период с 2003 года по 2006 г. на МРТК «Надежда». Основные районы промысла в западно-крымской части Чёрного моря были: от Евпатории до бухты Стрелецкая; в юго-западной – от мыса

Фиолент до района Балаклавы; на Южном берегу - от мыса Сарыч до посёлка Партенит; в юго-восточной части - от Алушты до мыса Меганом. (Рис.1) Отбор проб проводили во время нереста и в период нагула рыб. Траления осуществляли в 2-6 милях от берега на глубинах от 55 до 95 метров.



Рис.1. Карта отбора проб шпрота в период 2003 – 2007 год

При вскрытии рыб проводили учёт количества паразитов и идентификацию личинок нематод из полости тела. Определяли показатели инвазии: интенсивность, экстенсивность и индекс обилия в относительных единицах.

В результате проведённых исследований установили, что индекс обилия является самым достоверным и информативным показателем для оценки качества морской среды различных районах промысла. Круглогодичный мониторинг заражённости шпрота личинками нематод в районе мыса Лукулл в течении 2005 года позволил выявить чёткие отличия индекса обилия в нагульный и репродуктивный периоды. Аналогичные тенденции отмечали и в другие годы.

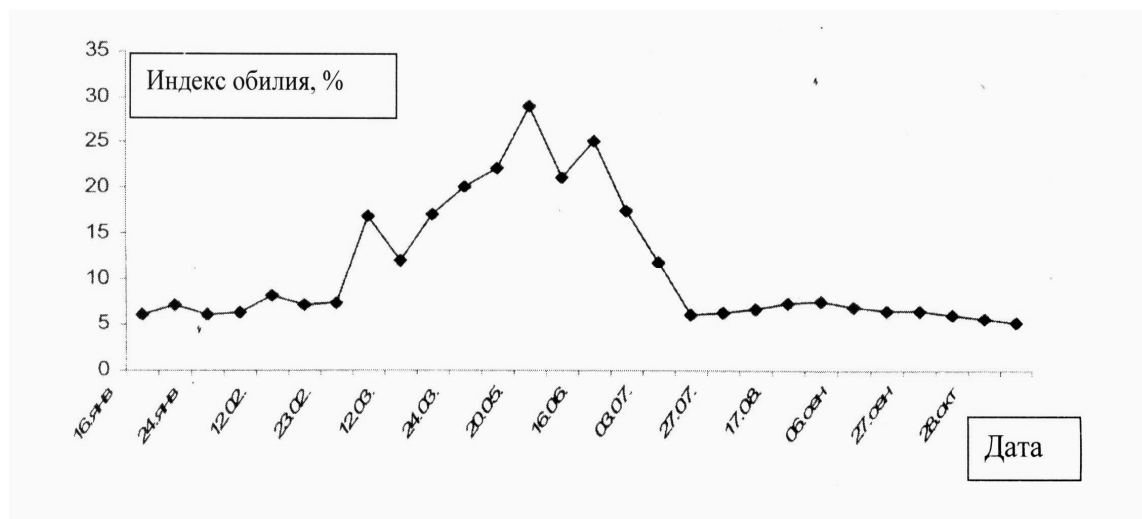


Рис. 2. Динамика изменения индекса обилия черноморского шпрота личинками *Hysterothylacium aduncum* в районе м. Лукулл в течение 2005 года

Исследования межгодовых различий показателей заражённости шпрота позволили выявить незначительные колебания индекса обилия у рыб с 2003 по 2007 годы в районе мыса Лукулл. Исключением является 2004 год, когда в результате перелома 2000-2002 годов произошло резкое сокращение численности западно-крымской популяции черноморского шпрота (Зуев, Мельникова, 2003). В связи с этим в несколько раз сократились показатели заражённости шпрота личинками нематод в прибрежных водах этой части Чёрного моря. Но в 2005 году величина заражённости постепенно восстановились по мере роста численности популяции рыб. Средние значения индекса обилия в районе мыса Лукулл в нагульный период у рыб составили 16,2 и в репродуктивный – 5,8.

Полученные данные дают возможность предположить, что показатели индекса обилия в пробах шпрота из различных акваторий - величина относительно постоянная для каждого района как в нагульный, так и в репродуктивный периоды. При этом различия индексов обилия нагульного и репродуктивного периодов специфичны для каждого района промысла. Причины такой специфичности могут заключаться в особенности кормовой базы и, прежде всего, в локализации и миграции планктона в акватории.

Таблица 1. Показатели индекса обилия личинками *Hysterothylacium aduncum* черноморского шпрота из различных районов промысла у крымского побережья

Период	Евпатория	м.Лукулл	п.Андреевка	п.Любимовка	Кача	б.Стрелецкая	б.Камышовая	м.Филент	Балаклава	м.Сарыч	г.Аюдаг	г.Кастель	Алушта	п.Солнечногорск	п. Морское	п. Рыбачий	Судак	м. Меганом	м. Чауда
Нагул	23	16,2	23,7	15	22,7	35	25,3	31,2	19	2,85	4,85	10,4	3,3	4,2	16,7	19	19	13,6	18
Нерест	8	5,8	8,5	15	13	24,6	18	15,5	14	2,2	3	3,4	3,3	4,4	12	11	16	7	10

В таблице 1 показаны средние величины этих показателей, изученные в период с 2003-2007 годов. Значения индекса обилия представлены без учёта соотношения возрастных групп. Как показали многолетние исследования в пробах, отобранных методом свободной выборки, доминируют, как правило, две возрастные группы: годовальные и двухгодовалые особи. Колебание численного соотношения этих двух модальных групп определяет межсезонные, районные и межгодовые вариации показателей заражённости черноморского шпрота (Корнейчук, Завьялов, 2003). Этот подход позволяет применить упрощённый, универсальный тест для определения степени и качества антропогенной нагрузки на крымское побережье.

Из рис 3. следует, что самые высокие значения индекса характерны для районов крупных промышленных городов, где происходит интенсивный сброс сточных вод в морскую среду. На рис. 4 представлено условное деление районов промысла на зоны с различным уровнем загрязнения

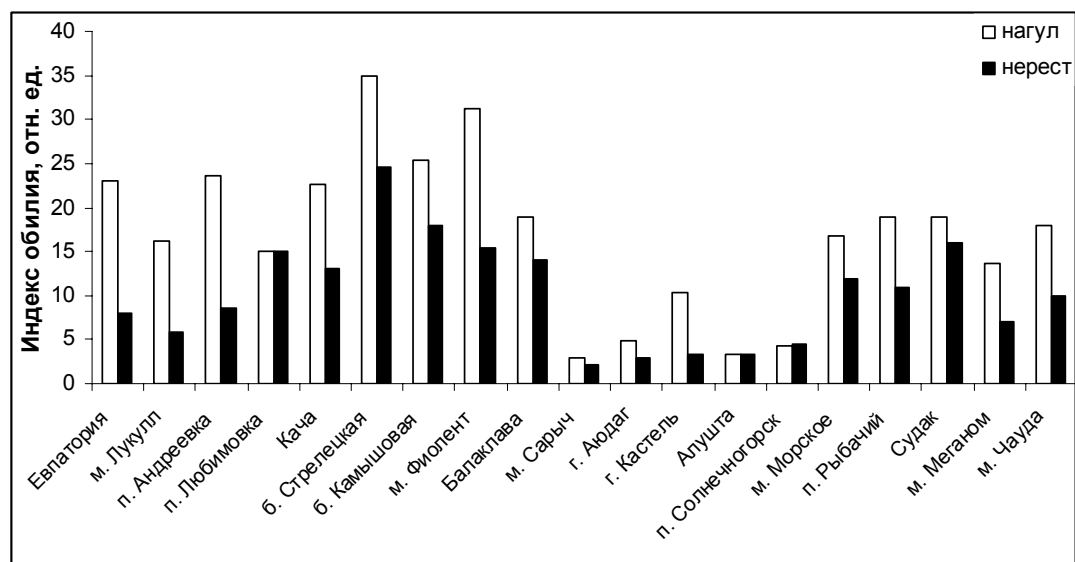


Рис.3. Индекс обилия личинок *Hysterothylacium aduncum* черноморского шпрота из различных районов промысла у крымского побережья в нагульный и нерестовый периоды

Показателен район Севастополя, который очень неоднороден по степени антропогенной нагрузки. Условно его можно разделить на несколько секторов (Лукулл, Андреевка, Любимовка, Кача, Стрелецкая и Камышовая бухты), где индекс обилия будет значительно варьировать. Самые высокие его показатели отмечены в бухте Стрелецкой, расположенной в центре самого густонаселённого района города (Гагаринский) с наиболее развитой промышленной

инфраструктурой, базирующимся в бухте военно-морским флотом. Аналогичная картина, но с меньшими значениями индекса, установлена в районе бухты Камышовая, где находится крупнейший в Крыму рыбный порт и самый большой в городе комплекс очистных сооружений. Очень интересен с экологической точки зрения район мыса Фиолент, где нет промышленных предприятий и практически отсутствуют бытовые стоки, но значение индекса в исследованный период очень высоко. Вероятно, причина заключается в особенностях течений. Наиболее благоприятным в экологическом плане следует считать район от мыса Сарыч до посёлка Солнечногорск – район здравниц и курортов. Относительно неблагополучен весь Судакский район, где в море происходит слив бытовых стоков и отходов многочисленных виноделов и сельхозпредприятий. В Судакском районе индекс обилия в два раза выше, чем в районе ЮБК.



Рис. 4. Условное деление прибрежных вод Крыма на зоны с различной степенью антропогенной нагрузки: 1 – зона наибольшего загрязнения, 2 – условно чистая зона, 3 – зона умеренного загрязнения

Таким образом, показатели инвазии шпрота являются информативными индикаторами состояния популяции и экологической ситуации районов ее обитания. Параметры зараженности рыб являются необходимой составной частью биомониторинга морских вод, важность которых обусловлена разработкой мероприятий по охране здоровья человека и среды его обитания.

Список литературы

- Гаевская А.В. Анизакидные нематоды и заболевания, вызываемые ими у животных и человека – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005 – 223с.
- Зуев Г.В., Мельникова Е.Б. Экологическое (внутривидовое) разнообразие ихтиофауны. Ихтиофауна черноморского побережья Крыма. / Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор) / Под ред. В.Н. Еремеева, А.В.Гаевской.-Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. - С.380 - 424.
- Корнейчук Ю.М., Юрахно В.М., Завьялов А.В. Региональные различия зараженности фоновыми видами паразитов шпрота *Sprattus sprattus phalericus*, обитающего у черноморского побережья Крыма // Риб. госп-во Украны. – 2007. – №1/2. – С 32 — 35.
- Корнейчук Ю.М.,Завьялов А.В. Зараженность гельминтами Черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus* Risso у берегов Крыма // Экология моря. – 2003. – Вып. 69. – С. 20 - 24.
- Овен Л.С., Шевченко Н.Ф., Гирагосов В.Е. Размерно-возрастной состав, питание и размножение шпрота *Sprattus sprattus phalericus* (Clupeidae) в разных районах Чёрного моря // Вопр. ихтиол. – 1997. – Т. 37, № 6. – С. 806 – 815.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

В.А. Золотарев

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742, п. Борок, Ярославская обл., Россия, forest753@gmail.com*

Водные микроорганизмы (бактерии, водоросли и простейшие), составляющие первичное звено экологических систем, являются наиболее информативным диагностическим компонентом биоты (Бухарин, Розенберг, 2007). Биоразнообразие водоемов зависит от разнообразия микробных сообществ, составляющих основание трофической пирамиды. Сообщества микробиальной трофической сети (микробиальной "петли"), трансформируя до 90% первичной продукции, являются неотъемлемой ступенью в потоке энергии водных экосистем (Бульон, 2002).

Разнообразие и обилие простейших свидетельствует о бактериальной активности биоценоза, поскольку и те, и другие входят в сообщество деструкторов. Биомасса бактерий и микроскопических простейших составляет не менее половины биомассы всего озерного планктона (Копылов с соавт., 2007). Микробные трофические связи сами по себе организованы в сложную цепь: солнечный свет → фотосинтезирующие микроводоросли → бактерии, потребляющие растворенную органику → жгутиконосцы, поедающие бактерий. То есть трофические цепи макромира – это увеличенное подобие трофических цепей микромира. Необходимо учитывать и тот факт, что большей «индикационной силой» обладают не отдельные виды-индикаторы, а сообщества индикаторных видов (Миркин, Розенберг, 1978).

При усилении воздействий на сообщество его структура и функции изменяются, и оно переходит в другое состояние с новыми значениями структурных и функциональных характеристик (Алимов, 1989).

Биологические сообщества по некоторым признакам сходны с фракталами – геометрическими объектами, главной чертой которых является независимость свойств от масштаба изучения (Гелашвили с соавт., 2007). Это одно из основных фундаментальных свойств живой материи, которое оправдывает создание уменьшенных экспериментальных экосистем – микрокосмов, все чаще применяемых в биомониторинге и экотоксикологии. Тем не менее, методики создания микрокосмов все еще достаточно сложны и дороги, и мы пошли по пути дальнейшего упрощения – разработки модельных сообществ.

Скопления детрита в планктоне, на дне водоемов, на макрофитах и других субстратах представляют благоприятную микросреду для гетеротрофных простейших. Сходные условия существуют также на поверхности искусственных субстратов, где создается градиент концентрации органических веществ и содержится гораздо больше бактериальной и водорослевой пищи, чем в окружающей воде. Сообщества перифитона занимают особое место в водных экосистемах, участвуя в разложении существенной доли поллютантов.

Специфичные группы организмов, обрастающих искусственные субстраты, погруженные в водоем для оценки состояния биоценоза и качества воды, мы называем модельными сообществами перифитона (МСП). Они отличаются от естественных обрастаний повышенной чувствительностью к внешним воздействиям, а также высокой информативностью и стабильностью количественных характеристик. Микроорганизмы составляют существенную часть сообществ перифитона во всех водных экосистемах и выполняют важнейшие функции в энергетических потоках (Cairns, 2002). Короткие жизненные циклы микроорганизмов позволяют проследить за ходом сукцессии модельных сообществ с минимальными затратами времени (Тихоненков с соавт., 2008).

Простейшие в перифитоне обычно выполняют разнообразные трофические функции – от первичных продуцентов до хищников. Основная функциональная роль простейших на субстратах заключается в переработке мертвой органики и сопутствующей бактериальной флоры. Бактерии служат основным источником пищи для жгутиконосцев, обитающих на естественных и искусственных субстратах. Зоофлагелляты являются одним из важнейших элементов в детритных пищевых цепях (Bennett et al., 1990), их разнообразие и обилие в перифитоне довольно велико.

Наши многолетние исследования позволили выявить ряд новых показателей трофности, токсичности и ацидификации водоемов. основополагающий принцип учения об экологической нише - принцип конкурентного исключения - был выявлен в экспериментах с простейшими нашего соотечественника Г.Ф. Гаузе (Гаузе, 1936). В природе мы имеем дело, как правило, с большим разнообразием видов. Искусственные субстраты в данном случае играют роль фактора, усиливающего конкуренцию в МСП, повышая тем самым чувствительность к разного рода

химическим воздействиям. Показателями токсичности, кроме числа видов и общепринятых индексов разнообразия, могут служить соотношение обилия прикрепленных инфузорий и амёб, а также интегральные характеристики сообществ, определяемые при помощи методов многомерной статистики.

Мы учитывали пищевые стратегии простейших (Sleigh, 2000) для выделения особых функциональных групп (экоморфотипов), или экобиоморф, по Алееву (1986). Например, среди организмов, участвующих в первичной колонизации субстратов, обычно преобладают прикрепленные воротничковые жгутиконосцы. Можно сравнить их с хоаноцитами пресноводных губок, также обитающих в олиготрофных условиях и выполняющих сходные функции фильтрации больших объемов воды.

В олигосапробных водоемах доминируют прикрепленные одноклеточные формы - фильтраторы или седиментаторы (из рода *Salpingoeca* и *Vicosoecida*). Мезосапробные зоны характеризуются массовым развитием неприкрепленных жгутиконосцев, питающихся путем активной охоты (бодониды, бесцветные эвгленовые), однако максимальной плотности здесь достигают прикрепленные колониальные представители рода *Codonosiga*. В полисапробных зонах водоемов доминируют неприкрепленные формы.

На основе этих исследований нами предложен упрощенный показатель органического загрязнения - индекс перифитонных жгутиконосцев, выражаемый соотношением числа видов сессильных (прикрепленных) и мобильных (неприкрепленных) форм:

$$IPF = Ss/Sm$$

Индекс принимает наивысшие значения в олигосапробных зонах: от 3,0 до 1,0; равномерно снижается с увеличением загрязнения в мезосапробных зонах до 0,5; в полисапробных зонах убывает до 0. Результаты многолетней программы мониторинга, выполненной на разнотипных озерах Дарвинского заповедника, показали высокую степень корреляции ($r = 0.823$) между IPF и показателем POB (Zolotarev, 2007). IPF можно отнести к биоиндикаторам высокого качества. Качество биоиндикации тех или иных факторов (в первую очередь антропогенных) можно оценить либо экспертным путем, либо с использованием следующей простой статистической процедуры. Если показатель или параметр биоиндикатора существенно различается для «крайних» вариантов (например, «контроль - сильное загрязнение»), то он считается очень хорошим. При оценке «существенности» принято считать, что различие параметров более чем в 2 раза как раз и свидетельствует о высоком качестве биоиндикатора (Бухарин, Розенберг, 2007).

Известны десятки индексов оценки видового разнообразия (Баканов, 1997, Протасов, Павлюк, 2004), однако до сих пор ни один из индексов не получил одобрения у большинства экологов. По-видимому, при оценке антропогенного загрязнения необходимо использовать различные подходы в оценке видового разнообразия и различные группы гидробионтов, но нельзя измерять «среднюю температуру по больнице», считая все организмы без учета их функциональной роли. С этой точки зрения следует признать, что в индикации главенствующее значение приобретает проблема «физиономичности индикаторов», их характерного «облика», легко доступного для обнаружения и наблюдений (Бухарин, Розенберг, 2007).

Наиболее серьезная проблема для методов биоиндикации - это региональность, ограниченные ареалы распространения многоклеточных организмов. Использование сообществ микроорганизмов, большинство из которых - космополиты, позволяет решить эту проблему. Кроме того, сообщества простейших обладают целым рядом свойств, ценных для биомониторинга водоемов. Подобные методы работы с упрощенными модельными сообществами разрабатывались в СССР еще в 20-30е годы (Дуплаков, 1933), в конце 20 века – в США (Cairns, 1986, 2002), в Китае включены в государственную систему мониторинга водных ресурсов (Shen et al., 1994), в настоящее время используются в Японии и Корее.

В ближайшей перспективе в практику мониторинга будут включены новые технологии, включающие биосенсоры на основе модельных сообществ. Наш проект Автоматизированной информационной сети биомониторинга водоемов был включен в «Приоритеты национальной экологической политики России (Портфель проектов, 1999)». Преимущества разрабатываемых методов обсуждаются на сайте <http://biomonitoring.narod.ru>

Возможна модернизация методики отбора проб путем трансплантации сообществ. Водные растения или твердые субстраты из водоема помещают в баночки (250 - 500 мл) под поверхность

воды, затем доставляют в лабораторию, где в эти же емкости устанавливают стеклянные пластины стандартного размера (76 x 26 мм), обычно некоррозионные предметные стекла для микроскопов. Уже на следующие сутки в лаборатории можно наблюдать сукцессию перифитона на искусственных субстратах, при этом процесс обрастания происходит быстрее, чем в природе, и наблюдаются достоверные различия в пробах, отобранных на загрязненных и чистых участках водоема. Такая методика вполне применима как в токсикологических исследованиях, так и для экологического образования в школах и университетах. Необходим практический подход к работе со сложными системами. Можно познать гармонию мироздания и в капле воды!

Таким образом, сочетание структурных и функциональных характеристик микробных сообществ вполне оправдано при оценке антропогенной нагрузки на водоемы. Здоровье водных экосистем лежит в основе жизнедеятельности биосферы. Системный подход и ранняя диагностика отклонений от нормы – наиболее существенные требования к биологическим методам оценки качества водной среды. Недостатком многоуровневых программ мониторинга является их высокая стоимость. Возможной альтернативой могут служить новые интегральные методы с использованием менее сложных модельных сообществ. Стоимость разработки и применения микробиотестов существенно ниже аналогичных методов с использованием позвоночных и многоклеточных животных (Wells et al., 1998).

Список литературы

- Алеев Ю.Г. Экоморфология. – Киев: Наук. Думка. – 1986. – 423 с.
- Алимов А.Ф. Введение в продукционную гидробиологию. – Л.: Гидрометеиздат, 1989. – 152 с.
- Баканов А.И. Использование характеристик разнообразия зообентоса для мониторинга состояния пресноводных экосистем // Мониторинг биоразнообразия. – М., 1997. – С. 278–282.
- Бульон В.В. Структура и функция микробальной "петли" в планктоне озерных экосистем // Биология внутренних вод. – 2002. – № 2 –С. 5-14.
- Бухарин О.В., Розенберг Г.С. (ред.) Биоиндикация экологического состояния равнинных рек. – М.: Наука, 2007. – 403 с.
- Гелаишвили Д. Б., Иудин Д. И., Розенберг Г. С., Якимов В. Н. Степенной характер накопления видового богатства как проявление фрактальной структуры биоценоза // Журн. общ. биол. 2007. Т. 68. №3-С. 170-179.
- Копылов А.И., Косолапов Д.Б., Романенко А.В., Крылов А.В., Корнева Л.Г., Гусев Е.С. Микробная «петля» в планктонных сообществах озер разного трофического статуса // Журн. общ. биол. 2007. Т. 68. №5-С. 350-360.
- Миркин Б.М., Розенберг Г.С. Фитоценология. Принципы и методы. – М.: Наука, 1978. – 212 с.
- Протасов А.А., Павлюк Т.Е. Использование показателей биоразнообразия для оценок состояния водных объектов и качества воды // Гидробиол. журн. 2004. Т.40. №6-С. 3-17.
- Тихоненков Д.В., Мазей Ю.А., Ембулаева Е.А. Деградационная сукцессия сообщества гетеротрофных жгутиконосцев в микрокосмах // Журн. общ. биол. 2008. Т. 69. №1-С. 57-64.
- Bennett S.J., Sanders R.W., Porter K.G. Heterotrophic, autotrophic and mixotrophic nanoflagellates: Seasonal abundances and bacterivory in a eutrophic lake // Limnol., Oceanogr. 1990. V. 35. P. 1821–1832.
- Cairns J.Jr. Ecotoxicology and sustainable use of the planet. // Toxicology and Industrial Health 2002. 18(4), P. 161-170.
- Pratt J.R. and Cairns J.Jr. Functional groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems. // J. Protozool. - 1985. - 32(3). - P. 415-423.
- Sleigh M.A. Trophic strategies // The flagellates: Unity, diversity and evolution. (Eds: Leadbeater BSC; Green JC). - London and New York: Taylor and Francis, 2000. - P. 147-165.
- Wells, P.G., Lee, K., and Blaise, C., Eds. Microscale Testing In Aquatic Toxicology: Advances, Techniques, and Practice. CRC Press, Boca Raton, FL., 1998. – 425 p.
- Zolotarev V. A. Water quality monitoring in wetland ecosystems using microbial model communities // Int. J. Water, 2007, Vol. 3, No. 3, P. 231-242.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРИТОКОВ НА МАКРОЗООБЕНТОС РЕКИ ПЫШМЫ

Е.А. Исаченко-Боме, Л.В. Михайлова

ФГУП ГОСРЫБЦЕНТР

625032 г. Тюмень, Одесская 33, Россия, isachenko-bome@mail.ru

Состояние макрозообентоса реки Пышмы определяется как природными особенностями, так и хозяйственной деятельностью человека. Наряду с местными факторами существенное влияние на качество природных вод оказывает трансграничный перенос загрязняющих веществ с территории соседней области. Исследуемая нами река Пышма, самый длинный приток реки Туры, протекает в Свердловской и Тюменской областях. Берет начало из небольшого озера Ключи, в 1.0 км к юго-западу от г. Верхняя Пышма Свердловской области, на восточном склоне Среднего Урала и впадает в Туру справа на 97-м км от устья. Длина реки 603 км, в том числе в Тюменской области – 196 км (Ресурсы..., 1973). Питание реки преимущественно снеговое. Основные притоки, влияющие на бассейн реки Пышма - Рефт, Кунара, Большая Калиновка, Юрмыч, Беяковка (Свердловская область), Балда, Цинга, Карга, Дуван (Тюменская область) (Лезин, 1999 а,б).

Источником загрязнения в верхнем течении являются хозяйственные и промышленные стоки городов: В. Пышма, Екатеринбург, Березовский. Выше города Березовский вода содержит меди 57 ПДК, цинка – 9.9 ПДК, никеля – 11 ПДК, нефтепродуктов – 4 ПДК. Ниже п. Белоярский концентрация меди составляла уже 14 ПДК, цинка – 2.4 ПДК, железа – 4 ПДК. При приближении к границам Тюменской области (ниже г. Талицы) вода содержит тяжелые металлы (Zn, Cu, Mn), которые превышают ПДК в 20 и более раз (1991-1999 гг.). Кроме того, Свердловская область является источником радиоактивного загрязнения, среднегодовая концентрация цезия-137 ниже Белоярской АЭС составляет 230 Бк/м³ (ниже ПДК) (Атлас, 2001). На территории Тюменской области в бассейн р. Пышма основными предприятиями, сбрасывающими загрязняющие компоненты, являются жилищно-коммунальные хозяйства, птицефабрики, зоны отдыха. Здесь загрязнение воды обусловлено выносом тяжелых металлов (особенно меди, цинка, марганца и алюминия) с сопредельной территории и дополнительного привноса на территории Тюменской области, особенно в районе с. Богандинское.

В статье приведены трехлетние (2002, 2003 и 2004 гг.) исследования состояния зообентоса нижнего течения реки Пышма, его качественные и количественные характеристики как в открытый (2002-2004 гг.), так и в подледный (2003 г.) периоды. Дана оценка состояния реки по биологическим показателям. Проведен корреляционный анализ между содержанием загрязняющих веществ в воде, донных отложениях и показателями зообентоса. Проведен сравнительный анализ створов расположенных ниже впадения некоторых притоков (малых рек) и участков реки, где не наблюдается данного воздействия.

Пробы отбирались по створам - от границы Свердловской области до впадения реки Пышма в реку Тура (196 км) (рис.1).



Рис. 1. Схема отбора проб на створах р. Пышма в пределах Тюменской области.

Всего было 9 створов (27 станций): №1- 196 км от устья, д. Чаплык (граница со Свердловской областью); № 2 – 154.5 км, выше впадения реки Балды; № 3 – 153 км, ниже впадения реки Балды; № 4 – 112 км, ниже впадения реки Цинги; № 5 – 97 км, ниже впадения реки Карги; № 6 – 82 км, ниже с.

Богандинское; № 7 – 40 км, ниже впадения реки Дуван; № 8 – 5 км, переправа у с. Криводаново; № 9 – 1 км, предустьевой створ. Сборы речного бентоса проводились с помощью дночерпателя системы Петерсена (площадь отбора 0.05 м²) и просматривались в камеральных условиях в живом состоянии. Фиксация, взвешивание и пересчет на 1 м² организмов производилось согласно общепринятым методикам (Методические рекомендации..., 1983). Для оценки качества воды по показателям зообентоса рассчитывались индексы, принятые в системе Госкомгидромета (Руководство..., 1983; Унифицированные методы..., 1997): Гуднайта и Уитлея, биотический индекс Вудивисса, индекс видового разнообразия Шеннона-Винера, индекс выровненности сообщества (е) по Пиеллу (Одум, 1975). Выделение доминантов (> 50 %) и субдоминантов (10-50%) производилось при помощи индекса плотности ($\sqrt{P \cdot B}$; $P = \frac{N_i}{N}$, где P – встречаемость в %, B – биомасса вида в %) (Кравцова, 1991).

Статистическая обработка экспериментальных данных и корреляционный анализ выполнены по общепринятым методикам (Лакин, 1980).

Общий химический анализ и содержание нефтяных углеводородов, синтетических поверхностно-активных веществ (СПАВ) и тяжелых металлов в природной воде и грунтах проводились в аккредитованных лабораториях ФГУП «Госрыбцентр».

Исследования показали, что в состав донного сообщества реки Пышмы входят шесть основных групп гидробионтов: олигохеты, пиявки, моллюски, ручейники, хирономиды и мокрецы. Также необходимо отметить личинок стрекоз, которые ниже впадения реки Балды входили в группу субдоминантов. Чувствительная группа поденок представлена ограничено (на створах 1, 3, 6, 8). Всего за период исследования было обнаружено видов и крупных таксонов – 176 (в 2002г. – 116, 2003 г. – 120, 2004 г. – 91).

Основную долю бентоса в пробах составляли: хирономиды (распространенные виды: *Chironomus plumosus* (Linnè), *Ch. obtusidens* Goetghebuer, *Cladotanytarsus* n. det., *Cryptochironomus defectus* Kieffer, *Dicrotendipes nervosus* (Staeger), *D. tritonus* (Kieffer), *Glyptotendipes glaucus* (Meigen), *Harnischia fuscimana* Kieffer, *Paralauterborniella nigrochaetralis* (Malloch), *Polypedium scalaenum* (Schrank), *P. tetracrenatum* Hirvenoja, *Procladius ferrugineus* Kieffer, *Stictochironomus crassiforceps* (Kieffer), *Tanytarsus verralli* (Goetghebuer)), мокрецы (*Mallochohelea inermis* Kieffer, *M. munda* (Loew), *Probezzia seminigra* (Panzer)), ручейники (*Brachycentrus subnubilus* Curtis, *Hydropsyche bulgaromanorum* Milick, *Neureclipsis bimaculata* Linnè), двустворчатые моллюски (*Amesoda draparnaldi* Clessin, *A. scaldiana* Normand, *Euglesa (Henslowiana) suecica* (Clessin in Westerlund), *Pisidium amnicum* (O. F. Müller)), брюхоногие моллюски (*Bithynia tentaculata* Linnè, *Valvata klinensis* Milachevitch, *V. piscinalis* (O. F. Müller)), олигохеты (*Limnodrilus hoffmeisteri* Claparède, *L. udekemianus* Claparède) и пиявки (*Helobdella stagnalis* (Linnè)). Реже встречались такие группы гидробионтов как нематоды, клещи, амфиподы, остракоды, жуки, клопы, слепни, мошки, болотницы, хабориды, лвынки, долгоножки и злаковые мухи.

Видовое разнообразие наиболее богато представлено хирономидами – 70 видов, моллюсками – 29 (в том числе брюхоногих – 16, двустворчатых – 13) и олигохетами – 17. Беднее видовой состав мокрецов (9), ручейников (8), стрекоз (8), мошек (7), поденок (5) и пиявок (5).

В подледный период высокие показатели общей численности (N) 9187 экз./м² и биомассы (B) 20.8 г/м² (за счет хирономид, индекс плотности – 80%) были отмечены на границе со Свердловской областью (створ 1). Далее в районе поселка Богандинское (створ 6) количественные показатели находились примерно на том же уровне: N – до 9100 экз./м², B – до 19.9 г/м² (хирономиды – 38%, моллюски – 26%), а в устье резко снижались на порядок: N – до 580 экз./м², B – до 1.8 г/м² (моллюски 36%, олигохеты 16%) (рис. 2).

Таким образом, по профилю реки происходила смена доминирующих групп, сначала руководящая группа хирономид заменялась моллюсками, а затем в устье и олигохетами. Наибольшее видовое разнообразие 50 видов было отмечено в районе ниже с. Богандинское (створ 6).

Общая биомасса и численность зообентоса в летний период на исследуемых участках реки Пышмы отличалась от зимних проб (рис.2). Так, максимальный показатель численности в открытый период (7772 экз./м², створ 6) был ниже максимальных зимних значений (9187 экз./м², створ 1), а биомассы (95.9 г/м², створ 6) наоборот выше в 5 раз. Подобное распределение объясняется сезонной динамикой зообентических групп, а именно низкой плотностью моллюсков зимой (4-36%) и преобладанием личинок хирономид на большинстве разрезов реки Пышмы (6393- 8060 экз./м²).

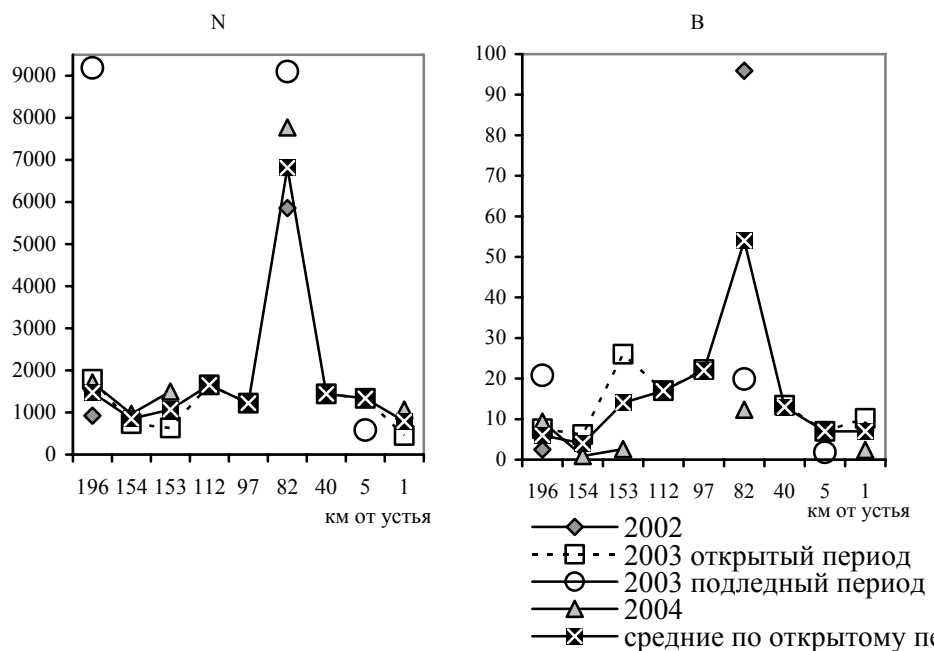


Рис. 2. Изменение общей численности (N) экз./м² и биомассы (B) г/м² макрозообентоса реки Пышмы в разные годы исследований.

В летний период наибольшие качественные и количественные показатели макрозообентоса были отмечены нами в районе с. Богандинское (6 створ), здесь количество видов изменялось в пределах 50-99, численность – 5858 - 7772 экз./м², биомасса – 12.3- 95.9 г/м² (за счет устойчивых видов хирономид, мокрецов, олигохет, брюхоногих и двустворчатых моллюсков). Повышенные показатели зообентоса на данном створе объясняется более широким сечением русла, заиленостью биотопов, затоплением в паводок сельхозугодий и накоплением в грунтах биогенов (минеральные формы азота, фосфора).

Повышение количественных показателей зообентоса отмечается также на разрезах ниже притоков реки Пышмы: р. Балда (N–1500 экз./м², B – 26.0 г/м²), р. Цинга (N– 1653 экз./м², B – 17.0 г/м²), р. Карга (N–1220 экз./м², B – 22.2 г/м²), р. Дуван (N–1440 экз./м², B –13.4 г/м²). На всех остальных разрезах показатели численности и биомассы колебались в следующих пределах: от 453 (створ 9) до 967 (створ 2) экз./м², от 0.9 (створ 2) до 10.2 (створ 9) г/м², соответственно. Исключение составляет участок реки расположенный на границе со Свердловской областью, где изменение численности происходило в пределах 924-1787 экз./м², за счет мелких форм хирономид (индекс плотности 25%) и олигохет (24%).

По показателям индекса плотности практически на всех створах доминантами или субдоминантами были две группы - хирономиды (10-95%) и моллюски (15-60%), причем хирономиды были доминантами на створах 1, 2, 6 и 9 в разные годы, а моллюски на створах расположенных ниже впадения притоков и в устье. Исключением являлись створы 1, 2 и 3 где наравне с перечисленными группами субдоминантами были олигохеты (створы 1, 2) и личинки стрекоз (створ 3).

Состояние реки оценивали по гидробиологическим показателям. Наибольшие показатели индекса разнообразия Шеннона по численности были отмечены ниже впадения р. Цинги (3.7 бит) и р. Дуван (3.5 бит) в открытый период, и ниже с. Богандинское (3.6 бит) в подледный период, на всех остальных разрезах значения изменялись в пределах (1.8-3.1 бит). При этом сообщество макрозообентоса характеризовалось высокой выровненностью $e = 0.6-0.8$. По биомассе значения Шеннона были ниже 0.9-2.5 бит, что связано с наличием в пробах крупных особей моллюсков, ручейников, стрекоз и следствием из этого широким колебаниями показателей индекса выровненности (e) 0.2-0.8. Высокие показатели индекса Вудивисса – 6-7 наблюдались в открытый период на разрезах -1, 3, 6 и 8 в подледный на разрезах 1 и 6, самый низкий (2) отмечен нами на разрезах 4 и 7. Значения индекса Гуднайта-Уитлея менялись в следующем диапазоне: повышенные показатели были отмечены на створах 2 (39.3-59.1%), 8 (41.9%) и 9 (45.2%), на всех остальных станциях оставались в пределах от 1% до 26%.

Таким образом, по гидробиологическим показателям верхний участок реки от границы Свердловской области до впадения р. Балда (створы 1,2) и нижний участок (створы 8,9) относится к

чистым – загрязненным водотокам. Весь средний участок ниже впадения р. Балда (створ 3) до впадения р. Дуван (створ 7) относится к чистому классу вод, исключение составляет левое побережье створа 4 (ниже р. Цинги) - умеренно загрязненные. Хотя именно в среднем участке реки наблюдается поступление со сточными водами целого спектра загрязняющих веществ (взвешенные вещества, аммоний, нитриты, нитраты, фосфаты, сульфаты, хлориды, калий, натрий, кальций, магний, железо, медь, алюминий, фтор, йод, бор, бром, нефтепродукты, СПАВ, АПАВ и фенолы).

Необходимо так же отметить, что, несмотря на относительно благоприятное состояние макрозообентического сообщества нижнего течения реки Пышма, в 2002 г. в пробах попадались личинки хирономид видов *Chironomus plumosus* (Linnè) и *Polypedilum tetracrenatum* Hirvenoja с уродствами центральной группы зубцов субментума и личинки мокрецов *Mallochohelea munda* (Loew) с ассиметричным развитием дорзальных гребней эпифаринкса.

Корреляционный анализ между содержанием загрязняющих веществ в воде, донных отложениях и показателями зообентоса реки Пышмы показал следующее. Достоверная положительная корреляция отмечается между концентрациями биогенов (ион аммония, фосфор), хлоридов, сульфатов и показателями зообентического сообщества - общей численностью, биомассой, количеством видов и групп донных гидробионтов, а также численностью и биомассой таких групп как хирономиды, олигохеты, моллюски и мокрецы. Повышение количественных показателей зообентоса обусловлено увеличением в сообществе доли эврибионтных видов (Алексеевнина, Буйдов, 1993; Яковлев, 1996). Так, увеличение минеральных форм азота положительно коррелировало с показателем численности устойчивых видов ручейников *Hydropsyche bulgaromanorum* Milick, *H. ornatula* McLachlan и *Neureclipsis bimaculata* (Linnè) ($r=0.52^*$), численностью ($r=0.56^{**}$) и биомассой поденок *Caenis horaria* (Linnè) ($r=0.53^*$) и олигохет ($r=0.50^*$ и 0.74^{***} соответственно). Положительно коррелировала биомасса (0.77^*) и численность (0.83^*) олигохет, биомасса моллюсков ($r=0.71^*$), биомасса ($r=0.76^*$) и плотность ($r=0.71^*$) мокрецов с содержанием марганца. Одновременно выровненность сообщества по численности находится в обратной зависимости от содержания марганца ($r=-0.71^*$). Концентрация нефтепродуктов в грунтах положительно коррелировала только с плотностью мокрецов ($r=0.48^*$).

Таким образом, складывается неоднозначная ситуация. С одной стороны воды и грунты реки Пышмы нижнего течения находятся под действием многостороннего хронического загрязнения, в 2002 г. среди хирономид и мокрецов отмечались уродства, наблюдались отрицательные корреляции выровненности сообщества с содержанием марганца. С другой, благодаря наличию большого количества притоков, происходит увеличение количественных и качественных показателей макрозообентоса, и вся средняя часть исследуемого водотока по гидробиологическим показателям относится к чистому классу вод, а наличие в составе зообентоса устойчивых, эврибионтных видов дает положительные корреляции по большому количеству показателей с концентрациями биогенов, хлоридов, сульфатов, марганца и нефтепродуктами.

Список литературы

- Алексеевнина М.С., Буйдов А.С. Состояние донных сообществ водотоков г. Перми как объект экомониторинга // Экол. безопас. зон градостроит. Агломераций Западного Урала: Тез. докл. семин. Пермь: Перм. гос. ун-т, 1993. С. 4-5.
- Атлас интегрированного управления водохозяйственной деятельностью в бассейне р. Туры. Екатеринбург: РосНИИВХ, 2001. 62 с.
- Лакин А.О. Биометрия. М.: Просвещение, 1980. 213 с.
- Лезин В.А. Реки Тюменской области. Тюмень, 1999а. 168 с.
- Лезин В.А. Реки Тюменской области (южные районы): Справочное пособие. Тюмень, 1999б. 196 с.
- Кравцова Л.С. Зообентос в системе гидробиологического мониторинга озера Байкал: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Иркутск: ИГУ, 1991. 20 с.
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах // Зообентос и его продукция. Л., 1983.- 52 с.
- Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир, 1975. 740 с.
- Ресурсы поверхностных вод СССР. Т. 11. Средний Урал и Приуралье. Л.: Гидрометеиздат, 1973. 848 с.
- Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Гидрометеиздат, 1983. 240 с.
- Унифицированные методы исследования качества вод. М., 1997. Ч. 3. Прил. 1. 91 с.
- Яковлев В.А. Динамика сообществ пресноводного зообентоса и зоопланктона субарктики в условиях различных антропогенных нагрузок: Материалы VII съезда Гидробиологического общества РАН. Казань: Полиграф, 1996. Т.1. С. 93-96.

ЛЕТОВАНИЕ – КАК ФАКТОР СТАБИЛИЗАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ

И.Ю. Киреева

*Национальный аграрный университет Украины
03041, ул. Героев Оборона, 15, г. Киев, Украина, cde@twin.nauu.kiev.ua*

В продукционных процессах рыбохозяйственных водоемов, в том числе и рыбоводных прудов, микроорганизмы играют очень большую роль (Антипчук, Киреева, 2005; Воронова, 1972; Гак, 1972; Дзюбан, 1998; Кузнецов, 1983; Родина, 1971). Высокие численность и скорость размножения бактерий способствуют созданию большого количества бактериального белка, который играет важную роль в балансе органического вещества водоемов и усваивается животными организмами следующих трофических уровней (Акимов, 1966, Антипчук, 1983; Горбунов и др., 1966; Ивлиева, 1975; Михеева и др., 1985; Новожилова, 1987; Олейник Г.Н, Старосила, 2005). Данных по изучению влияния летования на ход микробиологических процессов в рыбоводных прудах после их эксплуатации в режиме комплексной интенсификации (уплотненные посадки рыб, поликультура, кормление, удобрение) нами не обнаружены.

На производственном выростном пруду с интенсивной технологией выращивания рыбы на Чаганском рыбопитомнике Астраханской области в течение 3 лет изучались показатели тотального бактериопланктона: общая численность и биомасса, тип сезонной динамики, темп продуцирования микроорганизмов и влияние процесса летования на них. Контроль – источник водоснабжения. Показатели тотального бактериопланктона определялись по принятым в водной микробиологии методам (Антипчук, Киреева, 2005).

Анализ полученных данных показал, что сезонные изменения общей численности бактериопланктона обследованных водоемов соответствовали первому типу по классификации Вороновой Г.П.(1984) и характеризовались постепенным увеличением количества водных микроорганизмов от начала к окончанию вегетационного периода. Пик развития отмечался в августе-сентябре. При этом общая численность бактериопланктона за весь период наблюдений не превысила 28,42,3 млн. кл/мл, что в 2,0 раза больше, чем в контроле. В опытном пруду динамика общей численности бактерий совпадала с динамикой перманганатной окисляемости. При максимумах обеих величин отмечалась минимальная концентрация растворенного в воде кислорода (2,1 мг/л), но величина перманганатной окисляемости не превысила допустимых значений (13.4 млО/л). Наибольшие показатели численности бактерий совпали с максимальными показателями температуры воды (28⁰С). В первый год выращивания рыбы количество водных микроорганизмов варьировало в пределах 0,08-25,18 млн.кл/мл при среднесуточном показателе 10,24 млн.кл/мл. В течение двух последующих годов общее микробное число в воде пруда увеличилось незначительно – в среднем до 11,17 млн.кл/мл. При этом был достигнут упомянутый выше максимум численности бактериопланктона за весь период наблюдения, который отмечался в июле.

После трех лет интенсивной эксплуатации выростной пруд был выведен на летование. Полученные позже данные позволили оценить влияние летования на формирование микробиологического режима и продукционные показатели бактериопланктона. Так, после летования численность микроорганизмов в опытном водоеме не превысила 6,39 млн. кл/мл при 4,29 млн. кл/мл - в контроле. Пики общего количества микроорганизмов в воде совпали и пришлись на первую декаду августа. После летования динамика общей численности микроорганизмов в воде имела более плавный ход с сохранением ее типа.

Кроме численности, нами определялась и биомасса бактериопланктона- показатель, зависящий от климатических и региональных особенностей водоема, количества и видового состава зоопланктона и фитопланктона, скорости размножения и выедания бактерий, их численности и размеров.

В результате проведенных исследований установлено, что комплексная интенсификация оказывала прямое влияние на данный структурный показатель. Так, в опытном водоеме биомасса бактерий за весь период наблюдений изменялась от 0,02 г/м³ до 5,82 г/м³. Ее динамика повторила динамику общей численности бактериопланктона (1 тип продуцирования по классификации Романовой А.П., Гуринович Т.Г. (1983), а ее максимум приходился на конец июля – начало августа. При этом среднесезонная биомасса микроорганизмов в контроле составила 0,78 г/м³, что в среднем в 10 раз меньше, чем в экспериментальном пруду. В первый год эксплуатации производственного водоема среднесуточная биомасса микроорганизмов не опускалась ниже 2, 6 г/м³, что в 1,6 раза меньше, чем во второй год его использования.

После проведения процесса летования биомасса бактериопланктона в опытном пруду изменялась от 0,02 до 4,1 г/м³. Обнаружена закономерность – биомасса бактерий и ее концентрация в первой половине лета были ниже, чем во второй. Рост общего количества микроорганизмов в воде и их биомасса происходили за счет повышения содержания в воде легкорастворимого органического вещества (остатки кормов, экскременты рыб, растительные и животные остатки), роста температуры воды, отмирания животных и растений, которые создавали значительное количество питательных веществ для размножающихся микроорганизмов.

Общий ход продукционных процессов в изучаемых водоемах соответствовал 1 типу продуцирования бактериопланктона (Романова, 1987) за исключением тех дат, когда в опытном пруду в начале сезона экосистема водоема еще не была полностью сформирована и продукция равнялась нулю. Данный тип продуцирования характеризовался одинаковой скоростью роста и размножения бактериальных клеток. В первый год эксплуатации пруда максимальная суточная продукция бактериопланктона наблюдалась во второй декаде сентября и равнялась 7,82 г/м³. Суммарная за сезон бактериальная продукция составила 646,1 г/м³, что в 2,7 раза выше, чем в контроле. В следующий вегетационный период в контрольном водоеме показатели суточного прироста бактериальной массы практически не отличались от показателей предыдущего года, а суммарная продукция бактериопланктона возросла до 700,7 г/м³. Третий год постановки эксперимента характеризовался снижением показателей бактериальной продукции в опыте в 1,2 раза и приростом продукции в контрольном водоеме – до 2,17 г/м³. Суммарные значения продукции за сезон составили 630,12 г/м³ и 134,79 г/м³ соответственно. Полученные данные свидетельствуют о сокращении темпов продуцирования бактериопланктона по мере эксплуатации водоема, что можно отнести к защитной функции бактериального сообщества на применяемые интенсификационные мероприятия (Акимов, 1966; Киреева, Пономарева и др., 2006; Харитонов, 1984). После летования суточный прирост бактериальной продукции в опытном пруду снизился в 1,8 раза.

Для определения продуктивности водоема необходимо также учитывать и скорость размножения бактерий (время генерации), как основной показатель их жизнедеятельности, позволяющий судить о скорости воспроизводства бактериальной биомассы. Выявлено, что скорость процессов размножения бактерий неодинакова по годам: в первый год исследований в опытном пруду время генерации изменялось от 5,12 до 11,74 ч, а в контроле от 3,4 до 9,53 ч. В сезонном аспекте отмечалось увеличение скорости размножения от начала к середине вегетационного периода. Такой же была динамика увеличения численности бактериопланктона и во второй экспериментальный год. При этом среднесуточные значения увеличились как в опыте, так и контроле в среднем в 1,2 раза. В третий год исследований темп размножения бактерий несколько увеличился и среднесезонный показатель в опытном пруду составил 7,17 ч, а в контроле – 7,76 ч. При этом отмечался осенний пик повышения темпа размножения бактериопланктона, который объясняется поступлением в воду больших количеств легкодоступного органического вещества в результате отмирания фитопланктона и зарослей высшей водной растительности вдоль берегов, а также органического вещества аллохтонного происхождения, поступающего с ливневыми водами, несущими смыв с поверхностных почв.

Известно, что скорость оборачиваемости единицы биомассы бактериопланктона (Р/В-коэффициент) непосредственно связана со скоростью элиминации бактерий в водоеме (Родина, 1971). Следовательно, по величине суточных (Р/В-коэффициентов) судят об интенсивности выедания микроорганизмов.

Полученные нами данные позволили установить, что в первый год проведения эксперимента максимальная среднесуточный Р/В-коэффициент в производственном водоеме составил 4,44 и пришелся на первую декаду июня. Суммарный за сезон показатель оборачиваемости единицы биомассы микроорганизмов составил - 227,20. К третьему году суммарный Р/В-коэффициент вырос до 340,0. В контроле за весь период наблюдений средний Р/В-коэффициент не превысил 1,2. Общий характер темпа продуцирования бактериальной биомассы в обследованных водоемах таков: таков, что в начале периода вегетации он достигал своих максимальных показателей, к середине сезона происходило его снижение, а к окончанию периода выращивания рыбы вновь возрастал. В целом, можно сказать, что по мере увеличения общей численности бактериопланктона, Р/В-коэффициент имеет тенденцию к снижению, поскольку крупные бактерии размножаются медленнее. После летования значение Р/В-коэффициента снизилось в производственном пруду до 1,18 при суммарном за сезон показателе – 176,14.

Таким образом, анализ микробиологических показателей в обследованных водоемах позволил выявить изменения основных показателей тотального бактериопланктона в течение всего периода наблюдений, определяющихся сложным комплексом биотических и абиотических факторов, главным

из которых, являлось количество органического вещества, в основном аллохтонного происхождения. Именно аллохтонная органика определяла тип сезонной динамики общей численности бактериопланктона, его продуцирования, а также показателей его биомассы и скорости размножения. Многолетняя высокая антропогенная нагрузка на производственный выростной водоем оказывало тормозящее действие как на темп продуцирования, так и на скорость оборачиваемости биомассы водных микроорганизмов. Суточная бактериальная продукция возрастала от начала периода вегетации к его окончанию, что можно объяснить накоплением органического вещества, в основном аллохтонного происхождения. По показателям времени удвоения численности бактерий обследованные водоемы можно отнести к категории эвтрофных. Полученные данные необходимо учитывать при планировании интенсификационных мероприятий в процессе выращивания молоди рыб, поскольку высокий антропогенный пресс на экосистему рыбоводных прудов приводит к ухудшению экологической ситуации в водоеме, что непременно отразится на качестве рыбопосадочного материала.

Процесс летования позволил стабилизировать интенсивность бактериальной активности и экологическую ситуацию в водоеме.

Список литературы

- Акимов В.А. Общая численность микроорганизмов в воде рыбоводных прудов при интенсивном удобрении и кормлении рыб. // Тр. ВНИИПРХ., XIV. – М.: Пищ. пром., 1966. – С. 17-23.
- Антипчук А.Ф. Микробиология рыбоводных прудов. // М.: Пищ. пром. – 1983.- 145 с.
- Антипчук А.Ф., Киреева И.Ю. Водна мікробіологія. // Київ, Кондор, 2005.- 324 с.
- Воронова Г.П. Продуктивность бактериопланктона в прудах // Тр. БЕЛНИИРХ. – Минск: Ураджай, 1972. – С. 109-118.
- Гак Д.З. Бактериопланктон и его роль в биологической продуктивности водохранилищ. // Киевское водохранилище. – Киев, Наукова думка, 1972. – С. 291-307.
- Горбунов К.В., Сокольский А.Ф., Тамразова Н.И. Соотношение продукции фитопланктона, бактериопланктона и рыбопродуктивности в рыбохозяйственных водоемах дельты Волги // Экология, 1979. – №3. – С. 61-63.
- Дзюбан А.Н и др. Бактериопланктон Угличского водохранилища // Биология внутренних вод. – 1998. – №2. – С.29-31.
- Ивлиева Е.Я. Численность и продукция бактерий в рыбоводных прудах при различных плотностях посадки карпа // Тр. ВНИИПРХ, 1975. – XXIV. – С. 128-135.
- Киреева И.Ю., Пономарева Е.Н., Пономарев С.В., Ба Мохаммед Ламин . Биологическая оценка продуктивности водоемов аридных территорий для развития тепловодной и тропической аквакультуры.. – Астрахань, АГТУ, 2006. – 155 с.
- Кузнецов Е.А. Бактериопланктон в каскаде рыбоводных прудов с зависимым водоснабжением // Науч. докл. высш. шк. Биол. Науки. – 1983 - №7. – С. 74-78.
- Михеева И.В., Федорченко В.И., Михеев П.В. Микробиологические процессы в интенсивно эксплуатируемых рыбоводных прудах // Структура функционального сообщества микроорганизмов. – Новосибирск: Сиб. Отд. – 1986. – С. 130-125.
- Новожилова М.И., Сокольский А.Ф., Горбунов К.В. Микрофлора и удобрение прудов аридной зоны СССР. - Алма-Ата, Наука, 1987. - 151 с.
- Олейник Г.Н., Старосила Е.В. Микробиологическая характеристика водоемов с высокой антропогенной нагрузкой // Гидробиол. жур., 2005- №4.- С. 15-17.
- Родина А.Г. Продукционная микробиология пресных водоемов // Тр. ВГБО АН СССР. – 1971. – Т.16. – С. 17-22.
- Романова А.П., Гуринович Т.Г. О соотношении численности и биомассы бактериопланктона при расчете его продукции // Тр. ГОСНИОРХ. – Л. – 1983. – Вып. 196. – С. 72-80
- Романова А.П. Характеристика бактериопланктона эксплуатируемых выростных прудов УЭС «Ропша» // Тр. ГОСНИОРХ – 1987. – № 2. – С. 67-76
- Романова А.П., Гуринович Т.Г. О соотношении численности и биомассы бактериопланктона при расчете его продукции // Тр. ГОСНИОРХ. – Л. – 1983. – Вып. 196. – С. 72-80
- Харитонов Н.Н. Биологические основы интенсификации прудового рыбоводства, Киев: Наукова думка. – 1984. – 193 с.

РЕАКЦИЯ ПЛАНКТОННЫХ ЖИВОТНЫХ (ROTATORIA, CRUSTACEA) НА ОРГАНИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

О.Н. Кононова

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

*167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, Республика Коми, Россия,
kon@ib.komisc.ru*

Территория Республики Коми покрыта густой сетью малых рек. Общее число этих водотоков определяется десятками тысяч (Зверева и др., 1955), однако до настоящего времени целенаправленных работ по их изучению практически не проводилось. Между тем известно (Крылов, 2005; Экологическое состояние..., 2003; Экосистема..., 2007), что именно малые реки в значительной степени определяют гидрологический режим и качество воды в крупных и средних водотоках и все изменения в режиме малых рек непременно отражаются на всей гидрографической цепи.

Целью настоящей работы было проследить изменение структурных компонентов зоопланктона в условиях органического загрязнения, на примере р. Важелью (бассейн р. Вычегда).

Река Важелью, приток р. Вычегда II порядка, относится к категории самых малых (Фильчаков и др., 1989), ее протяженность не превышает 25 км. Отбор гидробиологического материала проводили в июне-июле 2005 г. и в мае-августе 2006 г. на трех станциях р. Важелью - в верхнем течении (станция 1), среднем течении (станция 2) и нижнем течении (станция 3). На станции 2 на водоток оказывают влияние стоки птицефабрики, расположенной на ее левом берегу. Подробное описание мест отбора гидробиологических проб приведено в работе (Кононова и др., 2008). Пробы зоопланктона отбирали по общепринятой методике, процеживанием воды через планктонную сеть Апштейна (газ № 70). Камеральную обработку осуществляли в лабораторных условиях (Методика изучения..., 1975). Индивидуальный вес организмов зоопланктона рассчитывали по формулам (Балушкина, Винберг, 1979; Руттнер-Колиско, 1977). Доминантные виды зоопланктона выделяли по относительной численности отдельно в таксономических группах ракообразных и коловраток (Лазарева и др., 2001).

Видовое разнообразие зоопланктеров на всех исследованных станциях было сходным - 29-30 видов. На всем протяжении реки по численности и биомассе преобладали веслоногие раки (рис. 1), лишь в нижнем течении реки возрастала плотность коловраток. Ветвистоусые раки имели второстепенное значение.

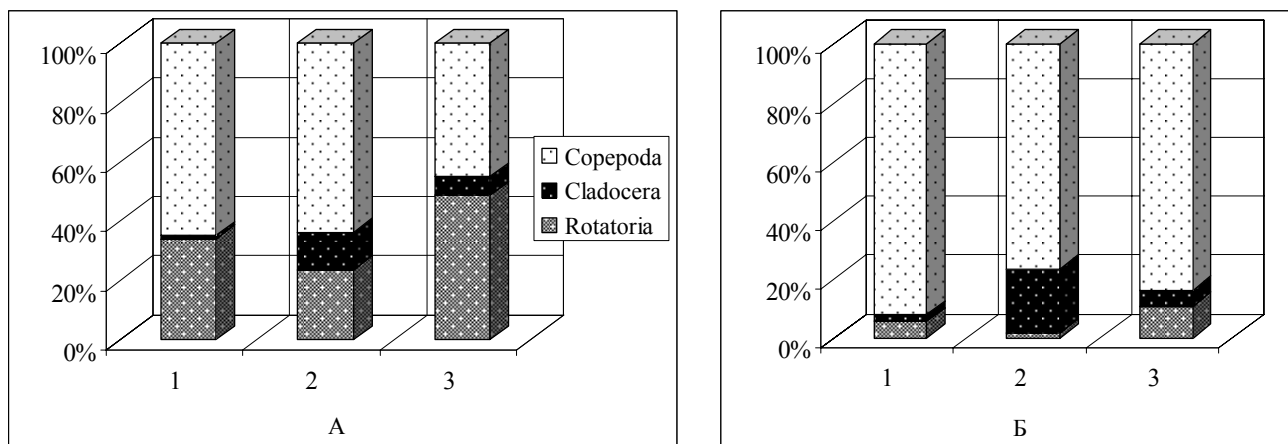


Рис. 1. Относительное обилие (А) и биомасса (Б) групп зоопланктона на исследованных участках верхнего (1), среднего (у птицефабрики) – 2 и нижнего (3) течений р. Важелью (2005-2006 гг.).

Достоверных отличий в распределении обилия планктонных животных по направлению стока реки выявлено не было. Наибольшие показатели численности и биомассы зоопланктона были зафиксированы в нижнем течении реки (рис. 2).

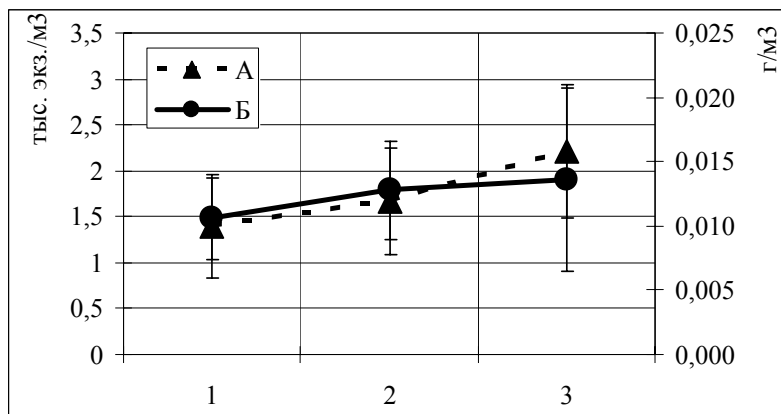


Рис. 2. Численность (А) и биомасса (Б) зоопланктона на исследованных участках верхнего (1), среднего (у птицефабрики) – 2 и нижнего (3) течений р. Важелью (2005-2006 гг.).

Высокие показатели плотности зоопланктона здесь образуют веслоногие раки и коловратки – более 93% (рис. 1, А). Среди рачков доминировали *Eucyclops macrurus* (Sars) (0.06 ± 0.03 тыс. экз./м³), *Chydorus sphaericus* (Müller) (0.07 ± 0.04 тыс. экз./м³) и *E. serrulatus* (Fischer) (0.006 ± 0.003 тыс. экз./м³). Многочисленными были копеподиты и науплии, более 55% численности рачков. В ротаторном сообществе доминировали представители рода *Euchlanis* – *E. deflexa* Gosse (0.29 ± 0.15 тыс. экз./м³), *E. dilatata* Ehrenberg (0.19 ± 0.09 тыс. экз./м³), *E. meneta* Myers (0.19 ± 0.12 тыс. экз./м³), *Cephalodella gibba* (Ehrenberg) (0.13 ± 0.06 тыс. экз./м³) и животные отряда Bdelloida (0.16 ± 0.08 тыс. экз./м³). Биомассу зоопланктона на 84% формировали веслоногие раки (рис. 1, Б), в основном за счет *Eucyclops macrurus* и *E. serrulatus*, порядка 45% биомассы копепод образовывали их неполовозрелые формы. Проведенный корреляционный анализ численности групп зоопланктона от химического состава вод в нижнем течении выявил, что обилие зоопланктеров находился в тесной зависимости от биогенных элементов и концентрации тяжелых металлов (табл. 1). Хотя наличие высоких концентраций железа и типично для северных рек, оно отрицательно сказывается на развитии планктонных животных. В целом, влияние тяжелых металлов на зоопланктон проявляется в большей степени в нижнем течении, что вероятно связано с аккумулятивными процессами, которые здесь наиболее интенсивны (Власова, 1988).

Таблица 1. Коэффициенты корреляции численности групп зоопланктона от показателей качества воды в нижнем течении р. Важелью

Элемент	Cladocera	Copepoda	Rotatoria	Весь зоопланктон
Азот общий	-0.19	-0.84	-0.57	-0.70
Железо	-0.50	-0.86	-0.83	-0.90
Медь	-0.61	-0.53	-0.72	-0.71
Хром	-0.56	-0.88	-0.89	-0.96
Цинк	-0.79	0.28	-0.45	-0.25

Примечание: здесь и далее жирным шрифтом выделены значения, соответствующие интервалу доверительной вероятности $P = 0.95-0.99$.

В верхнем течении реки были зафиксированы наименьшие показатели численности и биомассы планктона (рис. 2). В рачковом планктоне доминировали *Eucyclops macrurus* (0.06 ± 0.03 тыс. экз./м³) и *Paracyclops fimbriatus* (Fisher) (0.03 ± 0.02 тыс. экз./м³). Многочисленны здесь также и ювенильные формы веслоногих – более 60%. Среди коловраток доминируют те же *Euchlanis dilatata* (0.08 ± 0.04 тыс. экз./м³), *E. meneta* (0.10 ± 0.06 тыс. экз./м³) и *E. deflexa* (0.02 тыс. экз./м³), *Cephalodella gibba* (0.03 ± 0.01 тыс. экз./м³), многочисленны животные отряда Bdelloida (0.02 ± 0.01 тыс. экз./м³). Обилие доминирующих видов определялось высоким содержанием взвешенных веществ ($r = 0.71 - 0.80$), количеством биогенных элементов – железа ($r = 0.72 - 0.75$), аммонийного азота ($r = 0.71 - 0.80$), фосфат-ионов ($r = 0.73 - 0.79$) и pH ($r = 0.73 - 0.79$). Не высокие, по сравнению с нижним течением, показатели минерализации воды ($P < 0.025$) благоприятно влияли на развитие гидробионтов ($r = 0.71 - 0.80$). Концентрация цинка в верхнем течении была в 1.7 раза выше, чем в нижнем, что положительно влияло на обилие видов-эдификаторов ($r = 0.78 - 0.79$). Отрицательное влияние на

численность зоопланктона оказывали наличие в водах верхнего течения реки свинца ($r = -0.73 - -0.76$), количество легко окисляющихся органических веществ ($r = -0.72 - -0.76$) и достоверно ($P < 0.025$) более высокие показатели цветности ($r = -0.72 - -0.75$), которые в среднем за сезон характеризуют воды верхнего течения как мезополигуменные (Китаев, 2007).

В среднем течении реки располагается птицефабрика, стоки которой периодически попадают в р. Важелью. По численности, наряду с половозрелыми раками рода *Eucyclops* – *E. macrurus* (0.05 ± 0.02 тыс. экз./м³) и *E. serrulatus* (0.02 ± 0.01 тыс. экз./м³), науплиусами и копеподами Cyclopoida (42%), доминировал *Chydorus sphaericus* (0.15 ± 0.07 тыс. экз./м³). В коловраточном ценозе среднего течения реки, как и на всем ее протяжении доминировали *Euchlanis meneta* (0.04 ± 0.01 тыс. экз./м³), *E. deflexa* (0.02 ± 0.01 тыс. экз./м³) и *E. dilatata* (0.03 ± 0.02 тыс. экз./м³), *Cephalodella gibba* (0.08 ± 0.06 тыс. экз./м³), *Notholca acuminata* (Ehrenberg) (0.06 ± 0.04 тыс. экз./м³). В биомассе планктона, возрастала роль ветвистоусых раков (рис. 2), однако в целом, более 47% биомассы формировали крупные веслоногие раки – *Eucyclops macrurus*, *E. serrulatus* и *Paracyclops fimbriatus* и порядка 30% – их молодь. Обилие планктонных организмов здесь положительно зависело от pH, цинка и взвешенных веществ (табл. 2). Последнее благотворно влияло на развитие вторичных фильтраторов – хидорид, специализированной группы ветвистоусых, обитающих преимущественно в литорали, в богатых детритом биотопах. На развитие коловраток позитивно влияли температура воды и содержание в воде растворенного кислорода. Отрицательное воздействие оказывали высокие концентрации органических веществ, аммонийного азота, поступающего в водоток со стоками птицефабрики, свинца и алюминия.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции численности групп зоопланктона от показателей качества воды в среднем течении р. Важелью (у птицефабрики).

Показатель	Cladocera	Copepoda	Rotatoria	Весь зоопланктон
Температура	0.37	0.36	0.80	0.42
pH	0.73	0.69	0.70	0.76
Аммоний-ион	-0.35	-0.17	-0.88	-0.28
Алюминий	-0.47	-0.26	-0.90	-0.38
Свинец	-0.57	-0.35	-0.73	-0.47
Цинк	0.73	0.75	0.54	0.80
ХПК	-0.46	-0.22	-0.88	-0.35
Взвешенные вещества	0.76	0.79	0.64	0.84
Цветность	-0.50	-0.34	-0.91	-0.45
Кислород, % *	0.34	0.15	0.88	0.26

Примечание: «*» – растворенный в воде кислород получили расчетным методом по зависимости содержания кислорода от цветности (Китаев, 2007).

Видовой состав зоопланктона на исследованных станциях был достаточно сходен, индекс общности фаун Чекановского-Сьеренсена составил от 0.62 до 0.66 (Песенко, 1982).

Большая степень загрязнения была зафиксирована на участке, расположенном в зоне действия стоков птицефабрики (индекс сапробности был равен 1.6), воды реки здесь характеризовались как β-мезо-сапробные (Макрушин, 1974). В верхнем и нижнем течении воды реки можно отнести к олиго-сапробным (индекс сапробности на обеих станциях составлял 1.4). Необходимо отметить, что на всех исследованных участках реки присутствовали виды-индикаторы α-β- и β-сапробной зоны, однако обилие последних возрастает в зоне воздействия стоков птицефабрики, что подтверждает тот факт, что внешнее воздействие приводит к замещению уязвимых видов более устойчивыми (толерантными), доля которых в общей численности повышается в сравнении с долей замещенных видов (Восстановление и охрана..., 1989).

Список литературы

- Балушкина Е.В., Винберг Г.Г. Зависимость между длиной и массой тела планктонных ракообразных // Экспериментальные и полевые исследования биологических основ продуктивности озер. – Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1979. – С. 58-72.
- Власова Т.А. Гидрохимия главных рек Коми АССР. – Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН АН СССР, 1988. – 152 с.
- Восстановление и охрана малых рек: Теория и практика. – М.: Агропромиздат, 1989. – 317 с.
- Зверева О.С., Кучина Е.С., Соловкина Л.Н. Рыбные богатства Коми АССР и пути их освоения. –

Сыктывкар: Коми книжное изд-во, 1955. – 106 с.

Китаев С.П. основы лимнологии для гидробиологов и ихтиологов. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – 395 с.

Кононова О.Н., Батурина М. А., Тетерюк Б.Ю. Гидробиология малых рек бассейна средней Вычегды // Разнообразие и пространственно-экологическая организация животного населения европейского Северо-Востока. – Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН, 2008. – С. 81-100.

Крылов А.В. Зоопланктон равнинных малых рек. – М.: Наука, 2005. – 263 с.

Лазарева В.И., Лебедева И.М., Овчинникова Н.К. Изменение в сообществе зоопланктона Рыбинского водохранилища за 40 лет // Биология внутренних вод. – 2001. – №4. – С. 62-73.

Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод. – Л.: ЗИН АН СССР, 1974. – 60 с.

Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. – М.: Наука, 1975. – 189 с.

Песенко Ю.А. принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 288 с.

Фильчаков Л.П., Полищук В.В. Возрождение малых рек. – Киев: Урожай, 1989. – 184 с.

Экологическое состояние малых рек Поволжья. – М.: Наука, 2003. – 389 с.

Экосистема малой реки в изменяющихся условиях среды. – М.: Т-во науч. изданий КМК, 2007. – 372 с.

Ruttner-Kolisko A. Suggestions for biomass calculation of plankton rotifers // Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. – Struttgart, 1977. – H.8. – P. 71-76.

ЗООБЕНТОС РЕК В ЗОНЕ ЗАЩИТНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ОБЪЕКТА ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ «МАРАДЫКОВСКИЙ» (КИРОВСКАЯ ОБЛ.)

Т.И. Кочурова

*Региональный центр государственного экологического контроля и мониторинга
610005, г. Киров, ул. Профсоюзная, 90 – 60, Россия, kochurovati@mail.ru*

Одной из важнейших экологических проблем Кировской области является проблема уничтожения химического оружия. На авиационной базе пос. Марадыковский в 60 км западнее областного центра с 1953 года хранились боеприпасы, снаряженные фосфорорганическими отравляющими веществами (ОВ) типа зарин, зоман, V_x , а также вещества кожно-нарывного действия – двойной ипритно-люизитной смесью. Здесь сосредотачивалось 17.4 % общих запасов химического оружия страны. В сентябре 2006 г. на территории области введен в действие объект по уничтожению химического оружия (ОУХО). Расстояние от промплощадки объекта до р. Вятки, главной водной артерии Кировской области, составляет 2.7 км (Ашихмина, 2002). Программа комплексного экологического мониторинга в зоне защитных мероприятий (ЗЗМ) объекта по уничтожению химического оружия включает исследование зообентосных сообществ, как одной из подсистем, служащей надежным индикатором долговременных процессов трансформации водных биоценозов под влиянием антропогенного фактора.

Цель работы – изучение бентосных сообществ реки Вятка и ее левобережного притока р. Погиблицы в зоне возможного влияния ОУХО «Марадыковский».

Исследования проводились в период строительства объекта (2005 г.), проведения пусконаладочных работ (сентябрь 2006 г.), а также во время функционирования его первой очереди по детоксикации ОВ (2007 г.). Материалом для работы послужили 36 количественных и 20 качественных проб зообентоса, отобранных на шести станциях сети систематического наблюдения. На шестидесятикилометровом участке р. Вятка, попадающем в ЗЗМ ОУХО, было заложено 5 станций: ст. 128 – самая верхняя (фоновая), ст. ЗМИ (зона международной инспекции) – выше устья р. Погиблицы, ст. 79 – в 1 км ниже устья р. Погиблицы, ст. 122 – ниже слияния старого и основного русел р. Вятка, ст. 146 – самая нижняя (контрольная). Одна станция (ст. 66/1) располагалась в устье р. Погиблицы, являющейся водоприемником сточных вод с очистных сооружений п. г. т. Мирный и воинской части. Нумерация станций дана в соответствии с единой схемой комплексного мониторинга территории ЗЗМ. ОУХО по использованию воды в производственных целях относится к предприятиям замкнутого цикла. Хозяйственно-бытовые стоки с объекта наряду со стоками п.г.т. Мирный и воинской части поступают на очистные сооружения и далее в р. Погиблицы.

Донные отложения исследуемых рек, в основном, были представлены песками с разной степенью заиления. На станциях 128 и 146 преобладали каменисто-песчаные грунты. Пробы зообентоса отбирались ежегодно в августе-сентябре, в период наиболее активного функционирования донных биоценозов. Отбор проб проводили гидробиологическим скребком и

штанговым трубчатым дночерпателем Мордухай-Болтовского по стандартным методикам (Руководство..., 1983; Руководство..., 1982) На каждой станции отбирали по 2 количественных и 1 качественной пробе. Далее их промывали с помощью сита из мельничного газа № 23 и фиксировали 4%-ным формалином. В зависимости от таксономической группы беспозвоночных определяли до уровня вида, рода, семейства, отряда или класса. Использовали микроскопы МБС-10, Микмед-1 и определители, указанные в списке литературы. Представителей отрядов Odonata, Ephemeroptera, Plecoptera и Trichoptera по возможности определяли до вида.

Для характеристики состояния донных биоценозов использовали показатели: число видов (S), численность (N , тыс. экз./м²) и биомасса (B , г/м²). При определении качества поверхностных вод применяли индексы Вудивисса (BI) (Вудивисс Ф., 1977; Руководство..., 1983), олигохетный индекс Гуднайта и Уитлея (No/Nc) (Руководство..., 1983; ГОСТ 17.1.3.07-82), Балушкиной (Kch) (Балушкина, 1976). Степень структурированности водных биоценозов оценивали по индексу Шеннона (H) (Константинов, 1986). При статистической обработке результатов 2005 г. проанализированы парные корреляции структурных характеристик зообентоса (количество видов, численность, биомасса) и рассчитанных на их основе индексов (BI , No/Nc , Kch) с 21 гидрохимическими характеристиками и 10 показателями донных отложений. Достоверность корреляционной связи оценивали при $p = 0.05$ (Гланц, 1998).

В результате исследований обнаружена 21 группа зообентоса: Hydrida, Nematoda, Oligochaeta, Hirudinea, Mollusca, Cladocera, Copepoda, Ostracoda, Isopoda, Hydrachnidia, Heteroptera, Collembola, Odonata, Plecoptera, Ephemeroptera, Coleoptera, Trichoptera, Chironomidae, Ceratopogonidae, Simuliidae и прочие Diptera. На всех участках встречены олигохеты, остракоды, копеподы, кладоцеры и личинки хирономид. Широкое распространение имели нематоды, водяные клещи, личинки поденки рода *Heptagenia* Walsh. Представители этих групп отсутствовали лишь в устье р. Погиблицы. Высокая встречаемость отмечена для мелких двустворчатых моллюсков и клопов из сем. Corixidae. По биомассе доминировали моллюски и хирономиды. На каменистых грунтах фоновой и контрольных станций р. Вятка к числу доминантов присоединялись ручейники, поденки и пиявки. В 2006-07 гг. в состав доминирующих групп вошли олигохеты. Численно преобладали хирономиды и олигохеты.

На исследованной территории установлено обитание 118 таксонов донных беспозвоночных, относящихся к 5 типам. Количество таксонов в общих точках наблюдения (ст. 128, 79, 122, 66-1, 146) за период с 2005 по 2007 гг. несколько возросло: в 2005 их отмечалось 66, в 2006 – 70, в 2007 – 74.

Встречено 16 видов - индикаторов сапробности. На долю олиго- и β - мезосапробов в отдельные годы приходилось от 53 % до 64 %. Качественный состав видов - индикаторов в течение трех лет во многом был сходен, за исключением устья р. Погиблицы (ст.66-1), где в 2007 г. отмечено массовое размножение полисапробного вида *Tubifex tubifex* (Müller). Это свидетельствует о наличии органического загрязнения на данном участке.

Количественные характеристики зообентоса р. Вятка представлены графически (рис. 1-3). При анализе динамики отслеживаемых показателей в 2006 отмечен рост числа видов на верхних станциях (128, 79), в то время как на нижних (122, 146) оно оставалось практически неизменным. В 2007 г. на ближайших к объекту станциях (ЗМИ, 79) этот показатель резко снизился, а на станциях 122 и 146 зафиксирован его рост. Т.е. за время строительства и функционирования ОУХО происходило вначале увеличение, а затем сокращение числа видов зообентоса. По имеющимся в литературе сведениям зависимость S от степени загрязнения не является линейной, вначале отмечается увеличение данного показателя и лишь при дальнейшем усилении антропогенного пресса – снижение (Балушкина, 1997; Шитиков и др., 2003).

Исследованиями ряда авторов (Балушкина, 2004) число видов в сообществе донных животных признается одной из самых уязвимых характеристик и показывает зависимость от наибольшего числа гидрохимических параметров. По нашим исследованиям для количества видов установлены значимые отрицательные корреляции с семью гидрохимическими показателями: БПК₅, БПК полное, индекс загрязнения воды, аммонийный и нитритный азот, сульфаты и фосфор фосфатов.

Численность зообентоса в р. Вятка колебалась от 2.1 тыс. экз./м² до 34.2 тыс. экз./м². Среднее значение данного показателя на протяжении трех лет несколько уменьшилось (с 13.2 тыс. экз./м² до 11 тыс. экз./м²). Минимальная численность отмечалась на ст. 79, располагающейся ниже впадения р. Погиблицы.

Биомасса зообентоса составляла от 0.9 г/м² до 381.9 г/м². В целом для наблюдаемого участка отмечено увеличение среднего значения биомассы с 28.3 г/м² в 2005 г. до 162.3 г/м² в 2007 г. (без учета крупных двустворчатых моллюсков – до 56.4 г/м²). Рост данного показателя, в основном, обусловлен увеличением массы моллюсков, выходом их в доминирующую группу, что является

нормальным для бентосных сообществ р. Вятка. Следует также отметить, что в 2007 г. более низкие значения биомассы установлены на средних станциях (ст. 3МИ и 79).

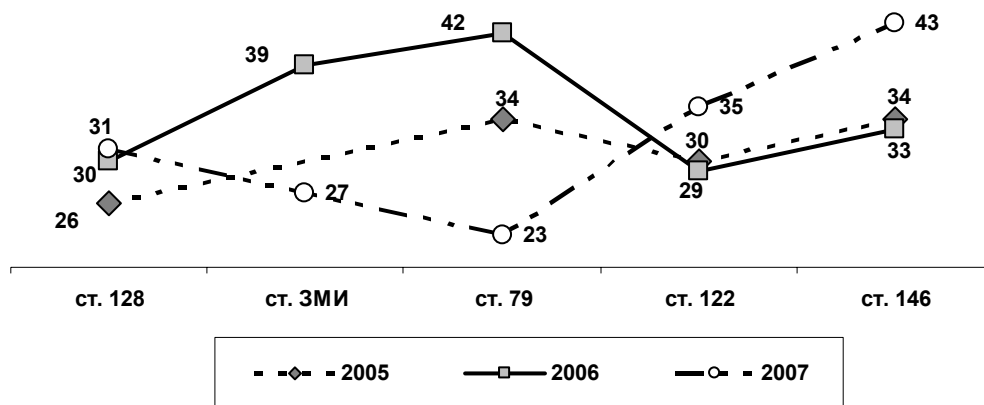


Рис. 1. Число видов зообентоса (S) на участке р. Вятка в 3ЗМ ОУХО

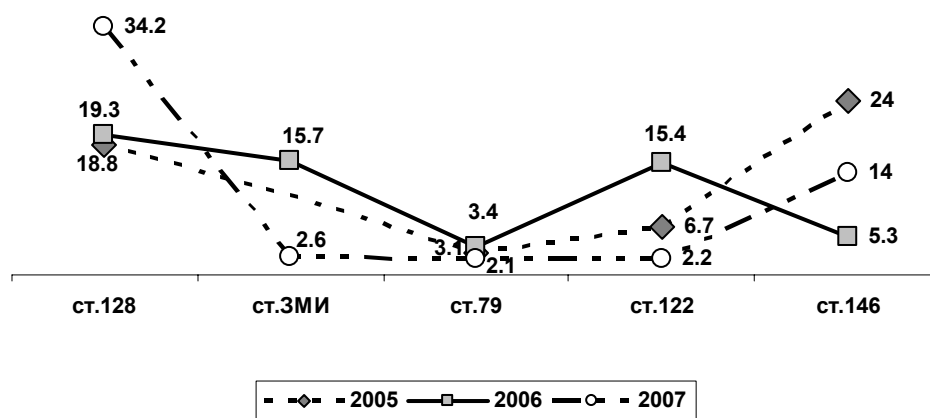


Рис. 2. Численность зообентоса (N , тыс. экз./м²) на участке р. Вятка в 3ЗМ ОУХО

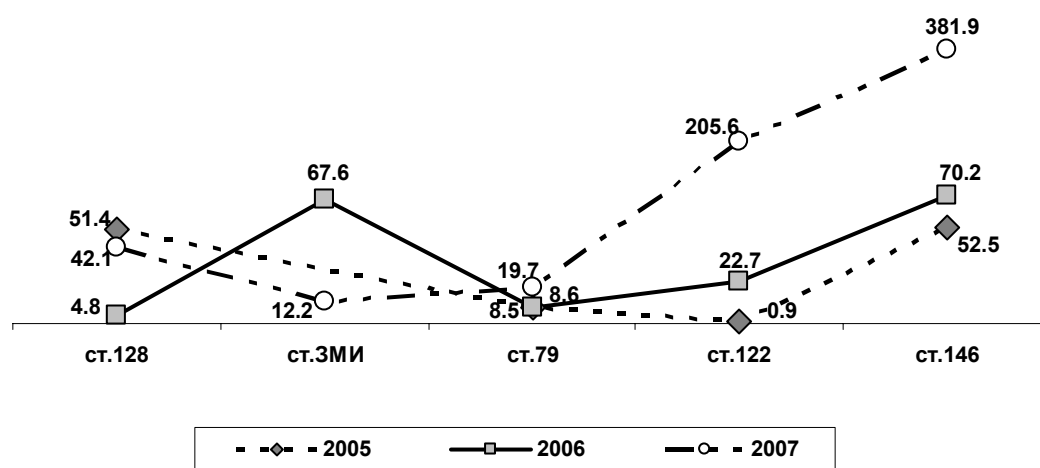


Рис. 3. Биомасса зообентоса (B , г/м²) на участке р. Вятка в 3ЗМ ОУХО

По результатам биоиндикационной оценки с использованием индекса Вудивисса воды р. Вятка на протяжении всего периода наблюдения характеризовались вторым классом качества (чисто). Индекс Балускиной на большинстве станций соответствовал классу умеренно загрязненных вод,

однако по годам в пределах указанного класса отмечен рост среднего значения Kch (2005 г. – 2.1, 2006 г. – 3.4, 2007 г. – 4.3).

Олигохетный индекс также проявил тенденцию к увеличению (рис. 4). В 2005 г. он соответствовал I – II классам качества воды. В 2006 г. установлен рост No/Nc на протяжении всего участка р. Вятка до значений II – IV классов. В 2007 г. на средних станциях продолжалось нарастание No/Nc с максимальным значением (V класс, грязно) на ст. 79. Динамика олигохетного индекса свидетельствует об усилении степени органического загрязнения и эвтрофикации р. Вятка в ЗЗМ ОУХО.

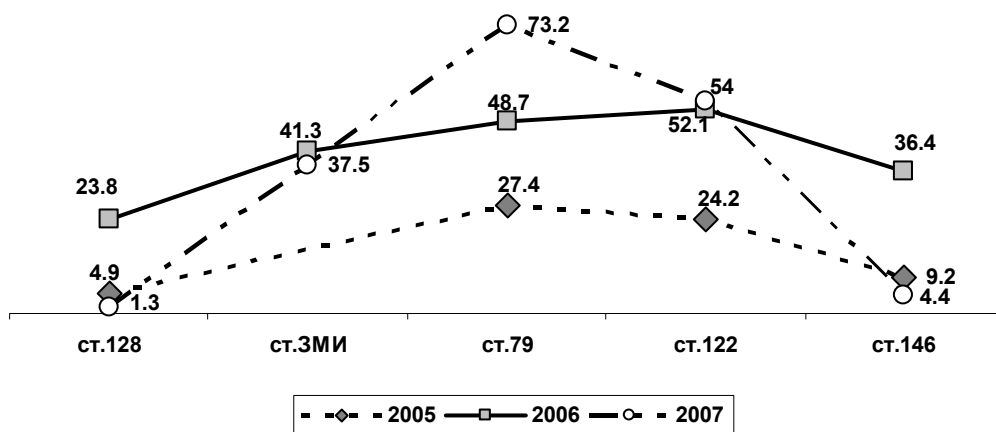


Рис. 4. Значения олигохетного индекса на участке р. Вятка в ЗЗМ ОУХО, %

При оценке видового разнообразия водных экосистем с использованием индекса Шеннона наблюдалось снижение данного показателя по годам (рис. 5), что свидетельствует об упрощении структурной организации донных биоценозов.

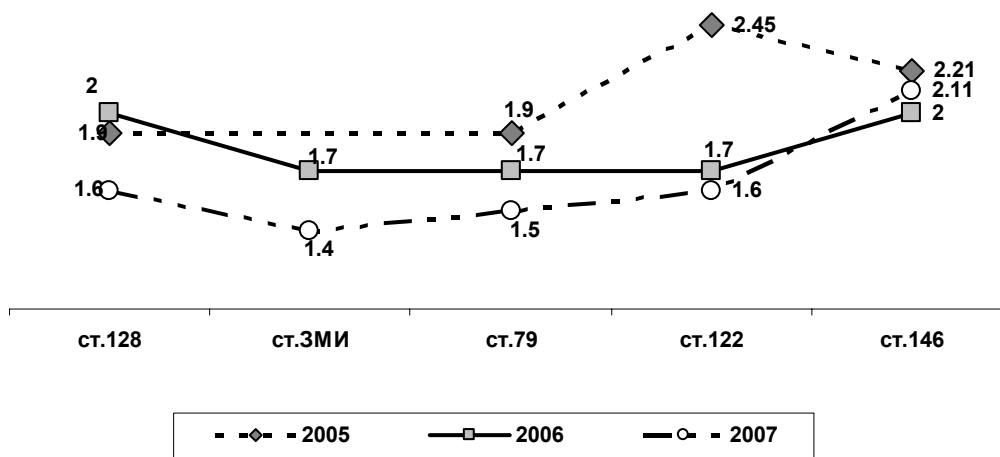


Рис. 5. Динамика индекса Шеннона (бит/экз.) на участке р. Вятка в ЗЗМ ОУХО

В р. Погиблиця на ст. 66-1, расположенной в двух километрах ниже выпуска сточных вод, условия обитания бентосных организмов за время наблюдения существенно изменились. Изначально этот участок характеризовался быстрым течением, низкой температурой воды, наличием песчаных грунтов, присутствием в бентосе олиго- и β - мезосапробных видов. В период летне-осеннего сезона 2007 г. из-за высокого уровня воды в р. Вятка произошло подпруживание устья р. Погиблиця, что послужило причиной замедления течения и заилиения дна. Накоплению ила на дне реки также могло способствовать поступление загрязняющих веществ, в т.ч. соединений азота и фосфора, превышение которых нередко отмечалось ниже выпуска сточных вод. Иловые массы на дне реки имели черный цвет и неприятный запах, что свидетельствует о преобладании в них восстановительных процессов. Подобная ситуация часто бывает обусловлена поступлением аллохтонной органики, с переработкой

которой водоем не справляется. Изменившиеся абиотические факторы повлекли перестройки в бентосном сообществе. Биомасса возросла с ничтожно малых значений до 7.3 г/м². Численность также увеличилась с 1.5 до 7.1 тыс. экз./м². Ведущее место в видовой структуре заняли представители пелофильной фауны. Как по численности, так и по биомассе преобладали олигохеты, составляя соответственно 77.5 % и 75.1 %.

Индекс Вудивисса составил 6 баллов, что соответствовало 3 классу качества воды (умеренно загрязненный водоем). Индекс Балушкиной равнялся 5.1 и также характеризовал реку как умеренно загрязненную. Олигохетный индекс, в сравнении с предшествующими годами, вырос до значений пятого класса (грязно). Можно говорить о полной смене бентосного сообщества в устье р. Погиблица и ухудшении биоиндикационных показателей.

Статистический анализ выявил наличие парных корреляций между структурными характеристиками зообентоса рек ЗМ ОУХО с химическим составом донных отложений. Установлено, что изменения, происходящие в бентосных сообществах, в наибольшей степени связаны с концентрациями мышьяка и хлорид-иона. Выявлена обратная зависимость биомассы от данных показателей. Индекс Балушкиной с их увеличением достоверно возрастал.

Таким образом, в ходе гидробиологического мониторинга рек в ЗМ ОУХО «Марадыковский» проведена инвентаризация фауны зообентоса, составлен фаунистический список, включивший 118 таксонов донных беспозвоночных. Определены количественные показатели развития бентофауны. Средняя численность на протяжении трех лет удерживалась на уровне 11 - 13 тыс. экз./м². Отмечен рост среднего значения биомассы в р. Вятка с 28.3 г/м² в 2005 г. до 162.3 г/м² в 2007 г., в основном, обусловленный увеличением массы моллюсков.

По результатам индексов Вудивисса и Балушкиной наблюдаемые створы отнесены к классу чистых и умеренно загрязненных вод. Полученные в 2007 г. значения олигохетного индекса позволяют говорить о возросшем уровне нетоксичного органического загрязнения рек Погиблица (ст. 66-1) и Вятка (ст. 79).

Список литературы

- Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.
- Балушкина Е.В. Хиროномиды как индикаторы степени загрязнения вод // Методы биологического анализа пресных вод. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1976. С. 106–118.
- Балушкина Е.В. Применение интегрального показателя для оценки качества вод по структурным характеристикам донных сообществ // Реакция озерных экосистем на изменение внешних условий. СПб.: Зоол. ин-т РАН, 1997. С. 266–292.
- Балушкина Е.В. Изменение структуры сообществ донных животных при антропогенном воздействии на водные экосистемы (на примере малых рек Ленинградской области) // Евроазиат. энтомол. журн. 2004. № 4. С. 276–282.
- Вудивисс Ф. Биотический индекс р. Трент. Макробеспозвоночные и биологическое обследование // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. Л.: Гидрометеиздат, 1977. С. 132–161.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 439 с.
- ГОСТ 17.1.3.07-82 Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества воды водоемов и водотоков // Государственный контроль качества воды. – Введ. 01.01.83. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – С. 122-131.
- Константинов А.С. Общая гидробиология. М.: Высш. шк., 1986. 472 с.
- Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб.: Наука, 1994. Т. 1. 395 с. 1995. Т. 2. 628 с. 1997. Т. 3. 439 с. 1999. Т. 4. 998 с. 2001. Т. 5. 836 с.
- Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Гидрометеиздат, 1983. 239 с.
- Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. 319 с.
- Шитиков В.К. Количественная гидроэкология: методы системной индикации. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. 463 с.

ЛИЧИНКИ ХИЩНЫХ НАСЕКОМЫХ КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ ГОРОДА ИШИМА

А.С.Красненко

ГОУ ВПО Ишимский государственный педагогический институт имени П.П. Ершова
г. Ишим, Россия, aleks-krasnenko@yandex.ru

Хищные насекомые являются вершиной пищевой пирамиды, а соответственно на данной группе организмов будут отражаться все антропогенные факторы, воздействующие на водоем. В данной работе нами будут рассматриваться основные группы насекомых, чьи личинки развиваются в воде. Исследования проводились на водоемах города Ишима и его окрестностей, юга Тюменской области. Данная территория сравнительно слабо изучена, а группы беспозвоночных, рассмотренные ниже, описаны разрозненно и недостаточно. Так в группе стрекоз описана только имагинальная стадия (Харитонов, 1976), водные клопы описаны в основном для севера западной и юга восточной Сибири (Винокуров, Канюкова, 1995). Сведения по водным личинкам жесткокрылых встречаются только в местных публикациях (Словцовские чтения).

Целью данной работы является уточнение видового состава водных личинок хищных насекомых. А также, охарактеризовать состояние водных экосистем по основным популяционным индексам.

По результатам проведенных исследований нами был составлен видовой список беспозвоночных обитающих в водоемах города, класс насекомые включает 7 отрядов 55 видов. Наибольшим видовым разнообразием обладает отряд стрекозы 8 семейств 27 видов. Нами учитывались только, те виды, которые являются активными и аблигатными хищниками.

Фаунистический список гидробионтов

Отряд Жесткокрылые (Coleoptera)

Пузанчик (*Hiphydrus Sp.*)

Плавунчик (*Haliphus Sp.*)

Плавунчик водяной (*Haliphus fluviatilis*)

Плавунец окаймленный (*Macroidytes marginalis*)

Малый водолюб черный (*Hidrophilus caraboides*)

Водолюб большой ченый (*Hidrophilus nigrum*)

Прудовик черноногий (*Columbetes paykulli*)

Прудовик штриховатый (*Columbetes striatus*)

Отряд Клопы (Hemiptera)

Семейство Гладыши (Notonectidae)

Гладыш (*Notonecta glauca* L.)

Семейство Плавты (Naucoridae)

Плавт летний (*Naucoris cimicoides* L.)

Семейство Водомерки (Gerridae)

Водомерка болотная (*Gerris paludum*)

Семейство Водяные скорпионы (Nepidae)

Обыкновенный водный скорпион (*Nepa cinerea*)

Семейство Гребляки (Corixidae)

Гребляк (*Corixa dentipes*)

Отряд Стрекозы (Odonata)

Семейство Красотки (Calopterygidae)

Красотка блестящая (*Calopteryx splendens*)

Семейство Лютки (Lestidae)

Лютка тусклая (*Sympycna fusca*)

Лютка - дриада (*Lestes dryas*)

Семейство Стрелки (Coenagrionidae)

Стрелка голубая (*Enallagma cyathigerum*)

Стрелка изящная (*Ischnura elegans*)

Стрелка - девушка (*Coenagrion puella*)

Стрелка красивая (*Coenagrion pulchellum*)

Стрелка красноглазая (*Erythromma najas*)

Плосконожка обыкновенная (*Plathynmisis pennipes*)

Семейство Дедки (Gomphidae)
 Дедка обыкновенный (*Gomphus vulgtissimus*)
 Дедка хвостатый (*Onychogomphus forcipatus*)
 Семейство Коромысла (Aeschnidae)
 Коромысло большое (*Aeschna grandis*)
 Дозорщик - повелитель (*Anax imperator*)
 Коромысло беловолосое (*Brachytron hafniense*)
 Коромысло синее (*Aeschna cyanea*)
 Коромысло зеленое (*Aeschna viridis*)
 Коромысло камышовое (*Aeschna juncea*)
 Семейство Кордулегастериды (Cordulegasteridae)
 Кордулегастер кольчатый (*Cordulegaster annulipes*)
 Семейство Бабки (Corduliidae)
 Бабка двупятнистая (*Epiptera bimaculata*)
 Бабка бронзовая (*Cordulia aenea*)
 Бабка металлическая (*Somatochlora metallica*)
 Семейство Стрекозы настоящие (Libellulidae)
 Стрекоза плоская (*Libellula depressa*)
 Стрекоза решетчатая (*Orthetrum cancellatum*)
 Стрекоза желтая (*Sympetrum flaveolum*)
 Стрекоза перевязанная (*Sympetrum pedemontanum*)
 Стрекоза болотная (*Leucorrhinia pectoralis*)
 Стрекоза кровавая (*Sympetrum sanguineum*)
 Стрекоза четырехпятнистая (*Libellula quadrimaculata*)

Старица Карнаушиха – также является бывшей излучиной р.Ишим, но находится на правом берегу реки. Данная старица отделилась от русла несколько раньше чем старица Ишимчик и полностью естественным путем. Данный водоем имеет подковообразную форму, внутри которой находится небольшой полуостров с садоводческим обществом «Коммунальник» длина старицы небольшая около 2км, ширина от 10 до 20м. Средняя глубина 2м (максимальная 3,5м.), площадь составляет около 18га. В данном водоеме нами было зарегистрировано 30 видов гидробионтов причем наибольшей численностью обладают представители класса насекомые отряда полужесткокрылые (*Naucoris cimicoides* – P = 37,98%), а моллюски практически не представлены. Исходя из данных о видовом составе гидробионтов, данный водоём можно отнести к α мезосапробным. На данном водоеме видовое разнообразие личинок хищных насекомых сравнительно велико, причем наибольшим видовым разнообразием характеризуется отряд стрекозы, при том, что основная масса сбора представлена равнокрылыми. Этот водоем по шкале Вудвисса оценен в 4 балла, что говорит о средней степени загрязнения.

Старица Очистные – находится с восточной стороны города Ишима, по северному берегу проходит железнодорожная линия. Данный водоем является бывшей излученной реки Ишим, имеет сложную подковообразную форму. На берегу данного водоема находится садовые общества «Обувщик» и «Железнодорожник». Длина старицы около 15 км., ширина практически нигде не превышает 20 м. средняя глубина около 3м., но дно очень сильно заилено и толщина чистой воды составляет 1 - 1,5 м. Видовой состав данного водоема сравнительно беден 22 вида, что позволяет отнести его к β мезосапробным, об этом же говорит относительно большая численность таких индикаторных видов как *Chironomus* Sp. – P = 13,73% и *Enallagma cyathigerum* – P = 26,47%. На данном водоеме, как уже было сказано, численно личинки равнокрылых стрекоз при том, что личинки хищных жесткокрылых практически не зарегистрированы, а видовой состав клопов крайне беден и представлен только двумя видами. Эта старица по индексу Вудвисса так же оценена нами в 4 балла но, состояние ее несколько ближе к полисапробности.

Старица Ишимчик имеет подковообразную форму, внутри которой находится как бы полуостров - городской лесопарк площадью 70га. Длина старицы 3,5км, ширина от 20 до 80м. Средняя глубина 3м (максимальная 5м), площадь составляет 30га. В старице Ишимчик нами было зарегистрировано 37 видов относящихся к 4 типам. Большинство видов представители типа членистоногие класса насекомые. Но наибольшая выборочная доля среди всех гидробионтов приходится на моллюсков (*Anisus vortex* - P = 17,97%; *Bithynia tentaculata* – P = 10,68; *Sphaerium rivicola* - P = 10,41%), хотя в видовом составе данная группа представлена 13 видами. Видовой состав

личинок хищных насекомых, на данном водоеме несколько своеобразен, так абсолютным доминантом по численности является стрекоза четырехпятнистая *Libellula quadrimaculata* (5,2 %), тогда как на остальных водоемах данный вид, хотя и распространен, но находится на нижних позициях по сравнению с личинками равнокрылых. Видовой состав личинок жесткокрылых так же не велик, как и видовой состав клопов по три вида. Исходя из данных о видовом составе гидробионтов данный водоём можно отнести к β - α мезосапробным, хотя и имеющем загрязнения, поступающих извне в результате хозяйственной деятельности человека. Об этом говорит и оценка данного водоема по шкале Вудвисса, 4 балла из 10 возможных.

Старица Подкова – находится в реликтовом сосновом бору, данный водоем так - же является бывшей излучиной реки Ишим, имеет подковообразную форму. На берегу данного водоема располагается рекреационная зона с детскими спортивно-оздоровительными лагерями и зона дома отдыха «Ишимский». Видовой состав не богат 24 вида, но наличие некоторых индикаторных видов позволяет отнести его к β мезосапробам, так о качестве воды говорит наличие личинок крупных стрекоз и личинок поденок, кроме того, в пробах массово были зарегистрированы личинки жесткокрылых, хотя видовой состав клопов, так же не велик, всего зарегистрировано четыре вида. Загрязнения сводятся в основном к загрязнению органическим мусором, что может привести к изменению сапробности воды. Но в настоящее время говорить о загрязнении данной старицы практически не приходится, так как водоем справляется с антропогенным прессом. Данный водоем наиболее чистый из всех рассмотренных нами. Сходные результаты дает индекс Вудвисса, равен 6 баллам

Индекс		Ишимчик	Карнаушиха	Очистные	Подкова
Общее число особей	N	384	208	204	105
Индекс видового богатства	R	13,91	12,50	8,65	11,86
Индекс видового разнообразия Шеннона	H	- 2,80	- 2,45	- 2,43	- 2,85
Индекс видового разнообразия Симпсона	D	8,74	0,83	0,12	0,93
Индекс доминирования Симпсона	C	0,91	0,17	0,88	7,17
Индекс выровненности Пиелу	E	- 0,78	- 0,72	- 0,80	- 0,88
Упругая устойчивость системы	UU	1,26	4,55	0,16	7,30
Резистентная устойчивость системы	UR	11,26	1,11	0,18	1,26
Общая устойчивость системы	U	1,26	5,66	0,34	8,56

При сравнении данных водоемов по основным популяционным индексам можно увидеть следующее. Так наибольшим индексом видового богатства обладает старица Ишимчик, но при этом наибольший индекс для редких видов (индекс Шеннона) наблюдается у старицы Подкова. Такой результат хорошо согласуется с концепцией А.Ф. Алимова о снижении разнообразия по мере увеличения загрязнения или евтрофирования водоемов.

Исходя из полученных результатов, можно сделать следующий вывод, наиболее чувствительными к загрязнению стоячих водоемов являются личинки крупных стрекоз и личинки жесткокрылых, а для текущих вод индикатором может считаться красотка блестящая *Calopteryx splendens*, данный вид встречается только в малых реках и в реке Ишим выше города. В черте города и ниже по течению, красотка блестящая нами не зарегистрирована. Все это говорит о воздействии на природные экосистемы антропогенного фактора, в конкретном случае смыва СПАВ и рекреационной нагрузки на водоем.

Список литературы

- Алимов А.Ф. Введение в продукционную гидробиологию. - Л.: Гидрометеиздат, 1989. - 152 с
Алимов А.Ф. Элементы функционирования водных экосистем. - СПб.: Наука, 2000. - 147 с
Винокуров Н.Н., Канюкова Е.В. Полужесткокрылые насекомые (Heteroptera) Сибири.: Новосибирск «Наука» РАН, 1995 - 238с.
Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: Зообентос и его продукция. - Л.: ГосНИОРХ, 1984. - 51 с.
Семченко В.П. Принципы и системы биоиндикации текущих вод. - Минск: Орех, 2004 – 125 с.
Харитонов А.Ю. Фауна стрекоз (Insecta, Odonata) Урала и Восточного Приуралья.- В кн.: Фауна гельминтов и членистоногих Сибири. Новосибирск, 1976, с. 157-161.

СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗООПЛАНКТОНА НАКОПИТЕЛЕЙ СТОЧНЫХ ВОД

Е. Г. Крупа, Т. С. Стуге, А. П. Фаломеева, Т. Т. Трошина, В. А. Киселева

Институт зоологии МОН РК

Аль-Фараби 93, Академгородок, Алматы, 080060, Казахстан, ekrupa@nursat.kz, instzoo@nursat.kz

Накопители технических и бытовых сточных вод относятся к категории водоемов, испытывающих выраженное антропогенное воздействие. Для них характерны высокие концентрации органических веществ и биогенных элементов, с одной стороны, и повышенный уровень токсического загрязнения, с другой.

Зоопланктон технических водоемов системы Правобережного Сорбулакского канала (ПСК) (юго-восточный Казахстан) был исследован в 1982-1992, 1998, 2000-2002 гг., Соколовско-Сарбайского горно-перерабатывающего объединения (ССГПО) (северный Казахстан) – в мае, июне 2004 г. и октябре 2003 г. Минерализация воды накопителей системы ПСК (водохранилища Сорбулак и конечного накопителя ПСК) достигала 0.4-1.1, водоемов ССГПО (Васильевского и Сарбайского) – 1.9-11.6 г/дм³. Концентрации фосфора общего варьировали в пределах 0.007-0.980 мг/дм³, нитритов – 0.003-6.300, нитратов – 0.01-6.84, ионов аммония – 0.06-9.00 мг/дм³.

В составе зоопланктона было выявлено 82 таксона: коловраток – 34, ветвистоусых – 29, веслоногих – 16, факультативных планктеров – 3. Наибольшим разнообразием характеризовались роды *Brachionus* (9 таксонов) и *Daphnia* (6). В составе родов *Euchlanis*, *Keratella* и *Diaphanosoma* отмечено по 4, р. *Simocephalus* – 3 вида. Высоким разнообразием отличался п/о Calanoida – 6 видов. Постоянно встречались коловратки *Keratella quadrata dispersa*, *Hexarthra fennica*, ракообразные *Acanthocyclops trajani*, *Bosmina longirostris*, *Daphnia pulex*, *D. galeata*, *Diaphanosoma lacustris*. Несмотря на существенные различия в минерализации воды накопителей системы ПСК и ССГПО, сходство фаун планктонных ракообразных между ними достигало 48,8%.

Численность зоопланктона в летний период находилась на высоком уровне – 116.7-651.4 тыс. экз/м³, в среднем составив 302.5±63.9 тыс. экз/м³. Максимальные значения численности организмов отмечались в конечном накопителе ПСК (рисунок 1).

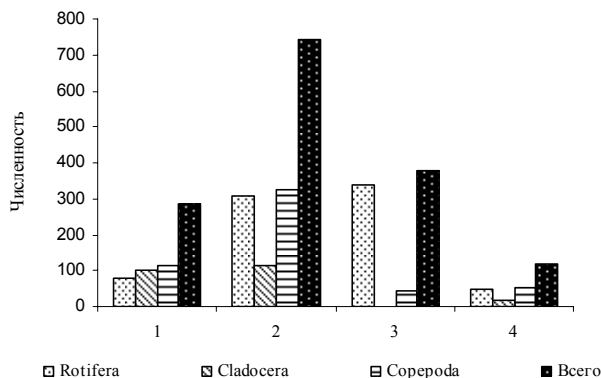


Рисунок 1. Численность зоопланктона (тыс. экз/м³) в некоторых технических водоемах Казахстана (1 – водохранилище Сорбулак, 2 – конечный накопитель ПСК, 3 – Васильевский накопитель, 4 – Сарбайский накопитель)

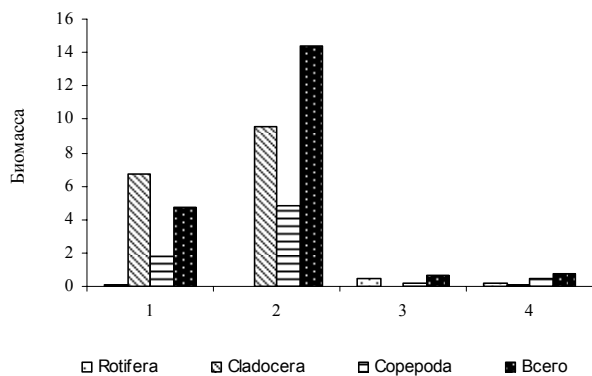


Рисунок 2. Биомасса зоопланктона (г/м³) в некоторых технических водоемах Казахстана (1 – водохранилище Сорбулак, 2 – конечный накопитель ПСК, 3 – Васильевский накопитель, 4 – Сарбайский накопитель)

Величина биомассы варьировала в более широких пределах 0.4-14.4 г/м³, в среднем 6.7±2.2 г/м³. Максимальные значения биомассы зоопланктона отмечались также в конечном накопителе ПСК (рисунок 2).

В водохранилище Сорбулак основу численности сообщества формировали веслоногие, в конечном накопителе ПСК – коловратки и кладоцеры. По биомассе и в том и другом водоеме доминировали ветвистоусые. В минерализованных водоемах Васильевского накопителя массового развития достигали коловратки и веслоногие, при слабом развитии кладоцер. В Сарбайском

накопителе, при аналогичных значениях минерализации, численность ветвистоусых в летний период была на порядок выше.

При понижении температуры воды в октябре численность организмов снизилась до 39.1 ± 11.9 тыс. экз/м³, биомасса – до 3.2 ± 0.5 г/м³. В водоемах системы ПСК аналогичным образом снижалась и величина биомассы сообществ. В Васильевском накопителе, напротив, биомасса зоопланктона к осени увеличивалась, что связано с массовым развитием эвригалинного вида *A. salinus*, по некоторым участкам совместно с крупной *D. magna* в условиях более высокой, чем летом, минерализации воды.

Постоянным доминантом зоопланктона водоемов системы ПСК являлся циклоп *Acanthocyclops trajani*, часто совместно с *Cyclops vicinus*. Высокой численности достигали также *K. quadrata*, босмина и дафнии. В первые годы существования водохранилища Сорбулак основу чрезвычайно высокой биомассы зоопланктона формировал крупный представитель кладоцер – *Daphnia magna*. В последующие годы доминирование перешло к мелкому виду *Bosmina longirostris*. Из трех крупных видов кладоцер (*D. galeata*, *D. longispina* и *D. pulex*), представленных в зоопланктоне водохранилища, заметную роль в формировании биомассы в последнее десятилетие играл только последний.

В условиях повышенной минерализации воды накопителей ССГПО комплекс доминирующих видов включал *Arctodiaptomus salinus*, *Keratella quadrata*, по отдельным участкам – *Daphnia magna*, *D. longispina*, *Acanthocyclops trajani*. Интересным представляется сравнительно высокое количественное развитие в одном из водоемов Сарбайского накопителя олигосапроба *Mesocyclops leuckarti*.

В накопителях ССГПО размеры взрослых особей, плодовитость самок и соотношение полов в популяции доминанта *Arctodiaptomus salinus* существенно варьировали. Известно, что среднее число яиц в яйцевых мешках самок веслоногих ракообразных возрастает при увеличении концентрации пищевых объектов (Гиляров, 1987, Мешкова, 1975). В водоемах Казахстана плодовитость *A. salinus* изменяется от 2.6-3.8 яиц в оз. Балхаш, характеризующегося низкими концентрациями биогенных элементов, до 8.5-30.5 штук в сильноминерализованных эвтрофных озерах Павлодарской области (Стуге, 2000). Осенью 2003г. максимальную плодовитость (в среднем 30 яиц) имели самки арктодиаптомуса из канала рудничных и бытовых стоков Васильевского накопителя. Очевидно, что в этом водотоке для арктодиаптомуса складывались наиболее благоприятные трофические условия. Об этом же свидетельствовало максимальное количество жировых включений в теле рачков и размеры половозрелых особей.

Половая структура популяций *A. salinus* в технических водоемах ССГПО характеризовалась преобладанием самцов в 2.3-10.4 раза, что не типично для Copepoda (Мешкова, 1975). В популяциях *Megacyclops viridis* и *Cyclops strenuus devirgens* из сбросного канала Васильевского накопителя в октябре 2003г. численность самцов соответственно в 2.0 и 12.6 раз превосходила численность самок.

Половая структура популяции *A. trajani*, одного из доминирующих видов зоопланктона в водоемах системы ПСК, также характеризовалась существенным преобладанием самцов – в 2.6-7.1 раза. Численное превосходство самцов отмечалось с мая по сентябрь. В популяции *C. vicinus* в среднем было больше самок, чем самцов. Обратное соотношение полов отмечалось только в июне 1998 и 2002гг.

В популяциях *A. trajani* и *C. vicinus* из Сорбулакского водохранилища и конечного накопителя ПСК постоянно присутствовали особи с отклонениями в морфологии в количестве 10-90 экз/м³ (0.004-12.5% численности популяций). В канале сточных вод Васильевского накопителя в октябре 2003г. обнаружены уродливые особи *Cyclops strenuus devirgens*. В одном из каналов между накопителями в этот же период более 60% особей *A. salinus* были мертвы, на фоне мизерных величин численности и биомассы всего зоопланктона.

Разнообразие зоопланктона технических водоемов, оцениваемое по индексу Шеннона-Уивера, находилось на сниженном уровне – в среднем 1.90 ± 0.18 бит/экз и 1.89 ± 0.05 бит/мг. В водоемах ССГПО значения индекса достоверно снижались при увеличении минерализации воды ($r = -0.87$, $p < 0.05$), что обусловлено усилением доминирования эвригалинного рачка *A. salinus* ($r = 0.86$, $p < 0.05$).

Зоопланктон водоемов системы ПСК состоял из сравнительно крупных особей, средняя величина которых – 0.011 ± 0.001 мг/особь, была характерна для мезо- и эвтрофных условий. В накопителях ССГПО этот показатель (0.0025 ± 0.0007 мг/особь) в летние месяцы находился на уровне эвтрофных водоемов (Андроникова, 1996). Тенденция увеличения средних размеров особи в сообществе отмечалась с ростом минерализации воды за счет усиления роли *A. salinus* ($r = 0.46$, $p < 0.05$).

Таким образом, исследованиями 1992-2004гг. выявлены основные характерные черты зоопланктона технических водоемов – высокие показатели количественного развития в летний период, сниженное таксономическое разнообразие, не типичное для веслоногих существенное преобладание самцов в популяциях веслоногих и присутствие уродливых особей циклопов. Выявлен состав доминирующих видов – характерных обитателей загрязненных водоемов. Из колловраток к ним

можно отнести вариететы вида *K. quadrata*, из ракообразных – *D. galeata*, *D. magna*, *D. longispina*, *B. longirostris*, *C. vicinus*, *A. trajani*, *A. salinus*.

Список литературы

- Андроникова И.Н. Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов. Санкт-Петербург: Наука, 1996. 189 с.
Гиляров А.М. Динамика численности пресноводных планктонных ракообразных. М.: Наука, 1987.
Мешикова Т.М. Закономерности развития зоопланктона оз. Севан. Ереван, 1975. 237 с.
Стуге Т.С. Об осеннем зоопланктоне водоемов зоны влияния Семипалатинского испытательного полигона // Вестник Национального ядерного центра Республики Казахстан «Радиоэкология. Охрана окружающей среды». 2000. Выпуск 3. С. 73-77.

ИССЛЕДОВАНИЯ ФИТОПЛАНКТОНА НИЖНЕЙ ВОЛГИ И СЕВЕРНОГО КАСПИЯ КАК ИНДИКАТОРА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОД

Е.Н. Лабунская

Институт водных проблем РАН (группа исследований экологических проблем в дельте р. Волга)
414011, г. Астрахань, ул. Комарова, 2, Россия, 8astrgo@mail.ru

В настоящее время все актуальнее становятся вопросы мониторинга природной среды в результате возрастающей антропогенной нагрузки на ее объекты. В связи со строительством гидроэлектростанций, интенсивного развития сельского хозяйства и промышленности, разработкой и освоением нефтяных месторождений уровень загрязнения водоемов резко усилился, что оказало негативное воздействие на гидробионтов, в том числе и на фитопланктон. На него в первую очередь влияют вещества евтрофного комплекса, а так же продукты нефтепереработки.

Нами были выявлены существенные перестройки в структуре альгоценозов, проявляющихся, в первую очередь, в смене доминирующих комплексов водорослей. Так, в начале XX столетия обильно развивались синезеленые *Anabaena flos-aqua* (Lyngb.) Bréb., диатомовые *Fragilaria ulna* (Nitzsch) Lange-Bertalot, *F. ulna* var. *acus* (Nitzsch) Lange-Bertalot, *Aulacoseira distans* (Ehrenberg) Simonsen, *Diatoma tenuis* Agardh (Эльдарова-Сергеева, 1913). В последующие десятилетия типичными, помимо этих видов, была *Aulacoseira subarctica* (O.Müller) Haworth. В 60-70-е годы в результате резко возросшей антропогенной нагрузки в бассейне Волги весной стали доминировать *Aulacoseira islandica* (O.Müller) Simonsen и *Stephanodiscus hantzschii* Grunow., летом – *Aphanizomenon flos-aqua* (L.) Ralfs, *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend Elenk. и *Skeletonema subsalsum* (Cleve-Euler) Bethge,

В 80-90-е годы преобладающими в формировании численности и биомассы были *S. subsalsum* и *Actinocyclus normanii*. (Gregory) Hust. В последующем основу биомассы составляла *Aulacoseira islandica* и *A. granulata* (Ehr.) Ralfs. с подвидами, а так же синезеленая *Anabaena spiroides* Kleb..

В 1988 г. в Волгоградском водохранилище выше г. Саратов (с. Терса) и в р. Ахтуба впервые с мая по октябрь отмечался *Actinocyclus normanii*. (Генкал, Лабунская, 1992). В 1989-91 гг. он был распространен по всей Нижней Волге, вызывая на некоторых участках «цветение» воды (биомасса до 44,3 мг/л). Помимо этого, с 1991 г. летом и осенью в массе вновь стала встречаться *Aulacoseira subarctica*. С 1993 г. на ряде станций нами были отмечены виды, характерные для Северного Каспия: пирофитовая *Exuviella cordata* Ostf. и зеленая *Binuclearia lauterbornii* (Schmidle) Pr.-Lavr., что свидетельствует об инвазии каспийских элементов флоры в волжский бассейн.

Об изменениях в структуре фитопланктона свидетельствуют не только качественные, но и количественные показатели его вегетации. Периоды интенсивного развития водорослей сменялись относительной депрессией. Последняя наблюдалась в 1994 г. Биомасса планктона при этом не превышала 0,1-0,2 мг/л.

Весной на Нижней Волге до 96 % численности и 99,9 % биомассы составляли диатомовые, главным образом *Stephanodiscus hantzschii* (50-83 % от общей численности). Наибольшая концентрация вида наблюдалась в зоне влияния Астраханского промышленного комплекса. Субдоминантный вид *Aulacosira islandica* уступала ему по численности на 1-2 порядка.

Динамика изменения численности планктона весной по руслу реки имеет ряд закономерностей. На верхнем участке она небольшая. Вниз по течению происходит ее снижение до вершины дельты в маловодные 1984 г. и 1988 г., при объеме стока 225-230 км³. В многоводные 1985-87 гг., напротив, численность в этом пункте возрастает. В районе АПК наблюдался всплеск в развитии водорослей.

Летом происходит смена доминантных фитоценозов весеннего комплекса, хотя в июне преобладание диатомовых сохраняется по всем показателям. Видовой состав, численность синезеленых заметно возрастает, а начиная с июля по численности они часто превосходят представителей остальных групп, поскольку вступает в фазу массовой вегетации *Aphanizomenon flos-aqua* и виды рода *Microcystis*.

На Нижней Волге в летний период практически ежегодно наблюдается «цветение» воды фитопланктоном. Однако, в некоторые годы осенью происходит повторный пик вегетации водорослей. Так, в сентябре 1999 г. численность клеток достигала 1,9-9,0 млн. кл/л, биомасса - 1,0 - 10,0 мг/л. В последующие годы эти показатели были значительно ниже. В 2000 г., соответственно, - 0,1-9,8 млн. кл/л и 0,10-0,67 мг/л. В 2001 г. урожайность водорослей по исследуемой акватории была более однородной. Массовые виды весеннего комплекса еще встречаются на большей части акватории, но в июне преобладающими становятся *Skeletonema subsalsum*, *Aulacoseira granulata* и *Actinocyclus normanii*. Общая численность клеток возрастала, биомасса - сокращалась (исключение - 1991 г.) благодаря развитию мелкоклеточных форм планктона.

В августе 2007 г. общая численность фитопланктона составила 0,1-5,0 млн. кл/л. На большинстве станций преобладали синезеленые. Относительно прежних лет наблюдений их доля в планктоне стала выше (часто более 90%)

Видовой состав массовых форм был относительно постоянен на всей исследуемой акватории. Разнообразие альгофлоры возрастало от г. Волгограда до г. Нариманов (выше г. Астрахань). Ниже по течению и в протоках дельты оно несколько уменьшалось. Подавляющее значение имели *Oscillatoria amphibia* Ag. и *Anabaena spiroides* (до 93%). Первая - характерна для умеренно загрязненных вод, вторая - для умеренно загрязненных с уклоном в чистые. На участке г. Волгоград - с. Соленое Займище численность *A. spiroides* возрастала от 0,3 до 2,3 млн.кл/л, у *Oscillatoria amphibia* - от 0,4 до 3,4 млн.кл/л. Ниже по течению их вегетация уменьшалась на 1-2 порядка. В районе г. Астрахани численность водорослей не превышала 1,0 млн.кл/л. Доминировали диатомовые - *Aulacoseira granulata* и ее подвиды. В целом, доля синезеленых в альгоценозах летом увеличивалась с 18 до 47% за период с 1984 по 1987 гг. В 1988 г. они составили лишь 7%. В 1989-91 гг. - 27-36 %, а в 2007 г. - 90-93% от общей численности.

Общая биомасса фитопланктона в дельтовых водотоках в августе находилась в пределах 0,01-8,38 мг/л. На основном русле Волги она увеличивалась с 0,1 мг/л у г. Волгограда до 3,24 мг/л у с. Соленое Займище. Ниже по течению продукция водорослей уменьшалась до 1,75 мг/л у вершины дельты.

Горизонтальной неоднородностью фитопланктона предопределяется и вариабильность степени трофности вод (Жукинский, Окснюк и др., 1977). Качество вод низовий Волги по объему биомассы планктона на отдельных участках варьировало от «предельно чистых» до «слабо загрязненных». Однако большинство значений этого показателя характеризовали исследуемую акваторию как «вполне чистую». Более высокие показатели биомассы в предустьевом пространстве Волги (1,38-7,72 мг/л) дают возможность оценить эти воды как «достаточно чистые» - «слабо загрязненные». В летний период у с. Каменный Яр и в некоторых протоках оценивается 2б классом - вода «вполне чистая». На остальных пунктах - 3а-3б - «достаточно чистая» и «слабо загрязненная». Однако в 1991 г. величина биомассы в июле-августе у вершины дельты (15,8-44,5 мг/л) и на нижней границе АПК (41,7-55,7 мг/л) отражали соответственно «сильно загрязненные» и «весьма грязные» воды - 4а-5б класс.

О повышенной биогенной нагрузке на водоемы можно судить так же и по возрастанию численности мелкоклеточных форм фитопланктона (в основном синезеленых). В последние годы наблюдений это наглядно проявилось в районах населенных пунктов: нижняя зона г. Астрахани, п. Кировский. Подобный процесс отмечался в култушной зоне дельты и в предустьевом пространстве, где показатели численности и биомассы были значительно выше. Подтверждением данного факта может служить более высокая продуктивность альгофлоры в западной части дельты и авандельты, поскольку здесь проходит до 70% биогенного стока Волги.

Максимальные показатели развития альгофлоры отмечались в предустьевом пространстве Северного Каспия, минимальные - в Кировском канале (восточная часть дельты).

Динамика изменений концентрации нитратов весной схожа с таковой по биомассе фитопланктона, хотя по этому показателю акватория Нижней Волги оценивается на класс выше (α - β - мезосапробная зона)

Во все годы наблюдения у с. Каменный Яр (приплотинная зона нижнего бьефа Волгоградской плотины) не смотря на высокое содержание нитратов биомасса планктона была меньше, чем в низовьях Волги - 1,0-6,3 мг/л. Лишь в 1989 г. она составляла 10,0 мг/л. Однако здесь нельзя говорить о «достаточно чистой» воде, поскольку в этом пункте альгоценозы более характерны для

Волгоградского водохранилища, где продуктивность планктона намного меньше, чем в дельте Волги. Здесь, по-видимому, на рост фитопланктона сдерживающее влияние оказывают более низкие температуры (на 2-3°С) относительно южных станций. На отрезке реки с. Каменный Яр - вершина дельты происходит нарастание биомассы планктона вследствие поглощения нитратов водорослями, в результате этого концентрация их значительно снижается. В районе АПК наблюдается одновременное увеличение содержания нитратов и биомассы водорослей.

Изменения в структуре фитоценозов региона, наблюдающиеся на протяжении 70-90-х годов связаны с химическим составом воды. Так, уменьшение соотношения минеральных форм фосфора и азота в речных водах указывает на интенсивный рост загрязнения воды низовой Волги. Это особенно характерно для 80-х годов, когда произошло увеличение концентрации азота в 1,5-2 раза, фосфора - в 2,5-3 раза; а в 90-е годы - азота в 2-3 раза, фосфора - в 5-7 раз.

На основном русле реки происходили постоянные колебания индексов сапробности от станции к станции. Так, ниже г. Волгограда его значение было относительно высоким (1,94). Это связано, в первую очередь, со сбросом вод Волгоградского водохранилища. В многоводные годы конца XX века наблюдалась подобная тенденция с более высокими показателями индекса (2,00-2,20). Низкий уровень сапробности был отмечен лишь в 1984 и 1987 гг. (1,84-1,87). Средний индекс в 2007 г. в Волге составил 1,90. В основном ее рукаве Ахтубе – 1,99, в дельтовых водотоках – 1,83.

За текущее столетие качество вод Нижней Волги, и в частности, в районе АПК, где оно несколько хуже, изменилось от умеренно загрязненных вод с уклоном в чистые в начале века до умеренно загрязненных в 70-е годы во все сезоны года, а на современном этапе лишь в летне-осенний период, весной - до умеренно загрязненных близких к грязным (табл. 1).

Таблица 1. Средние за сезоны индексы сапробности (по численности фитопланктона) Нижней Волги в районе г. Астрахани

Сезон	1902, 1911-12 гг.	1969-75 гг.	1984-90 гг.	2007 г.
Весна	1,68	1,80	2,21	
Лето	1,73	1,80	2,03	1,90
Осень	1,63	1,84	2,00	
Средний индекс	1,68	1,81	2,08	

Таким образом, на верхнем отрезке низовой Волги ведущую роль играли альгоценозы, сформированные в Волгоградском водохранилище. В нижнем бьефе плотины их развитие снижается относительно ее верхнего бьефа, а также участков, расположенных ниже по течению. Вниз по руслу происходит увеличение продукции водорослей вплоть до вершины дельты.

Свидетельством повышения биогенной нагрузки на Нижней Волге служит усиление вегетации водорослей у населенных пунктов, в култушной зоне дельты и в предустьевом пространстве Северного Каспия, а так же инвазия каспийской флоры в низовья Волги и увеличение численности мелкоклеточных форм синезеленых водорослей, особенно в летний период.

В целом, акваторию региона можно отнести к «умеренно загрязненным водам» с выделением участков у АПК, где уровень сапробности несколько выше. По объему биомассы - к «предельно чистым» - «слабо загрязненным». Летом 1991 г. при повышенной водности (объем годового стока – 341 км³) качество вод Нижней Волги было «сильно загрязненным» и «весьма грязным».

Список литературы

- Генкал С.И., Лабунская Е.Н. Новые и интересные диатомовые водоросли планктона Волги и Каспийского моря // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1992. №93. С. 8-14.
- Жукинский В.Н., Окснюк О.П., Цеев Я.Я., Георгиевская В.Б.. Проект унифицированной системы для характеристики континентальных водоемов и водотоков и ее применение для анализа качества вод.-: В кн. Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. Тр. Советско-Английского семинара, - Л.: Гидрометеиздат. 1977
- Лабунская Е.Н. Исследования фитопланктона Северного Каспия как индикатора загрязнения // Водн. ресурсы. - 1994, Т. 21, №4. - с. 431- 436.
- Лабунская Е.Н. Фитопланктон. Гидробиологический режим Нижней Волги, Экология Астраханской области. Вып. 4. Астрахань. 1996, 114- 156 .
- Эльдарова-Сергеева М.Х. Фитопланктон дельты р. Волги// Тр. Астраханской ихтиолог. лаб.. Астрахань, 1913. Т. 2, вып. 7. - 84 с.

РАЗВИТИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ЭСТУАРИЯ РЕКИ НЕВЫ В УСЛОВИЯХ СТРОИТЕЛЬСТВА «МОРСКОГО ФАСАДА» САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Е.К. Ланге¹, В.Е. Панов²

¹Атлантическое отделение ин-та Океанологии им. П.П. Шириова РАН
236000, Калининград, пр. Мира 1, Россия, evlange@gmail.com

²Санкт-Петербургский государственный университет
199178 Спб, 10-я линия, д. 33/35, Россия, vpanov@mail.ru

В Санкт-Петербурге в рамках проекта «Морской фасад», реализующего создание морского пассажирского терминала и строительство более 4 млн. м² недвижимости, с июля 2006 г. в акватории Невской губы со стороны Васильевского острова проводится гидронамыв территории площадью более 476 га. В результате гидротехнических работ резко возросла мутность воды вдоль северного берега губы и далее до разреза м. Шепелевский – м. Флотский в мелководном районе восточной части Финского залива (согласно работе (Панов и др., 2002) внутренний эстуарий р. Невы). Цель исследования состояла в оценки последствий, вызванных воздействием повышенной мутности воды на структуру фитопланктонного сообщества северной части мелководного района.

В продолжение многолетних исследований фитопланктона на станции 21 (глубина 13 м), расположенной во внутреннем эстуарии р. Невы (60°06'N, 29°42'E) (Никулина, 2003), в июне-октябре 2005-2007 гг. каждые две недели пробы воды отбирались с поверхностного горизонта и фиксировались модифицированным р-ром Люголя. Собранный материал (26 проб) анализировался согласно рекомендациям (HELCOM, 1988). Во время съемок фиксировались значения абиотических параметров воды: температуры, электропроводности и прозрачности, замеренной по диску Секки. По электропроводности далее рассчитывалась соленость воды.

В июне-октябре 2005-2007 гг. всего определено 182 таксона водорослей из 8 систематических отделов. Наибольшим разнообразием отличались Chlorophyta (73), Cyanophyta (57) и Bacillariophyta (23). Остальные отделы насчитывали менее 10 таксонов. Обнаружено значительное превышение общего числа таксонов в 2005 г. – 164 по сравнению с 2006 и 2007 гг., соответственно 89 и 86. Отмечено также уменьшение показателя числа таксонов в пробе с 31-73 (в среднем 49) в 2005 г. до 13-39 (в среднем 21-26) в последующие два года (рис. 1). Это относилось и к видовому разнообразию зеленых водорослей: 2005 г. – до 26 таксонов/проба; 2006 г. – до 18; 2007 г. – до 12. Расчет коэффициентов корреляции Пирсона (П) и Спирмана (С) выявил значимую положительную корреляцию между величиной прозрачности и показателем числа таксонов в пробе (r (П) = 0.67 и r (С) = 0.69; $p < 0.05$) (рис. 2), а также числом видов зеленых в пробе (r (П) = 0.61 и r (С) = 0.56; $p < 0.05$).

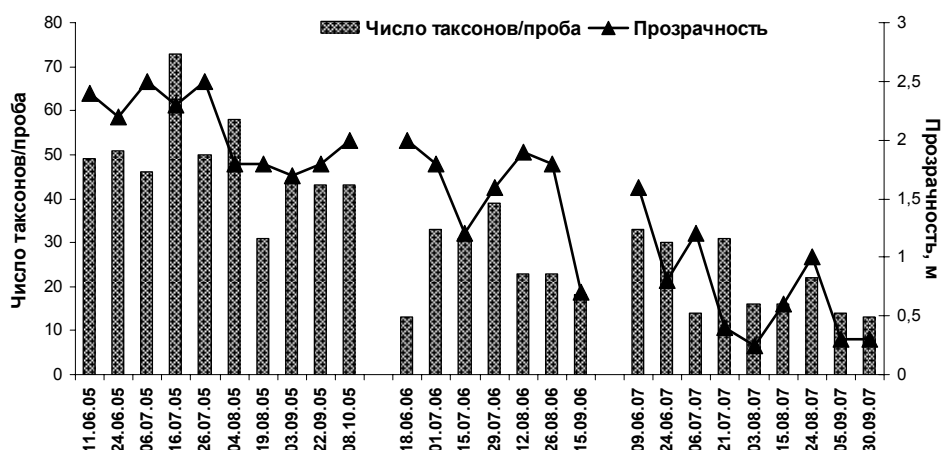


Рис. 1. Сезонная и годовая динамика показателя таксономического разнообразия фитопланктона ст. 21 и величины прозрачности, июнь-октябрь 2005-2007 гг.

Во все сроки наблюдений структуру суммарной биомассы фитопланктона на 19-95% формировали синезеленые нитчатые водоросли, кроме 15 сентября 2006 г., когда их доля составила 1.7%. Наблюдалось резкое снижение прозрачности воды с 1.2-1.9 м (июнь-август) до 0.7 м (рис. 1). Из синезеленых наибольший вес в количественном развитии фитопланктона в 2005-2006 гг. имел вид *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagn. et Kom.: 2005 г. – 17-42% общей биомассы (кроме 19 августа – 6%); 2006

г. – 11-55% (кроме 18 июня, 26 августа – 4-5%). 15 сентября 2006 г. его вклад не превысил 1%. В июне 2007 г. *P. agardhii* снова оказался в числе доминант (29-30% общей биомассы), но в последующие месяцы, когда прозрачность воды снизилась, его доля составила 1-8%. Уровень развития данного вида (биомасса) по годам заметно различался (рис. 3) – существовала тенденция его уменьшения в направлении 2005>2006>2007 гг. Корреляционный анализ обнаружил положительную зависимость биомассы *P. agardhii* от величины прозрачности ($r(\Pi) = 0.40$ и $r(C) = 0.55$; $p < 0.05$).

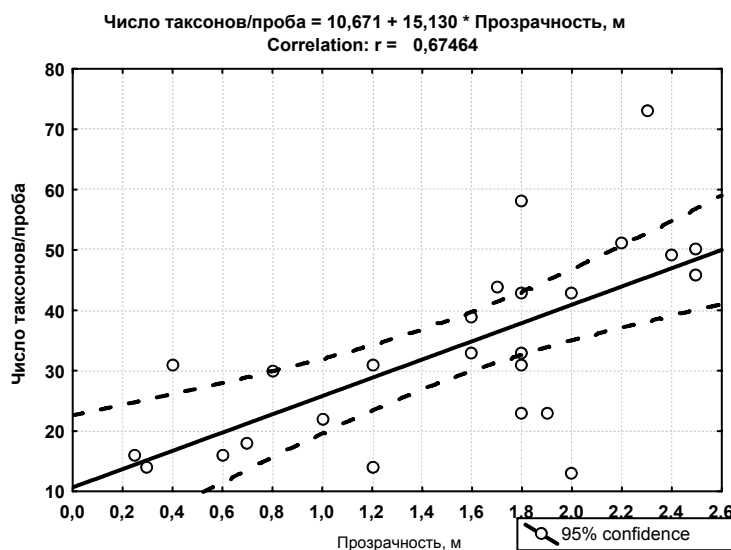


Рис. 2. Линейное уравнение, описывающее связь между величиной прозрачности и числом таксонов водорослей на ст. 21 мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь 2005-2007 гг.

Из синезеленых основу биомассы фитопланктона обеспечивала также водоросль *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs, причем наиболее благоприятные условия для ее вегетации существовали в 2007 г., когда она доминировала в 67% случаев, в 2005 г. – только в 20%, а в 2006 гг. – среди доминант не отмечена. Биомасса *Aph. flos-aquae* превысила значение 100 мг/м^3 : 2005 г. – в 50% отобранных пробах; 2006 г. – 0%; 2007 г. – 67%. В то же время корреляционный анализ не выявил связи биомассы *Aphanizomenon* с величиной прозрачности, и обнаруженное увеличение обилия синезеленой было обусловлено иными причинами. К синезеленым водорослям, эпизодически преобладающим в фитопланктоне, относилась *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz.: 2005 г. (сентябрь-октябрь, в 3 пробах), 2006 г. (август, в 1 пробе), 2007 г. (август-сентябрь, в 2 пробах), а также виды рода *Anabaena* (в 1-2 пробах в 2005-2006 гг.).

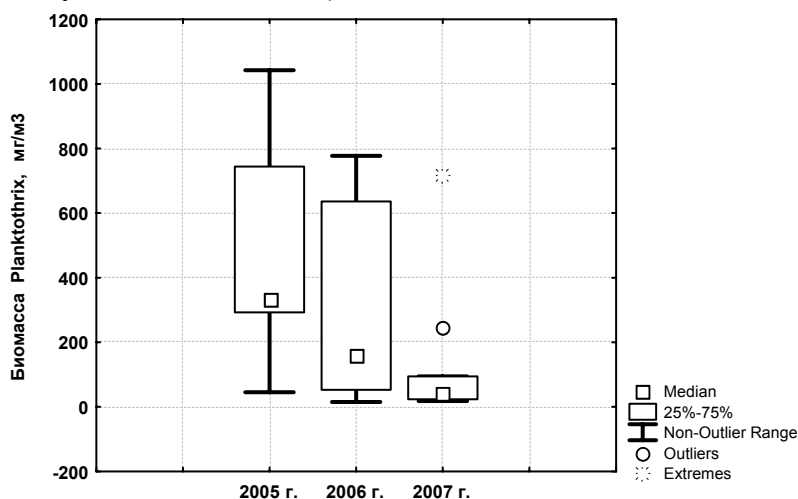


Рис.3. Межгодовая динамика биомассы *Planktothrix agardhii* на ст. 21 мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь 2005-2007 гг.

Среди диатомовых структуру биомассы фитопланктона формировала *Skeletonema subsalsum* (A. Cl.) Bethge. В 2005 г. она доминировала в первой половине июля и в середине августа-начале сентября, составляя 11-24% биомассы (40% проб). В 2006-2007 гг. ее роль в планктоне увеличилась – в 70-77% пробах она определила 11-98% общей биомассы. Количественные параметры диатомеи в 2007 г. были в среднем выше, чем в 2005-2006 гг. (рис. 4). В 2006 г. были отмечены значительные колебания биомассы *S. subsalsum* в большой степени связанные с увеличением солености до 1.45-1.54‰ в конце августа-середине сентября. При этих значениях 26 августа ее биомасса составила 1709 мг/м³, а 15 сентября – максимум для всего периода 2005-2007 гг. 4726 мг/м³.

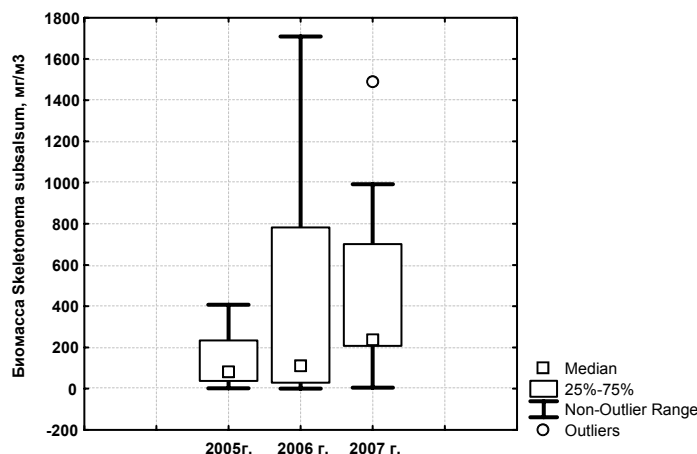


Рис. 4. Межгодовая динамика биомассы *Skeletonema subsalsum* на ст. 21 мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь 2005-2007 гг. (в 2006 г. исключена величина 4726 мг/м³).

Общую биомассу фитопланктона 2005 г. (июнь-июль, середина августа) и 2007 г. (весь период, 44% проб) на 10-30% обеспечили разноразмерные криптомонады (порядок *Cryptomonadales*), В 2006 г. в состав доминантного комплекса они не вошли. Уровень вегетации криптомонад в рассматриваемые годы был выше в 2005 г. (рис. 5). Существовала положительная значимая корреляция между биомассой криптомонад и величиной прозрачности (r (П) = 0.4 и r (С) = 0.44; $p < 0.05$). Расчет среднего объема клеток криптомонад обнаружил уменьшение его величины в 2007 г. (130 ± 8 мкм³) по сравнению с 2006 г. (213 ± 9 мкм³) и 2005 г. (223 ± 12 мкм³).

В среднем суммарная биомасса фитопланктона за июнь-октябрь в 2005 г. (1717 ± 762 мг/м³) и 2006 г. (1811 ± 1495 мг/м³) имела сходные значения. В 2007 г. продуктивность фитопланктона снизилась до 1130 ± 726 мг/м³.

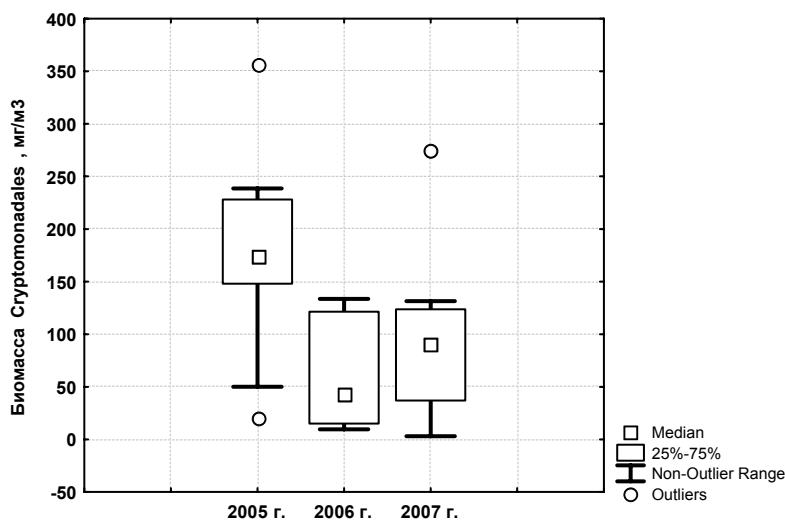


Рис. 5. Межгодовая динамика биомассы *Cryptomonadales* на ст. 21 мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь 2005-2007 гг.

В целом, в июне-октябре 2005-2007 гг., как это отмечалось и ранее (Басова и др., 2002; Еремина, Ланге, 2003) в северной части мелководного района восточной части Финского залива таксономическое разнообразие фитопланктона обеспечивали зеленые, синезеленые и диатомовые водоросли. Структуру доминантного комплекса формировали, преимущественно, типичные для этого района залива потенциально токсичные виды синезеленых *Planktothrix agardhii* и *Aphanizomenon flos-aquae* (Макарова, 1997; Никулина и др., 1999; Ланге, Шилин, 2004; Никулина, Ланге, 2008), а также диатомея *Skeletonema subsalsum* (Шишкин и др., 1989; Никулина, 2003), являющаяся индикатором повышенного содержания биогенных элементов (Гибсон и др., 1993) и разноразмерные криптомонады. Количественные параметры фитопланктона в целом соответствовали таковым 1982-1988 гг. и были в среднем в 1,5-4 раза ниже соответствующих данных за 1997-2000 гг. (Никулина, 2003).

В результате уменьшения прозрачности воды в июне-сентябре 2007 г. отмечены существенные изменения в таксономическом составе водорослей связанные с элиминированием видов зеленых и снижение общего числа таксонов в пробе. С ростом мутности уменьшается количество солнечной радиации, проникающей в толщу воды, сокращается глубина эвтрофной зоны. У зеленых водорослей область прямой зависимости фотосинтеза от общего солнечного излучения наблюдали при радиации 30-200 кал/см², у диатомовых – при 20-120 кал/см², у синезеленых – при 10-70 кал/см². При низкой интенсивности света синезеленые растут лучше, чем зеленые и для них ухудшение световых условий не является лимитирующим фактором (Кузьменко, 1981). В то же время для вида *P. agardhii* в нашей работе показана положительная корреляция между его биомассой и прозрачностью. Увеличение мутности воды в 2007 г. ингибировало вегетацию этого вида (рис. 4). Существовала также положительная связь, но менее выраженная, биомассы криптомонад и прозрачности. Обращает на себя внимание уменьшение среднего объема клеток криптомонад в 2007 г. по сравнению с 2005-2006 гг. В работе (Максимова, 2006) указывается, что при небольшой степени замутненности воды (5-10 мг/л), во время разработки песчано-глинистых грунтов, в фитопланктоне преобладают мелкоклеточные фракции. В среднем биомасса диатомеи *Skeletonema subsalsum* в 2007 г. увеличилась тогда, как биомасса фитопланктона в целом уменьшилась. Таким образом, гидростроительные работы в акватории Невской губы в 2006-2007 гг., сопровождающиеся ростом мутности воды в направлении транзита невских вод, значительно повлияли на структуру таксономического состава, комплекса доминант и количественные характеристики фитопланктона в северной курортной зоне Санкт-Петербурга.

Список литературы

- Басова С.Л., Силина Н.И., Ланге Е.К., Ковалева В.В., Степаненко И.В. Качество вод Невской губы по гидробиологическим показателям /Водные объекты Санкт-Петербурга. - СПб, Символ. 2002. С. 300-311.
- Кузьменко М.И. Миксотрофизм синезеленых водорослей и его экологическое значение. Киев, Наукова Думка. 1981. 212 с.
- Ланге Е.К., Шилин М.Б. Состояние планктонных сообществ Балтийского моря /Комплексные исследования процессов, характеристик и ресурсов Российских морей Северо-Европейского бассейна (проект подпрограммы «Исследование природы Мирового океана» федеральной целевой программы «Мировой океан»). Вып.1. КНИЦ, Апатиты, 2004. С. 222-228.
- Макарова С.В. Видовой состав и количественные характеристики фитопланктона /Видовой состав и количественные характеристики фитопланктона. Экосистемные модели. Оценка современного состояния Финского залива. Ч.2. СПб., Гидрометеиздат. 1997. С. 345-365.
- Максимова О.Б. Влияние повышенной мутности воды на структурно-функциональные характеристики фитопланктона / Сб. науч.трудов ГосНИОРХ, вып.331, т.1. 2006. С.86-122.
- Никулина В.Н., Трифонова И.С., Летанская Г.И., Павлова О.А. Фитопланктон /Финский залив в условиях антропогенного воздействия. СПб. 1999. С.108-126.
- Никулина В.Н., Ланге Е.К. Изменения развития фитопланктона восточной части Финского залива в 2002-2004 гг. / Водные ресурсы, т.35, №2. 2008. С. 231-238.
- Шишкин Б.А., Никулина В.Н., Максимов А.А., Силина Н.И. Основные характеристики биоты вершины Финского залива и ее роль в формировании качества воды. Л., Гидрометеиздат. 1989. 95 с.
- Basova, S. L. and Lange, E.K.. Trends in late summer phytoplankton in the Neva Bay and eastern Gulf of Finland during 1978 to 1990. Memoranda Soc. Fauna Flora Fennica 74.1998.P. 1- 14.
- Eremina T., Lange E. Estimation of changes in the ecosystem state from observations in the Gulf of Finland //Baltic Floating University Research Bulletin/UNESCO, № 6. 2003. P. 15-19.
- Gibson C.E., McCall R.D. & Dymond A. *Skeletonema subsalsum* in a freshwater Irish lake. – Diatom Research, v.8 (1). 1993. P. 65-71.
- HELCOM, Baltic Marine Environmental Protection Commission – Helsinki Commission. Guidelines for the Baltic Monitoring Programme for the third stage; Part D. Biological Determinands, 27 D, 1988.161 p.
- Kononen K. Dynamics of the toxic cyanobacterial blooms in the Baltic sea /Finnish Mar. Res., 261.1992. P. 3-36.

Niculina V.N. Seasonal dynamics of phytoplankton in the inner Neva Estuary in the 1980s and 1990s /Oceanologia, 2003. 45 (1). P. 25–39.

Panov V.E., Alimov A.F., Golubkov S.M., Orlova M.I., Telesh I.V. Environmental problems and challenges for the coastal zone management in the Neva estuary (eastern Gulf of Finland) /Baltic Coastal Ecosystems: Structure, Function and Coastal Zone Management. CEEDES-Series. Berlin: Springer Publ. 2002. P. 171 – 184.

СВОБОДНОЖИВУЩИЕ ПРОСТЕЙШИЕ ПРЕСНЫХ ВОДОЕМОВ ЮГА ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД

А.Ю. Левых

ГОУ ВПО Ишимский государственный педагогический институт имени П.П. Ершова
627756 г.Ишим, Россия, wedernikowa@mail.ru

В последнее десятилетие на фоне нарастающего загрязнения пресных вод увеличился интерес к изучению фауны и экологических особенностей свободноживущих простейших, которое является основой для разработки гидробиологических методов оценки качества вод.

Однако большинство известных нам работ посвящено изучению простейших сопредельных территорий (Лихачёв, Москалец, 2006; Широбоков, Лихачёв, 2007; Жирнова, 2006 и др.). Первые сведения о свободноживущих пресноводных инфузориях водоёмов лесостепной зоны Тюменской области появились совсем недавно и касаются ряда озёр Ишимского и Казанского районов (Суппес, 2007). Это и определило цель данной работы: изучение фауны и индикаторных особенностей свободноживущих простейших ряда проточных и стоячих водоёмов юга Тюменской области.

Материалом для исследования послужили гидробиологические пробы, отобранные в августе-сентябре 2004-2007 годов из двух проточных водоёмов: реки Ишим в районе городского пляжа г.Ишима, реки Голында, протекающей в селе Журавли Омутинского района, и двух стоячих водоёмов: старицы Очистные, расположенной вблизи ишимских городских очистных сооружений, старицы Подкова, находящейся в реликтовом синицинском сосновом бору (Ишимский район). Для отбора проб использовали стандартные методы (Лихачев, 1997; 2004). Всего в указанных водоёмах собрали 30 проб и приготовили более 300 микропрепаратов. Определение видовой принадлежности простейших производили по определителю пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (Кутикова, Старобогатов, 1977).

Степень органического загрязнения водоёма оценивали по индексу сапробности S , который вычисляли по формуле

$$S = \frac{\sum sh}{\sum h}, \text{ где}$$

s – индикаторная значимость вида,

h – относительное количество особей вида.

Индикаторную значимость выявленных видов определяли по таблицам В. Сладечека (Sladечek, 1969, 1973). Оценку степени загрязнения исследуемых водоёмов по сапробности дублировали анализом индексов биоразнообразия (Одум, 1986).

По количеству семейств, родов и видов в исследованных пресных водоёмах преобладают ресничные инфузории (Ciliata), которые в анализируемых пробах представлены 45 видами, относящимися к трём подклассам (Holotricha, Peritricha, Spirotricha), шести отрядам (Gymenostomata, Heterotricha, Hypotricha, Peritricha, Hymenostomata и Oligotricha) и тринадцати семействам (Holophryidae, Chlamydodontidae, Frontoniidae, Amphileptidae, Stentoridae, Spirostomidae, Oxytrichidae, Vorticellidae, Halteriidae, Parameciidae, Metopidae, Epistylidae, Euplotidae) (Табл.1.).

Наибольший вклад в фауну простейших исследуемых водоёмов вносят отряды Gymenostomata и Hypotricha. В просмотренных нами пробах отряд Gymenostomata представлен тремя семействами: Holophryidae, Chlamydodontidae и Amphileptidae, включающими в общей сложности 11 видов, что составляет 21,6% от общего количества выявленных нами видов. Отряд Hypotricha, представлен шестнадцатью видами семейства Oxytrichidae (31,4%).

Одинаковый вклад – по 9,8% в видовое разнообразие протозой изученных водоёмов вносят отряды Heterotricha и Peritricha, каждый из которых представлен 5 видами. Наименьшим числом видов – двумя (5,3%) представлен отряд Oligotricha.

Наибольшей распространённостью характеризуются такие виды, как *Bodo ovatus*, *Paramecium caudatum*, *Vorticella convallaria*, присутствующие в разных водоёмах.

Таблица 1. Простейшие (п/ц Protozoa) пресных водоёмов юга Тюменской области

Вид	р.Голында			р.Ишим			старица Очистные		старица Подкова	
	2004	2006	2007	2004	2006	2007	2006	2007	2006	2007
<i>Arcella discoides</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Arcella vulgaris</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Diffugia globulosa</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Diffugia oblonga</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bodo ovatus</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Cercobodo ovatus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Holophrya nigricans</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Holophrya simplex</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Paramecium caudatum</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
<i>Paramecium putrinum</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Paramecium bursaria</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Paramecium aurelia</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Trachelius ovum</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudoprorodon fartus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Chilodontopsis depressa</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chilodontopsis vorax</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>Frontonia acuminata</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Colpidium colpoda</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stentor roeseli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Stentor polymorphus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Strongylidium crassum</i>	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Uroleptus rattulus</i>	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Gastrostyla steini</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Holosticha mystacea</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Euplotes charon</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Euplotes affinis</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Vorticella convallaria</i>	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
<i>Vorticella alba</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Carchesium polypinum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Hemiphrys fusidens</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Hemiphrys pleurosigma</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Litonotus lamella</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Oxytricha ridibunda</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Oxytricha pelionella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Strombidium viride</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Strombidium mirabile</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Spirostomum minus</i>	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Chilodonella uncinata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Urostyla grandis</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>Urostyla weissei</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Euplotes patella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Holosticha grisea</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Metopus contortus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Lophyllum helus</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Epistylis plicatillis</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Metopus striatus</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypotrichidium conicum</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Oxytricha ferruginea</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Astylozoon faurei</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Strongylidium lanceolatum</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Oxytricha fallax</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

В ходе исследования нами встречены такие редкие виды, как *Stentor roeseli*, *Stentor polymorphus*, *Carchesium polypinum*, и два из них *Stentor polymorphus*, *Carchesium polypinum* присутствовали в пробах 2006 года из старицы Подкова.

В 2006 году наиболее многочисленными в пробах из реки Ишим были жгутиконосцы родов *Bodo* и *Cercobodo*, *Paramecium caudatum*, реки Голында - *Paramecium caudatum*, *Frontonia acuminata*, старицы Очистные – *Paramecium aurelia*, *Chilodontopsis vorax*, *Oxytricha ridibunda*, старицы Подкова - *Pseudoprorodon farctus*, *Euplotes affinis*. В 2007 году в пробах из реки Ишим численно преобладали *Paramecium caudatum* и *Chilodontopsis vorax*, реки Голында – виды рода *Euglena*, *Vorticella convallaria*, старицы Очистные - виды рода *Euglena*, *Strongylidium crassum*, старицы Подкова - *Paramecium caudatum* и *Oxytricha pelionella*.

Очевидно, что каждый водоём характеризуется особым соотношением разных групп простейших (Табл.1). При этом видовой состав и количественные соотношения разных видов неодинаковы даже в пробах из одного водоёма, взятых в разные годы. Вероятно, такие изменения обусловлены динамикой условий окружающей среды. В литературе указывается даже на сезонные изменения фауны пресноводных простейших, обусловленные изменением температуры, концентрации кислорода и других факторов внешней среды (Хааусман, 1988; Жирнова, 2006).

За весь период исследования в пробах из р. Голында мы выявили 27 видов простейших, из р. Ишим – 23, в пробах из старицы Очистные – 21, старицы Подкова – 17 видов. Таким образом, наибольшим разнообразием простейших характеризуются проточные водоёмы, в которых благодаря течению и большой протяженности водоёма складываются более разнообразные экологические условия, что создаёт возможность совместного существования большого количества разных видов.

По числу видов и количеству особей каждого вида мы рассчитали индексы видового биоразнообразия исследованных протоценозов.

В 2006 году наибольшими индексами видового богатства, видового разнообразия Шеннона и Симпсона характеризуется сообщество простейших реки Ишим. Наименьший индекс доминирования Симпсона в ишимском сообществе указывает на то, что большее количество видов достигает в нём высокой численности (Табл.2).

Таблица 2. Видовое биоразнообразие сообществ пресноводных простейших юга Тюменской области

Индексы биоразнообразия	р. Голында		р. Ишим		Старица Очистные		Старица Подкова	
Индекс видового богатства, R	12,2	5,87	13,1	9,18	7,43	7,8	10,5	5,80
Индекс видового разнообразия Шеннона, H	-2,98	-2,07	-3,06	-2,44	-2,41	-2,55	-2,76	-1,86
Индекс видового разнообразия Симпсона, D	0,94	0,87	0,95	0,90	0,90	0,91	0,93	0,81
Индекс доминирования Симпсона, C	0,06	0,14	0,05	0,10	0,10	0,08	0,07	0,19
Индекс выровненности Пиелу, E	-0,95	-0,94	-0,95	-0,93	-0,94	-0,97	-0,94	-0,90

Самые низкие показатели видового богатства, видового разнообразия, и самый высокий показатель доминирования отмечен в сообществе простейших старицы Очистные, подверженном наибольшему антропогенному воздействию в виде загрязнения органическими отходами разного происхождения (растительный мусор, навоз, пищевые отходы, сбрасываемые жителями близлежащих домов и садами). Высокое доминирование указывает на то, что лишь отдельные виды, устойчивые к органическому загрязнению, достигают в этом сообществе высокой численности.

В 2007 году во всех водоёмах, кроме старицы Очистные отмечается снижение уровня видового разнообразия и выровненности и возрастание доминирования. Наиболее значимое сокращение видового разнообразия простейших наблюдается в пробах из старицы Подкова, т.е. в сообществе менее всего насыщенном видами в предыдущем году. В сообществе простейших старицы Очистные, включающем максимальное количество видов в 2006 году, напротив, наблюдается некоторое повышение индексов видового разнообразия и выровненности при одновременном понижении доминирования. Таким образом, видно, что на уровень видового разнообразия влияет не только комплекс природно-климатических факторов, но и биотические взаимоотношения в сообществе.

Исходя из видового состава, относительной численности и индикаторной значимости простейших, мы рассчитали индексы сапробности исследуемых участков водотока (Табл.3).

Во всех водоемах кроме старицы Подкова преобладают α-мезосапробные виды простейших (38,1% в старице Очистные, 39,1% в реке Ишим, 48,1% в реке Голында). В старице Подкова наиболее высокая доля β-мезосапробных видов – 70,6%.

Таблица 3. Сапробность пресных вод юга Тюменской области

водоемы годы	р. Голында			р. Ишим			Старица Очистные		Старица Подкова	
	2004	2006	2007	2004	2006	2007	2006	2007	2006	2007
сапробность	2,5	2,71	2,8	2,5	2,88	2,9	3,3	2,6	2,35	2,7

Наибольший уровень насыщения органическими веществами в 2006 году выявлен в старице Очистные, наименьший – в старице Подкова. В 2007 году наибольшей сапробностью отличается р. Ишим, наименьшей – старица Очистные. Можно предположить, что такие изменения в определённой степени обусловлены высоким уровнем половодья, наблюдавшегося весной 2007 года. Талые воды принесли с собой дополнительные загрязняющие органические вещества (хозяйственно-бытовые отходы, удобрения с сельскохозяйственных угодий и т.п.). Из средств массовой информации известно также, что был осуществлён сброс воды с гидротехнических сооружений Северного Казахстана, благодаря чему в р. Ишим могла увеличиться концентрация таких органических веществ как фенолы, нефтепродукты, СПАВ. В старице Очистные, напротив, благодаря паводку могло произойти «разбавление» загрязнителей, присутствующих ранее в высоких концентрациях, что способствовало снижению индекса сапробности этого водоёма.

В целом за период с 2004 по 2007 годы насыщенность исследованных водоёмов органическими веществами постепенно увеличивается, и все водоёмы характеризуются α -мезосапробным (достаточно сильным) уровнем органического загрязнения. На это же указывает и присутствие в исследуемых водоёмах видов родов *Vodo* и *Paramecium*, индицирующих α -мезосапробную зону.

Лишь старица Подкова в 2006 году может быть отнесена к β -мезосапробным водоёмам, что наряду с доминированием в протоценозе данного водоёма β -мезосапробных видов свидетельствует о его высоком потенциале по самоочищению.

Динамика видового разнообразия простейших и сапробности водоёмов по годам указывает на необходимость постоянного мониторинга состояния пресных водоёмов с применением методов биоиндикации.

В целом, проведённые исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. В протоценозах пресных водоёмов лесостепной зоны Тюменской области преобладают ресничные инфузории. В реках Ишим, Голында и старице Очистные доминируют α -мезосапробные виды простейших.
2. Каждый водоём характеризуется своеобразием видового состава и количественного соотношения разных видов, которые изменяются по годам.
3. Аллохтонное загрязнение водоемов приводит к сокращению видового разнообразия и богатства и к увеличению доминирования в сообществах простейших.
4. Все исследованные водоёмы характеризуются α -мезосапробным уровнем органического загрязнения.
5. Рост органического загрязнения водоемов и изменение показателей видового разнообразия сообществ простейших указывает на необходимость постоянного мониторинга состояния водоёмов, расположенных в населённых пунктах.

Список литературы

- Жирнова Е.В.* Сезонная динамика видового состава и численности кругоресничных инфузорий в водоёмах северной лесостепи Омской области / В кн. Полевые и экспериментальные биологические исследования. – СПб.: Изд-во Тесса, 2006. – С.41-48.
- Кутикова Л.А., Старобогатов Я.И.* Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. – Л.: Гидрометеиздат, 1977 – 453 с.
- Лихачев С.Ф.* Методика эколого-фаунистических исследований протистов на примере эвгленовых // В кн.: Методология и методика естественных наук. Омск: ОМИПКО: Изд-во ОмГПУ, 1997. – С. 111-127.
- Лихачёв С.Ф.* Полевые исследования беспозвоночных. – СПб.: Изд-во Тесса, 2004. – 142 с.
- Лихачёв С.Ф., Москалец Ю.В.* Индикаторные особенности трахелломонд, на примере водоёмов г. Омска // Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития: Материалы I междунар. науч.-практ. конф. – Ишим: ИГПИ им. П.П. Ершова, 2006. – С.71-72.
- Москалец Ю.В.* Доля трахелломонд в эвгленофауне озера Лебяжье// Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития: Матер. I междунар. науч.-практ. конф. – Ишим: ИГПИ им. П.П. Ершова, 2006. – С.76-78.
- Сунпес Н.Е.* Видовое разнообразие и некоторые экологические особенности свободноживущих инфузорий водоёмов юга Тюменской области // Полевые и экспериментальные исследования биологических систем: Матер. I межвуз. науч.-практ. конф. – Ишим: ИГПИ им. П.П. Ершова, 2007. – С. 43-45.
- Хаусман К.* Протозоология. – М.: Мир, 1988. – 336 с.

Широбоков Д.И., Лихачёв С.Ф. Эвгленовые жгутиконосцы рода *Phacus* из водоёмов подзоны южной лесостепи Омской области // Экологические проблемы Зауралья: Матер. I межвуз. науч.-практ. конф. – Ишим: Изд-во ИГПИ им. П.П. Ершова, 2007. – С.108-113.

Sladечек V. The measure of saprobility // Verh. Intern. Verein Limnol., 1969, Bd. 17/ - P. 546-559.

Sladечек V. Sistem of water qualiti from biologikal point of view // In: Ergebnisse der Limnologie. Stuttgart, 1973. - P. 212-218.

РОЛЬ ИНФУЗОРИЙ В ВЕСЕННЕМ ПЛАНКТОНЕ МЕЗОТРОФНОГО ОЗЕРА (НА ПРИМЕРЕ ОЗ. КРАСНОГО)

Е.С. Макарецва, Д.С. Бардинский

Институт Озёроведения РАН

196105, С.-Петербург, ул. Севастьянова, д. 9, Россия, bardos777@mail.ru

Зоопланктон является важнейшим гетеротрофным звеном в экосистеме водоёмов. Известно, что основную биомассу зоопланктона создают ракообразные. Однако высокая скорость размножения его мелкой фракции, особенно протозойного планктона способствует тому, что создаваемая им продукция соизмерима, а иногда и выше продукции, создаваемой ракообразными. Из многочисленных литературных источников известно, что в мезотрофных незарастающих водоёмах, каким является оз. Красное (Карельский перешеек) наибольшая численность протозойного планктона отмечена ранней весной после вскрытия водоёмов. В среднем, при балансовых расчётах отношение биомассы этих двух сообществ весной принималось за величину 30%. Общая характеристика оз. Красного и результаты его комплексных исследований в период с 1963 года по настоящее время изложены в ряде монографий (Методические аспекты..., 1988, Влияние климатических изменений..., 2003).

Необходимо отметить, что антропогенное воздействие на озеро Красное значительно ниже, чем во времена активной сельскохозяйственной деятельности колхозов на берегах озера в 60-е - 80-е годы. Но в будущем, при дальнейшем развитии горнолыжного курорта и строительства новых корпусов базы отдыха, возможно увеличение нагрузки на экологию озера. При проведении работ по мониторингу оз. Красного в период с 2000 по 2005 годы протозойный планктон, представленный в основном инфузориями, исследовался более детально. С середины мая по октябрь дважды в месяц пробы отбирались на центральной станции озера (гл. 10 м) через каждые 2 метра. Ракообразные отбирались сетью Джеди (газ 58), с этих же глубин батометром Руттнера отбирали 1 литр воды с последующим осаждением формалином для подсчёта коловраток и просчёта простейших в живом виде в нефиксированных пробах. Обработка и подсчёт биомассы производился по общепринятой методике. Продукция всех таксономических групп рассчитывалась по уравнению балансового равенства, исходя из дыхания, определяемого по формулам Хлебович, Суцени, Галковской (Методические рекомендации..., 1982). Использовались величины K_2 , рекомендованные И.Н. Андронниковой для оз. Красного - 0.5 – Protozoa, 0.4 – Rotatoria, 0.35 – Cladocera, 0.25 – Diaptomidae, 0.13 – Cyclopoidae (Андронникова И.Н., 1976). Калорийность была принята для зоопланктона – 0.55 ккал/г и 0.9 ккал/г для инфузорий (Копылов 1975, Лаврентьев 1979). В расчёты вводилась температурная поправка Q_{10} . Из ракообразных к хищникам относили взрослых циклопов и их старшую молодь. Основными структурообразующими видами метазоопланктона озера Красного являются ракообразные *Mesocyclops leuckarti* Claus, *Eudiaptomus gracilis* Sars, *Daphnia cristata* Sars, *Daphnia galeata* Sars, *Bosmina coregoni* (Baird), *Bosmina longispina* Laydig, *Diaplanosoma brachyurum* (Liev.). Основную биомассу коловраток отстойного планктона создают *Kellicottia longispina* (Kellic.), *Conochilus unicornis* Rouss, *Filinia longiseta* (Ehrbg), *Polyarthra vulgaris* Carlin. Массовыми видами протозоопланктона в озере Красном являются инфузории: *Urotricha farcta* Clapere de et Lachmann (фракция до 40 мкм), *Strobilidium velox* Faure-Fremiet, *Strombidium mirabile* Penard, *Tintinopsis cratera* Hada (фракция 40-100 мкм), *Strombidium virida* Stein, *Stokesia vernalis* (фракция от 100 мкм до 200 мкм).

Характерной чертой для этих двух сообществ зоопланктона является повторяющийся из года в год тип сезонной динамики. После вскрытия водоёма, в начале мая при T воды 7 - 10 °С, что соответствует периоду ранней биологической весны, при обилии аллохтонной органики отмечается первый и единственный максимум в развитии инфузорий. Численность их в это время составила от 5000 до 11000 тыс./м³, биомасса от 0.17 до 0.42 г/м³ (рис. 1).

Такие высокие показатели объясняются низким развитием в это время из-за низких температур воды коловраток и отсутствием фильтрующих ракообразных, являющихся пищевыми конкурентами инфузорий. Основную биомассу составляют взрослые циклопы (*C. kolensis*, *C. strenuus*), вышедшие

из пелогена в воду. Общий уровень биомассы ракообразных в это время зависит от интенсивности этого выхода, который в зависимости от срока вскрытия водоема и T воды может значительно различаться в разные годы.

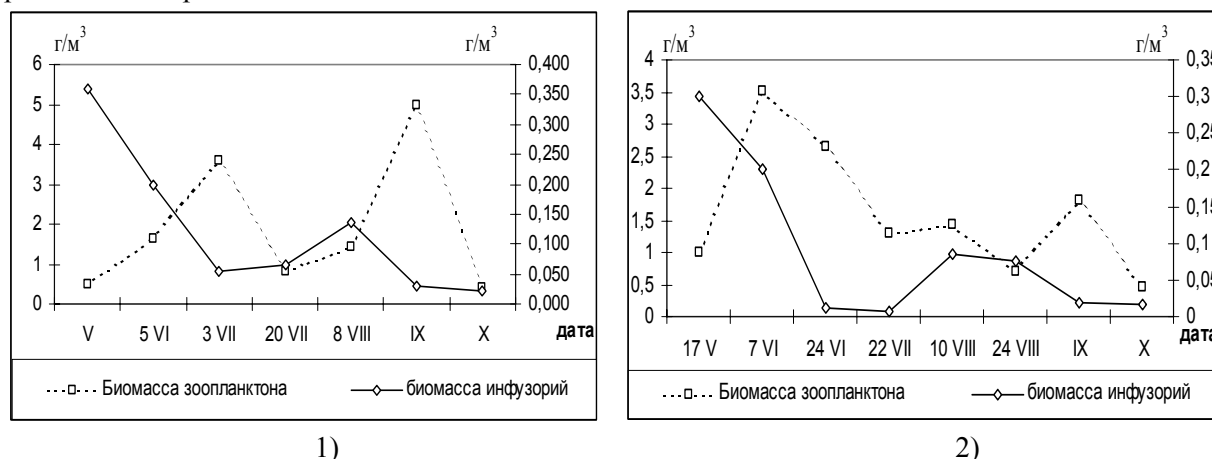


Рис.1. Сезонная динамика биомассы простейших и зоопланктона. 1)– 2001 год, 2)– 2005 год

В этот период минимальное соотношение биомасс инфузорий и метапланктона отмечалось в 2005 г и составило 26%, максимальное – 70 % в 2001 и 2004 гг (табл. 1). Картина резко меняется уже в первой декаде июня, когда в планктоне интенсивно размножаются коловратки и диаптомусы. Велика и роль циклопов, создающих основную биомассу планктона. Соотношения биомассы уменьшается в июне до 3 – 12%.

Таблица 1. Соотношение биомасс в $г/м^3$ свободно живущих инфузорий (B_1) и метапланктона (B_2) в оз. Красном в различные сезоны 2000-2005 гг.

Период	B_1	B_2	B_1/B_2 (%)
2000 г			
Май	0,16	0,41	39,0
Июль-август	0,06	1,47	4,0
Сентябрь-октябрь	0,01	0,90	1,0
Май-октябрь	0,08	0,92	8,7
2001 г			
Май	0,35	0,50	70
Июнь	0,20	1,62	12
Июль-август	0,07	1,81	4
Сентябрь-октябрь	0,03	2,70	1
Май-октябрь	0,16	1,7	9,4
2003 г			
Май	0,08	0,17	47
Июнь	0,10	2,80	3
Июль-август	0,05	1,21	2
Сентябрь-октябрь	0,03	1,80	1,7
Май-октябрь	0,065	1,49	4,4
2004 г			
Май	0,34	0,48	70
Июнь	0,09	2,41	3
Июль-август	0,03	1,70	1
Сентябрь-октябрь	0,02	0,52	4
Май-октябрь	0,12	1,28	9,4
2005			
Май	0,26	1,0	26

В течение лета, в период интенсивного развития летнего тепловодного комплекса ракообразных в основном дафний, количественные показатели цилиат ничтожно малы, роль их в планктоне не превышает 4%. Осенью, несмотря на высокие показатели численности инфузорий, соотношение двух биомасс как и летом не превышало 1-4% и зависело от скорости выпадения из

планктона тепловодного комплекса ракообразных. В среднем за вегетационные сезоны 2000-2005 гг. отношение биомасс двух сообществ составили 8% при диапазоне 4,4 – 9,4%. Такие показатели характерны для озер олиго-мезотрофного типа и немного ниже (10%), приводимых И.Н.Андронниковой (1983) для четырёх озёр Карельского перешейка.

Таблица. 2. Биомасса, продукция, дыхание и рацион протозойного и метазойного планктона в мае 2001, 2005 гг (в ккал/м³ сут.)

Биомасса (В)			Продукция (Р)		Дыхание (R)		Рацион (С)	
Инф.	мир. зоопл.	хищ. зоопл.	инф.	мир. зоопл.	инф.	Σ мир. + хищ. зоопл.	инф.	мир. зоопл.
2001								
315,0	131,0	144,0	140,0	7,0	140,0	87,0	467,0	97,0
2005								
240,0	66,0	478,0	82,0	3,3	82,0	109,0	273,0	83,0

Полученные за пять лет данные, позволили оценить роль весеннего протозойного планктона в создании продукции органического вещества и его деструкции. При этом рассматривались две ситуации, когда соотношения биомасс двух фракций минимальны (2005 г) и максимальны (2001 г). Структура метазойного планктона в мае этих двух лет резко различалась. Так весна 2005 г была затяжной и холодной, озеро вскрылось поздно и при низких температурах воды ($T = 7,0^{\circ} \text{C}$) отмечалось незначительное развитие коловраток и единичная встречаемость ветвистоусых раков. Основную биомассу $1,0 \text{ г/м}^3$ создавали *Cyclops kolensis* и его старшие копепоиды, вышедшие из пелогена в воду, вследствие чего биомасса мирного зоопланктона составила лишь 13% от биомассы хищников. Весной 2001 г наблюдалась обратная картина: раннее вскрытие озера и быстрое прогревание воды ($T = 10,0^{\circ} \text{C}$) привело в это же время к массовому развитию коловраток (*Conochilus unicornis*, *Kellicottia longispina*, *Keratella quadrata*). По сравнению с 2005 г роль в планктоне диаптомусов, дафний и босмин была выше в 3 раза. По структуре зоопланктона этот период сходен с ранне-летним периодом. Количество хищников и мирного зоопланктона в общей биомассе ($0,5 \text{ г/м}^3$) почти одинаково (табл. 2). Несмотря на то, что биомасса инфузорий весной 2001 г в сыром весе составила 70% от биомассы метазойного планктона, биомассу мирного зоопланктона в энергетических единицах она превышала в 2,4 раза. Отсюда дыхание инфузорий превысило общее дыхание в 1,6 раза, продукцию и рацион его мирной части соответственно в 20 и в 4,8 раз. В 2005 г при доли инфузорий 26% в сыром весе биомасса инфузорий превышала биомассу мирного зоопланктона в 3,6 раза, продукцию в 20 раз, рацион – в 2,2 раза.

Анализируя роль инфузорий в энергетическом балансе всего сообщества зоопланктона (Rotatoria + Crustacea + Protozoa) отмечаются близкие их показатели, несмотря на существенную разницу их биомассы по этим годам (рис. 2).

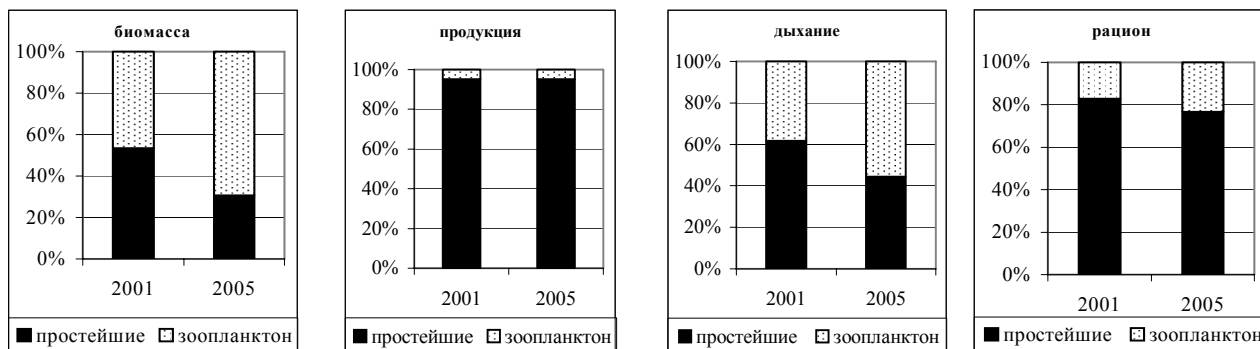


Рис. 2. Роль простейших в % в биомассе, продукции, дыхании и рационе всего зоопланктона.

Наибольшая разница 62% и 43% отмечена лишь при оценке роли дыхания в суммарном дыхании. Что касается продукции и рациона инфузорий по отношению к мирному планктону, они практически одинаковы. Для оценки роли весеннего комплекса инфузорий в создании им продукции

и рациона за весь вегетационный период двух лет приводим их весенние и сезонные показатели за период май-октябрь (табл. 3).

Таблица 3. Биомасса, рацион и продукция инфузорий в ккал/м³.

Дата	Биомасса	Продукция	Рацион
Май 2001	0,31	4,2	14,0
Май 2005	0,24	2,0	7,0
Май-октябрь 2001	0,14	13,0	43,3
Май-октябрь 2005	0,09	8,1	27

За период своего максимального развития в мае, продукция, создаваемая инфузориями и их рацион составили 32% в 2001 г и 25% в 2005 г от их суммарных показателей за весь вегетационный период.

Таким образом на весенний период приходится значительная доля деятельности инфузорий. Их роль в сообществе зоопланктона зависит от особенностей его структуры и от гидрологических особенностей различных лет исследования.

Всё сказанное относится в данному мезотрофному озеру. Но при антропогенном эвтрофировании может возрастать численность инфузорий. Поэтому взаимоотношения между планктонными сообществами по годам будут проявляться резко.

Список литературы.

- Андронникова И.Н. Продукция зоопланктона //Биологическая продуктивность оз. Красного и условия её формирования. Л., 1976, с. 160-178
- Андронникова И.Н. Соотношение биомасс протозойного и метазойного планктона как экспресс-метод для расчёта продукции простейших в озерах разного трофического типа. // Методы изучения состояния кормовой базы рыбохозяйственных водоёмов.// Сборник научных трудов ГОСНИОРХ, вып. 196, Л-д, 1983, с. 50-57.
- Влияние климатических изменений и эвтрофирования на динамику планктонных популяций мезотрофного озера. С.-Петербург, 2003, с. 124.
- Копылов А.И. О химическом составе и калорийности инфузорий –Океанология 1979, 19, вып 5
- Лаврентьев П.Я. Сообщество планктонных инфузорий субарктических тундровых озёр, структура, роль в экосистеме, реакция на антропогенное воздействие. // Сборник научных трудов ГОСНИОРХ, 1989, вып. 292, с. 110-121
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоёмах. // Зоопланктон и его продукция. 1982, Л-д, с. 33.
- Методические аспекты лимнологического мониторинга. // Л-д, «Наука», 1988, с. 176.

ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РЕЧНЫЕ СИСТЕМЫ ПО КАЧЕСТВЕННОМУ И КОЛИЧЕСТВЕННОМУ СОСТАВУ ФИТОПЛАНКТОНА

Д.В. Малащенко

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет
119991 г. Москва, Ленинские горы, Россия, mgu-gidro@yandex.ru

Для оценки степени загрязнения водных объектов по показательным организмам всего биоценоза в комплексе либо по какой-то одной крупной составляющей биоценоза (водные беспозвоночные, бактерии, водоросли и т.д.) существует несколько широко применяемых во всем мире систем и методов. К их числу относятся: пионерская работа Кольквитца и Марссона, (Kolkwitz, Marsson, 1909), разработки Зелинки и Марвана (Zelinka, Marvan, 1966), Кнеппа (Knopp, 1955), Пантле и Букка (Pantle, Buck, 1955), Сладечека (Сладечек, 1967), Ротшайна (Макрушин, 1974) и большое количество их модификаций (Whitton, Rott, 1996). В последние 15-20 лет все более активно используются индексы качества воды, основанные на видовом разнообразии одного из элементов пресноводных сообществ, например индекс DAIPo (Diatom Assemblage Index to Organic Water Pollution) в системе Т. Ватанабе (Watanabe et al., 1986, 1988) применительно к сообществу диатомовых водорослей.

Сравнительный анализ различных методов оценки качества воды по структурным характеристикам фитопланктонного сообщества был проведен по материалам, собранным по тракту реки Москвы в 2004-2006 гг. от Можайского гидроузла до пос. Рублево. Для разных створов на исследуемом участке реки Москвы, как у берега, так и на стрежне, были вычислены индексы сапробности по Пантле и Букку в модификациях Сладечека и Ротшайна, произведен анализ качества

воды методом Кнеппа, рассчитаны средневзвешенные сапробные валентности, вычислены индексы DA_{Иро} и EPI. Аналогичные индексы были рассчитаны также для Можайского водохранилища и для притоков р. Москвы.

Анализ флоры р. Москвы показал, что из 167 выявленных таксонов, представляющих восемь отделов водорослей, индикаторами сапробности воды являются 108 видов и разновидностей водорослей, или 66.3 % от общего их числа. Наиболее представительной является группа бетамезосапробионтов, которая включает в себя 75 таксонов, что составляет 44.9 % от общего числа таксонов. Олигосапробионты представлены 17 таксонами (10.2 % от общего числа таксонов). Альфамезосапробионты включают в себя 13 таксонов (7.8 %), полисапробионты - 2 таксона (1.2 %), ксеносапробионты - 1 таксон (0.6 %).

Был рассмотрен характер изменения индекса сапробности в прибрежной части реки и на стрежне. Индекс S по тракту реки Москвы изменялся от 1.8 до 2.0 в прибрежной зоне и от 1.8 до 2.1 на стрежне. Среднее значение S по тракту реки составляет 1.92 (1.91 у берега и 1.93 на стрежне соответственно). Вычисленные нами индексы сапробности указывают на β -мезосапробную степень загрязнения вод реки Москвы и позволяют отнести исследуемый водоток 3 классу чистоты вод. Следует также отметить, что величины сапробности как в прибрежной зоне, так на стрежне реки практически одинаковые, что позволяет использовать прибрежные пробы для оценки качества воды всей реки.

Сравнительный анализ данных, полученных графо-аналитическим методом Кнеппа и методом Пантле-Букка, показал высокое сходство результатов. Следует отметить, что графическая форма изображения результатов по методу Кнеппа более наглядная. Однако данный метод является малоэффективным в силу его трудоемкости. Он может служить скорее как дополнение к методу Пантле-Букка.

По данным фитопланктона были также рассчитаны средневзвешенные сапробные валентности (A_k) по методу Зелинки и Марвана для каждого из створов реки Москвы. Таким образом, была получена картина сапробных условий в сообществе фитопланктона реки Москвы. Наибольшие значения в ряду средневзвешенных сапробных валентностей на каждой из исследуемых станций (как у берега, так и на стрежне) приходятся на β -мезосапробную зону. Соседние величины в ряду средневзвешенных сапробных валентностей показывают, что по мере продвижения по тракту от верховья к г. Москве роль олигосапробов снижается одновременно с увеличением значений α -мезосапробной зоны. Данный метод представляется более информативным и достоверным по сравнению с методом Пантле-Букка в модификации Сладечека.

Оценка качества воды по системе Зелинки и Марвана дает более детализированную картину, позволяющую сопоставлять доли биоиндикаторных организмов сообщества, относящихся к разным сапробностям, и устанавливать тенденцию изменчивости качества воды. Однако из-за постоянно меняющихся значений сапробных валентностей со временем и в зависимости от типологии водоема, для достоверности результатов приходится проводить собственные расчеты индикаторных валентностей с учетом региональных особенностей гидробионтов и характера загрязнений. Учитывая это, а также трудоемкость расчетов, понятна ограниченность широкого применения данного метода.

Индексы сапробности в модификации Дж. Ротшайна коррелировали со значениями индексов Сладечека лишь эпизодически. Использование данного индекса из-за сложности в его расчетах и его неудобной нормировки (от 10 до 90), представляется довольно проблематичным на практике.

Индексы DA_{Иро} по тракту реки Москвы изменялись от 49.8 до 61.3. Среднее значение индекса DA_{Иро} по тракту реки равно 55.8 (56.3 у берега и 55.3 на стрежне), что соответствует олигосапробной зоне самоочищения и II классу качества воды.

Значения индексов DA_{Иро} для оценки вод прямо противоположны индексам сапробности – чем меньше значение DA_{Иро}, тем большему загрязнению подвержен водный объект (Watanabe et al., 1986, 1988). Сопоставление DA_{Иро} с индексами сапробности в прибрежной зоне показывает, что на точках №2, 10 и 14 наблюдаются низкие значения S и высокие значения DA_{Иро}, а на точках №3 и №13 – максимальные значения S и низкие DA_{Иро}. В целом же по тракту сопоставление индексов сапробности и индексов DA_{Иро} не показывает четкого сходства. Это может быть объяснено несовершенством обоих методов для оценки качества воды по фитопланктонному сообществу, а также сложной гидродинамикой речных вод, способствующих переносу видов-индикаторов на достаточно большие расстояния от места поступления (значит и воздействия) загрязняющих веществ. Механические переносы видов-индикаторов в речных условиях от одних участков к другим могут существенно «смазывать» оценку качества воды. Это видно при сопоставлении индексов S и DA_{Иро} по тракту реки Москвы на стрежне. В этом случае практически каждый индекс варьирует без каких-либо закономерностей.

DAIpo, вычисляемый методом статистического анализа на основе классификации видов диатомовых водорослей по их отношению к органическому загрязнению, дает более точную информацию об уровне органических загрязнений водных объектов (Барина, Медведева, 1998). Индексы DAIpo рассчитываются довольно трудно в связи с тем, что видов-индикаторов, имеющих релевантные валентности, обычно в сообществах мало (Барина и др., 2006). К тому же, определение качества воды по методу Ватанабе основано на использовании в роли видов-индикаторов органического загрязнения исключительно эпипитических диатомовых водорослей (Никулина, 2006), что ставит под сомнение адекватность его использования применительно к речному фитопланктону.

Для изученного тракта р. Москвы был также рассчитан индекс EPI (Environmental Pollution Index), который коррелирует с трофическим статусом водного объекта, и варьирует от 1 до 4 (Барина и др., 2006). Значения индекса по тракту р. Москвы изменялись в пределах от 1.18 до 3.7. Среднее значение индекса по тракту реки составляет 2.3 (2.1 у берега и 2.5 на стрежне), что определяет воды реки Москвы как слабо загрязненные.

Таблица 1. Значения индексов по станциям р. Москвы (* - по Сладечку; ** - по Ротшайну).

Станции отбора проб	Значения индексов								
	S*	DAIpo	EPI	S**	A _k				
					х	о	В	α	Р
1. Нижний бьеф									
берег	1.93	53	1.18	17.6	0.04	2.82	5.77	1.37	0
стрень	1.98	57	2.3	20.4	0.05	2.49	5.59	1.86	0.01
2. Выше Можайска									
берег	1.88	60.5	2.8	38	0.42	3.42	4.86	1.28	0
стрень	1.95	53.5	3.7	39.2	0.06	2.91	5.87	1.16	0
3. Ниже Можайска									
берег	1.97	53.9	1.86	22.6	0.61	3.39	4.4	1.93	0.02
стрень	2.02	55	1.6	19.2	0.44	3.47	4.54	1.55	0.01
4. Выше р. Ведомки									
берег	1.84	56.8	2.45	26.6	0.47	4.01	4.55	1.13	0
стрень	1.94	54.5	3.36	23.6	0.2	3.3	5.46	1.05	0.01
5. Ниже р. Ведомки									
	1.93	59.6	2.91	24.6	0.43	3.45	4.95	1.19	0.01
6. Устье р. Рузы									
берег	1.82	57.3	2.28	29.5	0.14	2.53	5.66	1.74	0.01
стрень	1.88	57.3	2.83	37	0.42	2.76	5.34	1.47	0.01
7. Пос. Старая Руза									
берег	1.89	58.6	2.43	33.2	0.3	3.03	5.28	1.39	0.01
стрень	1.9	49.8	1.92	31.9	0.23	2.84	5.35	1.56	0.02
8. Тучково									
берег	1.91	53.3	2.38	38	0.15	2.76	5.59	1.48	0.02
стрень	1.9	52.9	2.79	32	0.16	2.63	5.45	1.7	0.04
9. Выше Звенигорода									
берег	1.9	50.6	1.86	33	0.06	1.94	5.58	2.09	0.02
стрень	1.84	56.6	2.8	36.2	0.07	2.31	5.38	2.22	0.02
10. Ниже Звенигорода									
берег	1.91	58.8	2.03	36.1	0.06	2.39	5.49	2.03	0.01
стрень	2.05	50.6	2.2	26.8	0.08	2.05	5.57	2.27	0.01
11. Пос. Успенское									
берег	1.94	56.1	1.67	24.8	0.04	2.25	5.18	2.47	0
стрень	1.89	58.5	2.37	31.5	0.02	2.16	5.46	2.36	0
12. Выше р. Истры									
берег	1.91	57	1.7	28.5	0.03	2.16	5.38	2.43	0
стрень	1.9	61.3	2.56	27.7	0.02	2.6	5.73	1.66	0
13. Ниже р. Истры									
берег	2.0	53.8	1.52	35	0.05	2.47	5.67	2.02	0.03
стрень	1.92	50	1.22	19.7	0.03	2.18	5.25	2.54	0
14. Пос. Ильинское									
берег	1.89	58.8	2.83	45.7	0.16	2.66	5.83	1.36	0
стрень	1.97	58.1	2.06	32.1	0.2	2.54	5	2.25	0.02

Аналогично DAIpo, индексы EPI основаны на диатомовых, и не учитывают большую часть видов в сообществе, если оно составлено с доминированием других групп водорослей.

За многие годы система Кольквитца-Марссона стала наиболее детально разработанной системой биологического анализа качества вод. Тем не менее, применение этой системы на практике является довольно громоздким и требует много времени (Макрушин, 1974). Широко применяемый до

настоящего времени индекс Пантле-Букка в модификации Сладечека (S) не дает несмещенную оценку принадлежности изучаемого водоема к классам сапробности и не отражает подробную картину сапробных отношений в сообществе. Однако, применение данного индекса стоит признать целесообразным ввиду того, что он релевантен для разнообразных сообществ, имеет большой список видов-индикаторов, среди которых не только водоросли, но и другие водные организмы, что весьма расширяет возможности его применения (Баринова и др., 2006).

Следует сказать об определенных ограниченных возможностях использования структурных характеристик фитопланктона для оценки качества воды в речных условиях по любым из рассмотренных нами методов. Одной из основных причин является достаточно высокая скорость течения, которая «смазывает» структурные показатели сообщества в водотоках.

Использование того или иного метода оценки качества воды обусловлено особенностями структурных характеристик фитопланктонного сообщества. Выбор индекса в большей степени определяется качественным и количественным составом фитопланктона. При доминировании диатомовых достаточно успешно могут быть использованы методы DAIPo и EPI, а при массовом развитии других групп водорослей – метод Пантле и Букка в модификации Сладечека, а также метод Зелинки и Марвана.

Список литературы

- Баринова С.С., Медведева Л.А. Метод Ватанабе в оценке органического загрязнения вод // Альгология. 1998. Т. 8. № 4. С. 428-448.
- Баринова С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. 2006. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив: Институт Эволюции Университета Хайфы, 2006. 498 с.
- Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1974. 60 с.
- Никулина Т.В. Оценка экологического состояния р. Раздольная по составу индикаторных видов водорослей // Вестник ДВО РАН. 2006. № 6. С. 71-78.
- Сладечек В. 1967. Общая биологическая схема качества воды // Санитарная и техническая гидробиология: материалы I съезда Всесоюз. гидробиол. о-ва. М.: Наука, 1967. С. 26-31.
- Knopp H. Grundsatzlichen zur Frage biologischer Vorfluteruntersuchungen, erläutern an einem Gutelangsschnitt des Mains // Arch. Hydrobiol. 1955. Bd 22. N 3/4. S. 363-368.
- Kolkwitz R., Marsson M. Okologie der tierishen Saprobien // Sonderab-duckaus Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie. 1909. Bd 11. S. 84.
- Pantle R., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewasser und die Darstellung der Ergebnisse // Gas-und Wasserbrach. 1955. Bd 96. N 18. 604 s.
- Watanabe T., Asai K., Houki A. Numerical estimation to organic pollution of flowing water by using the elliptic diatom assemblage – diatom assemblage index (DAIPo). // Sci. Total. Environ. 1986. N 55. P. 209-218.
- Watanabe T., Asai K., Houki A. Numerical water quality monitoring of organic pollution using diatom assemblages. // 9th Diatom Symp., 1986, Bristol: Koeltz Sci. Books, 1988. P. 123-141.
- Whitton B.A., Rott E. (eds.). 1995. Use of algae for monitoring rivers II. Innsbruck: Institute für Botanik Univ. Press: 196 pp.
- Zelinka M., Marvan P. Bemerkungen zu neuen Methoden der saprobiologischen Wasserbeurteilung // Verhandlung Int. Vereinigung der Limnologie. 1966. Bd 16. S. 817-822.

ЗООПЛАНКТОН ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ ПО НАБЛЮДЕНИЯМ 2007 Г.

Ю.А. Малинина

Саратовское отделение ФГНУ ГОСНИОРХ
410002, Саратов, Чернышевского, 152, Россия, MJul@rambler.ru

Водоемы-охладители атомных электростанций (АЭС) – масштабные антропогенные экосистемы, в которых условия существования биоты коренным образом трансформируются по сравнению с естественными водоемами. Под влиянием сброса теплообменных вод создаются особые температурные условия, которые влияют на гидробиологический режим водоемов, что влечет за собой трансформацию экосистемы в целом. Согласно литературным данным, наиболее важными последствиями влияния подогретых вод следует считать эвтрофикацию водоёмов, ускорение биохимических процессов, накопление продуктов распада (Горбатенький, Синельникова 1985; Кириллов, 1986; Кузмичёва, 1986).

Балаковская АЭС, имеющая четыре действующих энергоблока с реакторами корпусного типа ВВЭР-1000 мощностью один миллион киловатт каждый, относится к числу крупнейших и

современных предприятий энергетики России, расположена на левом берегу Саратовского водохранилища в 10 км северо-восточнее г. Балаково Саратовской области в междуречье Большого и Малого Иргиза.

Отсеченный от акватории Саратовского водохранилища бессточный водоем-охладитель Балаковской АЭС имеет неправильную, слегка вытянутую в направлении с запада на восток форму с продольным движением потока. Со стороны АЭС берег естественный, задернован растительностью и практически не подвержен разрушениям. Отметка НПУ – 30 м, при которой площадь зеркала составляет 21,8 км², объем водной массы 150·10⁶ м³, средняя глубина – 5,8 м, а длина – 7,6 км.

Исследования зоопланктона водоема – охладителя Балаковской АЭС проводили в мае и октябре 2007 г. Для анализа зоопланктоценозов были выбраны три типа биотопов (с глубинами более 1,5 м условно названы глубоководными, с глубинами 1,5 м и менее – мелководными), различающихся по температуре водных масс: зона максимальных температур (температура воды в октябре – 26, мае – 38°С) – значительно превышающих рыбохозяйственный норматив, зона средних температур (октябрь – 22, май – 23°С) – на уровне рыбохозяйственных нормативов, но выше фоновых данного региона и зона низких температур (октябрь – 18, май – 20°С) – естественные для данного сезона и региона (Перечень..., 1999). В водоеме-охладителе по сравнению с прилегающими акваториями отмечено снижение прозрачности (в зоне высоких температур – 20 см и менее), растворенного в воде кислорода (в зоне высоких температур на глубоком биотопе – до нуля) и изменение режима главных ионов: изменился тип воды с гидрокарбонатной группы кальция II типа средней минерализации (минерализация 0,259-0,405 г/дм³, при соотношении Mg : Ca < 1) на сульфатный группы натрия II типа высокой минерализации (1,220-1,387 г/дм³, при соотношении Mg : Ca > 1).

Для сравнительной характеристики в качестве контроля был исследован мелководный и глубоководный биотопы р. Березовки, через устьевую часть которой, с помощью насосной станции осуществляется приток воды в водоем-охладитель (в объеме 126·10⁶ м³/год).

Пробы зоопланктона отбирали количественной сетью Джеди с газом №70 путем тотального облова столба воды от дна до поверхности. Обработку проб осуществляли с использованием общепринятых методик.

По данным многих исследователей, при повышении температуры с увеличением скорости обменных процессов происходит стимуляция развития организмов зоопланктона, однако при превышении температуры критических величин (около 26°С) численность и биомасса зоопланктонных организмов могут снижаться в 10 раз (Костылев, Есипова, 1981; Кузнецова, 1982; Сергеева О.А., 1985; Протасов, Силаева, 2002).

В водоеме-охладителе БАЭС за период исследования было обнаружено 23 вида зоопланктонных организмов, из них коловраток – 6, ветвистоусых – 9 и веслоногих ракообразных – 8. Зоопланктон в основном был представлен эврибионтными видами, встречающимися в самых разнообразных водоемах. На всех точках отбора проб в водоеме охладителе основу численности и биомассы составляли из ветвистоусых рачков *Moina micrura* (Kurz, 1874), *Diaphanosoma brachyurum* (Lievin, 1848) и *Bosmina longirostris* (O.F.M., 1785). Среди веслоногих 100%-ная встречаемость отмечена для *Calanipeda aquae-dulcis* (Krits., 1873), характерных для солоноватоводных водоемов. Соотношение групп по количественным показателям носило копеподно-кладоцерный характер (рис. 1).

Зоопланктон р. Березовки речной, копеподно-ротаторный. Общее количество видов – 25, из них на долю веслоногих ракообразных приходилось в среднем 62 % от общей численности гидробионтов; коловратки и ветвистоусые раки составляли 25 и 13 % соответственно (см. рис 1).

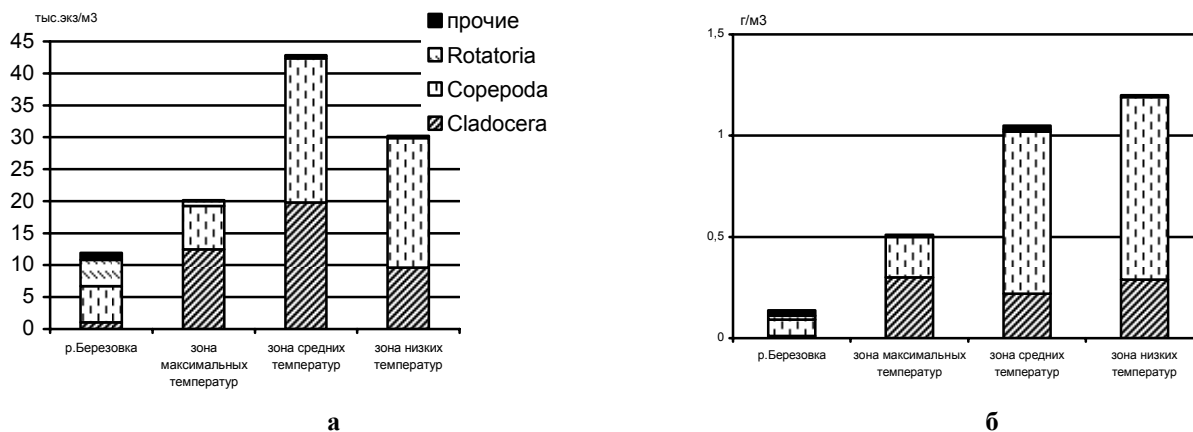


Рис. 1. Средние количественные показатели развития зоопланктона по группам (а - численность, тыс. экз/м³, б - биомасса, г/м³)

Количественные показатели зоопланктона р.Березовки находились в пределах естественных многолетних колебаний, характерных для природных водоемов данной зоны.

Распределение гидробионтов и уровень их количественного развития в водоеме-охладителе неравномерны и зависели от степени термического воздействия и глубины водоема (рис. 2, 3).

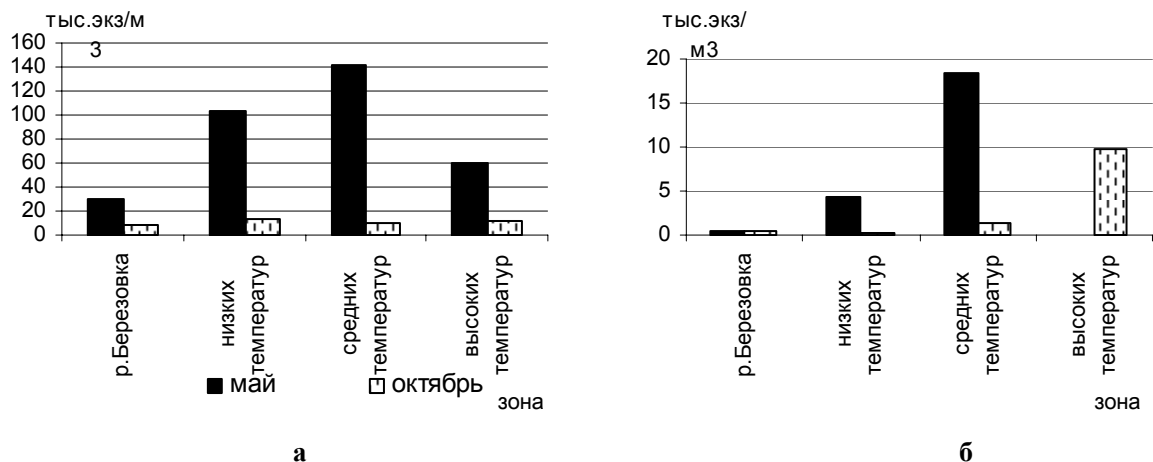


Рис. 2. Численность (тыс.экз/м³) зоопланктона на глубоководных (а) и мелководных (б) участках мае и октябре 2007 г.

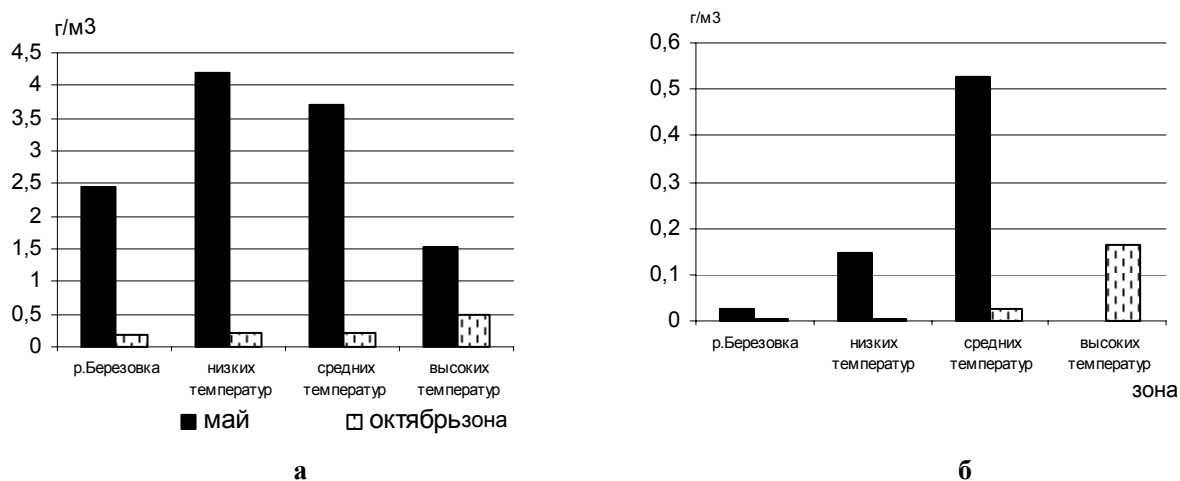


Рис. 3. Биомасса (г/м³) зоопланктона на глубоководных (а) и мелководных (б) участках в мае и октябре 2007 г.

Оценка исследуемых участков по коэффициенту сходства Серенсена показала низкую связь между зоопланктоном р.Березовка и водоема – охладителя. Минимальный показатель (0.28) зарегистрирован между мелководными зонами максимальных температур и р.Березовки. Максимальное сходство видового состава отмечено для глубоководных биотопов зон средней и низкой температур водоема-охладителя (0.9).

Максимальные количественные показатели зарегистрированы для весеннего зоопланктона зон средней и низкой температуры. На глубоководных биотопах в осенний период отмечено выравнивание численности и биомассы зоопланктона во всех температурных зонах.

Отмечены низкие количественные показатели на мелководных биотопах всех зон водоема-охладителя. Численность зоопланктона мелководий водоема-охладителя варьировала от 0.2 до 18.4 тыс. экз/м³, биомасса – от 0.001 – до 0.525 г/м³. На мелководном участке зоны максимальных температур в мае организмы зоопланктона встречены в единичных экземплярах.

На глубоководных биотопах происходило нивелирование факторов среды для зоопланктоценозов и увеличение средней численности и биомассы зоопланктона в 8-10 раз. Численность и биомасса на глубоководных участках колебались от 8.5 до 141.5 тыс. экз/м³ и от 0.17 до 4.2 г/м³ соответственно. В работе И.К. Ривьер (1968) о влиянии сбросных вод Конаковской ТЭС на зоопланктон Иваньковского водохранилища отмечается, что в водоеме в результате чрезмерного нагрева поверхностных слоев наблюдается перемещение планктонных организмов в летний период на глубину, а также максимальное их скопление в участках, не подверженных обогреву.

Средняя численность зоопланктона водоема-охладителя составила 31.1 тыс.экз/м³, биомасса – 0.94 г/м³. На многих участках основу сообщества формировал веслоногий рачок *Calanipeda aquae-dulcis* – солоноватоводный, эвритермный вид. Подобные монодоминантные сообщества обнаруживаются преимущественно в бедных видами (и часто суровых) местообитаниях (Мэггаран, 1992).

Таким образом, структурные и количественные изменения зоопланктонного комплекса отражают значительное увеличение эвтрофирования пруда-охладителя по сравнению с прилегающими водоемами. В зоопланктоне пруда-охладителя преобладает эвригалинный эвритермный комплекс видов. Максимальные количественные показатели зарегистрированы в зоне средних температур, которые оказывали стимулирующее действие на развитие зоопланктона.

Список литературы

- Горбатенький Г.Г., Синельникова А.А. Режим органического вещества Кучурганского лимана – охладителя Молдавской ГРЭС // Круговорот вещества и энергии в водоёмах. Гидрохимия. Иркутск. 1985. Вып. 7. С. 105 – 106.
- Кириллов В.К. Фитопланктон и первичная продукция водохранилища – охладителя Беловской ГРЭС (Кемеровская область) // Автореферат дисс. канд. биол. наук. Киев. 1986. 26 с.
- Котылев В.А., Есипова М.А. Влияние сбросных вод Курской ТЭС на зоопланктон // Гидробиолог. журн. Т.17, 1981. № 5. С.31-33.
- Кузмичёва И.Я. Особенности функционирования экосистем водоёмов – охладителей северного Кавказа // Тез. докладов V съезд ВГБО. Куйбышев. 1986. Ч.2. С. 86-87.
- Кузнецова В.И. Зоопланктон водоема-охладителя Черепетской ГРЭС // Гидробиолог. журн. Т.18, 1982. № 5. С.45-52.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М.: Наука, 1975. 240 с.
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л., 1982. 34 с.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО. 1999.
- Протасов А.А., Силаева А.А. Зоопланктон и зообентос водоема-охладителя Хмельницкой АЭС // тез. докл. «Актуальные проблемы водохранилищ». Ярославль, 2002 С. 246-248.
- Ривьер И.К. Влияние сбросных теплых вод Конаковской ТЭС на зоопланктон Ивановского водохранилища. // Волга-I: Первая конф. по изучению водоемов бассейна Волги. Тольятти. 1968.
- Сергеева О.А. Сезонная динамика зоопланктона-охладителя Чернобыльской атомной электростанции // Гидробиолог. журн. Т.20, 1985. № 1. С. 32-36.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИХТИОЦЕНОЗОВ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ БАЛХАШСКОГО БАССЕЙНА

Н.Ш.Мамилов, Ф.Х.Хабибуллин, Г.С.Койшыбаева, Г.К.Балабиева,

Н.А.Ибрагимова, Н.Н.Тулькибаева, С.С.Галушак

НИИ проблем биологии и биотехнологии КазНУ

050038 г.Алматы, пр.аль-Фараби, 71, Казахстан, mamilov@nursat.kz

Балхашский бассейн расположен на юго-востоке Республики Казахстан. Аборигенная ихтиофауна этого бассейна сформировалась относительно недавно – вероятно, после последнего кайназойского оледенения, и характеризуется высокой степенью эндемизма (Берг, 1958; Митрофанов, 1986). Широкомасштабные работы по акклиматизации традиционных промысловых рыб (судака, леща, сазана и т.д.) привели к тому, что аборигенная ихтиофауна к концу XX века сохранилась только во второстепенных водоемах Балхашского бассейна – притоках р.Или и других рек, впадающих в оз.Балхаш. В конце XX века начался стремительный рост численности населения в этом регионе, обусловленный в основном миграцией из менее благополучных областей. Таким образом, к началу XXI века проблема сохранения разнообразия аборигенной ихтиофауны дополнилась проблемами дефицита воды, загрязнения водоемов, необходимостью продовольственного снабжения стремительно растущего населения.

В сложившихся условиях особое значение приобретает мониторинг состояния ихтиофауны и экосистем малых водоемов в целом. Проблема рационального использования водных ресурсов и сохранения естественного разнообразия гидробионтов носит глобальный характер (Jenkins, 2003; Revenga et al., 2005). Поэтому в последние годы был предложен ряд методик экспертной оценки,

позволяющих определять состояние рыб и тестируемых экосистем (Чеботарева и др., 1999; Решетников и др., 1999; Захаров и др., 2000).

Целью проведенного нами исследования являлась оценка состояния рыбного населения водоемов, испытывающих различный уровень антропогенной нагрузки.

Пробы воды отбирались весной 2008 г. с последующим анализом содержания тяжелых металлов на масс-спектрометре "Agilent 750" (США). Всего было исследовано 12 водоемов. Из них в горной зоне пробы взяты из р.Большая Алматинка (истоки расположены на леднике), Большого Алматинского озера (8 км ниже ледника), родника в Большом Алматинском ущелье (20 км ниже ледника), р.Терс-Бутак (правый приток р.Большая Алматинка), р.Малая Алматинка, р.Тургень (истоки). В предгорной зоне пробы воды взяты из р.Малая Алматинка в нижней части города Алматы, р.Теренкара (один из притоков р.Большая Алматинка) – также в нижней части города Алматы, и расположенных на различном удалении от города Алматы рек Бес-Агаш, Иссык, Самсы, Каскелен.

Отлов рыб проводили ежегодно с 2006 по 2008 г.г. в весенний и летний период, используя рыболовный сачок и мальковый бредень. Выявление фенодевиат, описание состояния рыб и их внутренних органов проводили в соответствии с рекомендациями (Чеботарева и др., 1999; Решетников и др., 1999). Индекс неблагоприятного состояния рассчитывали согласно методике (Решетников и др., 1999). Показатель флуктуирующей асимметрии вычисляли по руководству (Захаров и др., 2000). Гистологическое изучение жабр и печени проводили в соответствии с рекомендациями (Ромейс, 1953; Методическое пособие..., 1976), окрашивая органы гематоксилин-эозином.

Таблица 1. Содержание металлов в пробах воды из горных участков (г/л)

Элемент	Водоемы*					
	1	2	3	4	5	6
Fe	$75 \cdot 10^{-6}$	$78 \cdot 10^{-6}$	$130 \cdot 10^{-6}$	$150 \cdot 10^{-6}$	$120 \cdot 10^{-6}$	$54 \cdot 10^{-6}$
Cu	$690 \cdot 10^{-9}$	$450 \cdot 10^{-9}$	$3.9 \cdot 10^{-6}$	$5.3 \cdot 10^{-6}$	$970 \cdot 10^{-9}$	$530 \cdot 10^{-9}$
Zn	$98 \cdot 10^{-6}$	$150 \cdot 10^{-9}$	$500 \cdot 10^{-9}$	$6.5 \cdot 10^{-6}$	$11.0 \cdot 10^{-6}$	$500 \cdot 10^{-9}$
Cd	$<13.0 \cdot 10^{-9}$	$<13.0 \cdot 10^{-9}$	$<13.0 \cdot 10^{-9}$	$<13.0 \cdot 10^{-9}$	$<13.0 \cdot 10^{-9}$	$<13.0 \cdot 10^{-9}$
Pb	$1.2 \cdot 10^{-6}$	$9.2 \cdot 10^{-9}$	$14.0 \cdot 10^{-9}$	$1.2 \cdot 10^{-6}$	$410.0 \cdot 10^{-9}$	$24.0 \cdot 10^{-9}$
*Цифрами обозначены: 1-истоки р.Большая Алматинка, 2-Большое Алматинское озеро, 3-родник, 4 –р.Терс-Бутак, 5-р.Малая Алматинка (горная часть), 6-р.Тургень,						

Данные о содержании металлов в пробах воды представлены в таблицах 1 и 2. Во всех пробах воды содержание металлов не превышает предельно допустимых для питьевых и хозяйственно-бытовых вод концентраций (Санитарные правила..., 1998). В большинстве горных источников, расположенных вблизи города Алматы, концентрации металлов оказались выше, чем в р.Тургень, расположенной на значительном удалении от города. Сравнение с пробами, отобранными в реках Малая Алматинка и Теренкара на выходе из города, показывает значительное увеличение концентраций металлов, которое вызвано антропогенным загрязнением. Наиболее чистая вода отмечена в реке Тургень у ее истоков.

В горных участках рек Большая Алматинка, Терс-Бутак и Малая Алматинка, Большом Алматинском озере и роднике, расположенном в том же ущелье, рыбы не были обнаружены, хотя условия для их обитания имеются. В р.Тургень у ее истоков в 2006 г. была зарегистрирована всего пара крупных голых османов *Diptychus dybowskii* Kessler, 1874. Сразу после фотографирования рыб выпустили, однако в последующие годы рыб здесь не отмечалось. Наиболее вероятной причиной отсутствия рыб в горных водоемах является чрезмерный любительский лов. Нельзя исключать, что некоторое количество рыб все еще сохраняется в этих горных реках, однако повышенная рекреационная нагрузка не позволяет им увеличить свою численность.

Берега и русла рек Малая Алматинка и Теренкара в нижней части города Алматы превращены в свалки мусора. За 3 года исследований здесь так и не удалось провести учет поклатной икры и молоди рыб, поскольку в течение нескольких минут сетки оказываются забитыми мусором. Однако именно малая привлекательность этих мест для отдыха является одним из главных факторов, позволяющих существовать рыбам. В таблице 3 приведены сведения о видовом составе рыб, населяющих предгорные участки рек, и его динамике.

Таблица 2. Содержание металлов в пробах воды из предгорных участков (г/л)

Элемент	Водоемы*					
	1	2	3	4	5	6
Fe	160*10 ⁻⁶	350*10 ⁻⁶	95*10 ⁻⁶	79*10 ⁻⁶	130*10 ⁻⁶	140*10 ⁻⁶
Cu	630*10 ⁻⁹	520*10 ⁻⁹	570*10 ⁻⁹	360*10 ⁻⁹	1.3 *10 ⁻⁶	820*10 ⁻⁹
Zn	660*10 ⁻⁹	740*10 ⁻⁹	330*10 ⁻⁹	510*10 ⁻⁹	420*10 ⁻⁹	750*10 ⁻⁹
Cd	<13.0*10 ⁻⁹	14*10 ⁻⁹	<13.0*10 ⁻⁹	<13.0*10 ⁻⁹	<13.0*10 ⁻⁹	<13.0*10 ⁻⁹
Pb	14.0*10 ⁻⁹	10.0*10 ⁻⁹	30.0*10 ⁻⁹	12.0 *10 ⁻⁹	20.0*10 ⁻⁹	77.0*10 ⁻⁹
*Цифрами обозначены: 1- р.Малая Алматинка (нижняя часть города), 2- р.Теренкара, 3- р.Бес-Агаш, 4- р.Иссык, 5 – р.Самсы, 6 - р.Каскелен						

Населяющие малые водоемы виды рыб сильно различаются как по своему распространению, так и по численности. Наиболее редкими аборигенными видами являются голец Северцова *Nemacheilus sewerzowii* G.Nikolsky, 1938, балхашская маринка *Schizothorax argentatus* Kessler, 1874 и семиреченский голянь *Phoxinus brachyurus* Berg, 1912. Несколько чаще встречаются одноцветный губач *Triplophysa labiata* (Kessler, 1874) и тибетский голец *Triplophysa stoliczkai* (Steindachner, 1866). Балхашский окунь *Perca schrenkii* Kessler, 1874 постоянно обитает в пруду-накопителе Казахской производственной акклиматизационной станции, расположенном на рукаве р.Малая Алматинка в нижней части города, но его численность испытывает сильные колебания.

Среди аборигенных видов рыб наиболее широко распространены пятнистый губач *Triplophysa strauchii* Kessler, 1874 и голый осман, однако численность этих видов также может очень сильно изменяться в отдельные года. Среди чужеродных видов наиболее широко распространены амурский чебачок *Pseudorasbora parva* (Schlegel, 1842) и речная абботина *Abbottina rivularis* (Basilewsky, 1855).

Таблица 3. Динамика таксономического состава рыбного населения

Виды	2006 г.						2007 г.						2008 г.					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Аборигенные:																		
<i>Diptychus dybowskii</i>	с	0	д	с	м	0	д	0	д	д	м	0	д	0	д	д	м	0
<i>Schizothorax argentatus</i>	0	0	0	0	м	м	0	0	0	0	м	м	0	0	0	0	м	м
<i>Phoxinus brachyurus</i>	0	м	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0
<i>Triplophysa stoliczkai</i>	0	0	м	д	с	0	м	0	м	с	с	0	0	0	м	с	с	0
<i>Triplophysa dorsalis</i>	м	м	м	0	м	м	с	м	м	0	м	м	м	м	м	0	м	0
<i>Triplophysa strauchii</i>	с	с	с	0	м	с	с	д	с	0	м	д	с	м	с	0	м	м
<i>Triplophysa labiata</i>	0	м	с	м	д	0	0	м	с	м	д	м	0	0	с	м	д	0
<i>Nemacheilus sewerzowii</i>	м	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Perca schrenkii</i>	м	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	м	м	0	0	0	0	0
Чужеродные:																		
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	с	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	м
<i>Pseudorasbora parva</i>	д	д	0	0	м	м	м	м	0	0	м	м	м	м	0	0	м	д
<i>Rhodeus sp.</i>	0	м	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rutilus rutilus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	м
<i>Carassius auratus</i>	м	м	0	0	0	с	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	0	м
<i>Hemiculter leucisculus</i>	0	м	0	0	0	с	0	0	0	0	0	м	0	м	0	0	0	м
<i>Abbottina rivularis</i>	м	с	0	0	0	д	м	м	0	0	0	м	0	0	0	0	0	м
<i>Sander lucioperca</i>	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	0	м	0	0	0	0	0	м
<i>Micropercops cinctus</i>	м	с	0	0	0	м	м	м	0	0	0	м	0	м	0	0	0	м
<i>Rhinogobius brunneus</i>	м	с	0	0	0	м	м	м	0	0	0	м	0	д	0	0	0	м
<i>Oryzias latipes</i>	м	м	0	0	0	с	0	0	0	0	0	с	0	м	0	0	0	с
Всего видов	12	13	5	3	7	11	10	8	5	3	7	13	6	8	5	3	7	13
Обозначения: 1- р.Малая Алматинка, 2 – р.Теренкара, 3 - р. Бес Агаш; 4 – р.Иссык (горный участок); 5 – р.Самсы, 6- р.Каскелен (равнинный участок); д – доминирующий по численности вид, с – субдоминант, м – малочисленный вид, 0- вид отсутствует																		

Чужеродные виды рыб отсутствуют в реках Бес Агаш и Иссык, малочисленны в р.Самсы. Напротив, в реках Малая Алматинка, Теренкара и Каскелен чужеродные виды разнообразны и порой могут достигать значительной численности. Относительно стабильным оставался видовой состав рыбного населения рек Бес-Агаш, Иссык, Самсы, Каскелен. Однако в связи с засушливым летом 2008 г. на контрольном участке р.Бес Агаш вода отсутствовала – вся она разбиралась на полив.

Загрязнение рек, протекающих через город, отрицательно сказывается на продолжительности жизни рыб (таблица 4). Средний возраст голого османа в наших выборках из городских рек незначительно отличается от его роста в других реках. Однако максимальная продолжительность жизни (6 полных лет) значительно меньше известной (Сидорова, Тимирханов, 1988), что может быть связано с неблагоприятными условиями среды обитания. В выборках усатых гольцов преобладают рыбы младших возрастных групп, но максимальные размеры отловленных в черте города рыб близки к таковым, известным для соответствующих видов (Митрофанов, 1989).

Таблица 4. Возрастной состав (в %) выборок голого османа и пятнистого губача

Выборка	Возраст, полных лет					
	1	2	3	4	5	6
Пятнистый губач:						
р.Большая Алматинка, май 2006 г. (21 экз.)	0	19,0	61,9	19,0	0	0
р.Большая Алматинка, август 2006 г. (30 экз.)	0	3,3	3,3	40,0	50,0	3,3
р.Большая Алматинка, июнь 2007 г. (21 экз.)	0	0	14,3	23,8	38,1	23,8
р.Малая Алматинка, октябрь 2006 г. (10 экз.)	0	0	10,0	10,0	40,0	40,0
р.Малая Алматинка, май 2007 г. (12 экз.)	0	0	41,7	58,3	0	0
Голый осман:						
р.Большая Алматинка, июнь 2007 г. (7 экз.)	0	28,6	71,4	0	0	0
р.Малая Алматинка, июль 2006 г. (8 экз.)	50,0	0	50,0	0	0	0
р.Малая Алматинка, май 2007 г. (14 экз.)	0	0	0	100	0	0

Результаты морфопатологического анализа показали неблагоприятное состояние рыб из рек Теренкара и Малая Алматинка (таблица 5). В обеих реках отсутствуют совершенно здоровые особи. Между выборками голого османа и гольцов из одной реки имеются различия по коэффициенту асимметрии и поражению различных органов. У голого османа коэффициент асимметрии ниже, чем у гольцов, патологиям в большей степени подвержены почки. У гольцов патологиям в большей мере подвержены сердце и печень. Это может быть обусловлено разным образом жизни, поскольку гольцы являются типичными придонными обитателями, а голый осман – пелагофилом. Для обеих групп характерно увеличение патологий с возрастом, что указывает на хронический характер интоксикации, обусловленный постоянным загрязнением среды обитания.

Таблица 5. Результаты морфопатологического анализа рыб из городских рек

Река	Вид	ИНС*		As	% патологий в органах		
		lim	M		сердце	печень	почки
Теренкара	голый осман (n=19 экз.)	3-5	2.4	0.1	63	21	63
	пятнистый губач (n=30)	1-5	2.8	0.4	96	66	20
Малая Алматинка	голый осман (n=31)	1-4	1.9	0.1	77	19	32
	пятнистый губач (n=14)	1-4	2.3	0.5	85	64	7
	серый голец (n=11)	1-5	1.8	0.4	72	36	18
*Примечание: lim – минимальное и максимальное значения показателя, M – среднее значение							

Результаты морфопатологического анализа согласуются с данными гистологических исследований. При микроскопическом исследовании печени голого османа из р.Малая Алматинка установлены значительные структурные изменения в паренхиме печени: синусоиды резко расширены, полнокровны; наблюдается интерстициальный и периваскулярный отек, лимфогистиционарная инфильтрация; гепатоциты выглядят опустошенными, в состоянии вакуольной дистрофии; часть гепатоцитов в состоянии некробиоза. Патологии отмечены и в жабрах: клеточный состав первичного жаберного эпителия резко обеднен; большинство клеток в состоянии некробиоза; нет четких границ между базальным, средним и наружным слоем; отмечается выраженный отек. В первичном жаберном эпителии не представляется возможным дифференцировать клеточные типы из-за выраженной гипертрофии и гиперплазии клеток, практически во всех слоях отмечаются слизистые

клетки. В первичном жаберном эпителии (филаменты) и вторичном (ламеллы) развиваются хронические застойные явления. По всей длине ламелл отмечается расширение межклеточного пространства между слоями респираторных клеток. Также отмечается слипание соседних ламелл, местами их разрушение, вплоть до соединительно-тканной оболочки и хряща лепестков.

Сходные патологии наблюдаются и у пятнистого губача, обитающего там же. В печени: синусоиды резко расширены и их полнокровие; интерстициальный и периваскулярный отек; гепатоциты, при окрашивании гематоксилин-эозином, выглядят пустыми; отдельные гепатоциты в состоянии некробиоза. Жабры: в среднем и наружном слое первичного жаберного эпителия отмечаются слизистые клетки - клетки крупные, со смещенным ядром; расширение межклеточного пространства у основания ламелл и между слоями респираторных клеток во вторичном жаберном эпителии.

У голого османа, обитающего в р.Иссык, патологии не столь выражены. Паренхима печени выглядит компактной; границы большинства гепатоцитов сохранены, ядра с четко окрашенными с одним или двумя ядрышками; встречаются участки с расширенными синусоидами. Однако и здесь отмечаются гепатоциты в состоянии белковой дистрофии и некробиоза. На препаратах жабр у отдельных ламелл отмечается расширение межклеточного пространства и наличие слизистых клеток.

В результате проведенных исследований показано, что ихтиофауна всех исследованных водоемов испытывает значительную антропогенную нагрузку. Для малых рек, протекающих в урбанизированной зоне, выявлен антропогенный характер загрязнения. Антропогенная нагрузка на малые водоемы предгорной зоны Балхашского бассейна проявляется также в интродукции чужеродных видов рыб и повышенном расходе воды на сельскохозяйственные нужды. Усиленная рекреационная нагрузка на горные участки рек выражается в их загрязнении и/или чрезмерном вылове рыб. Воздействие на ихтиофауну малых водоемов Балхашского бассейна проявляется в сокращении разнообразия аборигенных видов, повышению количества чужеродных видов в сообществах. Результаты сравнительного морфопатологического и гистопатологического анализа выборок голого османа и гольцов из рек Малая Алматинка и Теренкара хорошо согласуются между собой и указывают на неблагоприятное состояние экосистем исследованных водоемов. Необходимой является организация мероприятий по сохранению гольца Северцова, балхашской маринки и семиреченского гольяна и мониторингу состояния их популяций.

Список литературы

- Берг Л.С. Изменения рельефа сщ времени засушливой послеледниковой эпохи//Избранные труды. В 5 т. – М.: Изд-во АН СССР. 1958. Т.2. С.76-85.
- Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. Здоровье среды: методика оценки - М.: Центр экологической политики России. 2000. 68 с.
- Методическое пособие по проведению гистологических исследований органов и тканей рыб в водной токсикологии – Л.: Изд-во ГосНИОРХ. 1976. 53 с.
- Митрофанов В.П. Формирование современной ихтиофауны Казахстана и ихтиогеографическое районирование// Рыбы Казахстана. В 5 т. – Алма-Ата: Наука. 1986. Т.1. С.20-40.
- Митрофанов В.П. Род *Noemacheilus*// Рыбы Казахстана. В 5 т. - Алма-Ата: Наука. 1989. Т.4. С. 6-60.
- Решетников Ю.С., Попова О.А., Кацулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А., Сталдвик Ф. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфологического анализа рыб// Успехи современной биологии. - 1999. Т.119. №2. С.165-177.
- Ромейс В. Микроскопическая техника – М.: Изд-во иностранной литературы. 1953.
- Санитарные правила и нормы Республики Казахстан №3.01.070.98
- Сидорова А.Ф., Тимирханов С.Р. *Diptychus dybowskii* Kessler - голый осман// Рыбы Казахстана. В 5 т. - Алма-Ата: Наука. 1988. Т.3. С.93-105.
- Чеботарева Ю.В., Савоскул С.П., Пичугин М.Ю., Савваитова К.А., Максимов С.В. Характеристика аномалий в строении внешних и внутренних органов у рыб// Разнообразие рыб Таймыра – М.: Наука. 1999. С.142-146.
- Jenkins M. Prospects for biodiversity// Science. - 2003. V.302. P.1175-1177
- Revenga C., Campbell I., Abell R., de Villiers P., Bryer M. Prospects for monitoring freshwater ecosystems towards the 2010 targets// Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences. - 2005. V.360. P.397-413.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИХТИОФАУНЫ НИЖНЕГО УЧАСТКА Р.СЫРДАРЬИ В УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩЕЙСЯ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Н.Ш. Мамилов¹, Т.М. Шалахметова¹, Э.Б. Кожабаяева¹, Д.А. Бегимбетова¹, Ф.Х. Хабибуллин¹,

С.С. Галушак¹, Г.Ж. Акбердина², М. Болатбекова¹, Ф. Ботта³, Х. Бланшо³

¹Институт проблем экологии Казахского национального университета,
050038 г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71, Казахстан, tamilov@nursat.kz

²Институт зоологии Министерства образования и науки Республики Казахстан

³Университет Пьера и Марии Кюри, г. Париж, Франция

Река Сырдарья является одной из крупнейших в Центральной Азии, и поэтому уже более 1.5 тысяч лет используется человеком. Река берет свое начало в горах Тянь-Шаня (Республика Киргизстан), далее протекает по Ферганской и Чирчикской долинам (Республика Узбекистан), где в настоящее время речной сток принимает большое количество возвратных вод с орошаемых территорий. Участок реки от Шардаринского водохранилища и до впадения в Аральское море (Малый Арал) расположен на территории Республики Казахстан. Здесь формирование гидрохимического режима и качественных показателей воды происходит в большей мере под влиянием возвратных вод с орошаемых земель, также попадают промышленные и бытовые стоки (Амиргалиев, 2007). Наибольшее количество пестицидов, органических и минеральных удобрений на казахстанском участке реки наблюдалось в период с конца 1960-х до конца 1980-х годов. Распад Советского Союза и последовавший за этим экономический спад привели к кратковременному уменьшению загрязнения в начале 1990-х годов. Затем концентрации токсичных веществ вновь стали возрастать, но в последние годы наблюдается тенденция к их постепенному снижению (Амиргалиев, 2007; Amirgaliev, 1998; Bragin, Matmuratov, 1998). Это связано как с реальным уменьшением количества поступающих удобрений, так и с заменой стойких органических загрязнителей пестицидами нового поколения. Стремительно нарастающая антропогенная нагрузка и разнообразие искусственно синтезированных веществ привели к тому, что контроль конкретных токсических веществ часто являются мало эффективными. В связи с этим все больший интерес вызывает применение экспертных оценок, проводимых на возможно большем числе водных объектов по доступным методикам. Одной из наиболее рациональных представляется интегральная оценка природной среды, позволяющая по анализу состояния организмов и популяций осуществлять контроль изменений естественной среды при любых видах антропогенного воздействия (Савваитова и др., 1995; Решетников и др., 1999; Захаров и др., 2000).

Целью проведенной нами работы была оценка состояния рыб на казахстанском участке р.Сырдарья на различных уровнях организации: от сообщества до тканевого.

Отлов рыб проводили в июле и августе 2007 г. в Шардаринском водохранилище (41°13'35.6"с.ш., 67°54'37.2"в.д.) и на двух участках р.Сырдарья, расположенных ниже него (42°13'37.2"с.ш., 68°15'00.09"в.д. и 43°08'29.2"с.ш., 67°51'49.9"в.д.). В этот же период были исследованы 3 небольших водохранилища, расположенных на различных притоках р.Сырдарья. Водохранилище Капшагай расположено на р.Шаян (42°39'54.8"с.ш., 70°47'42.4"в.д.), Тогузское – на р.Тогуз (42°12'45.7"с.ш., 69°49'55.1"в.д.) и Кошкорган – на р.Карашик (43°27'44.2"с.ш., 68°29'00.7"в.д.). Водохранилище Капшагай имеет питьевое назначение, два других водохранилища - ирригационные. Кроме того, был проведен анализ фондовых материалов 2003-2006 г.г., собранных на участках реки от Шардаринского водохранилища до устья р.Сырдарья.

Биоморфологический анализ рыб проводили по стандартной методике (Правдин, 1966). Выявление фенотипов, оценку состояния рыб и их внутренних органов проводили в соответствии с рекомендациями (Савваитова и др., 1995; Решетников и др., 1999). Индекс неблагоприятного состояния рассчитывали согласно методике (Решетников и др., 1999). Показатель флуктуирующей асимметрии вычисляли по руководству (Захаров и др., 2000). Гистологическое изучение жабр и печени проводили в соответствии с рекомендациями (Ромейс, 1953; Методическое пособие..., 1976), окрашивая органы гематоксилин-эозином.

Определение гидрофизических и гидрохимических показателей воды производилось по общепринятым методикам (Унифицированные методы..., 1973; Руководство..., 1977). Содержание металлов в пробах воды определяли на масс-спектрометре "Agilent 750" (США). Поскольку в районе исследований невозможно найти водоем, не подвергающийся антропогенной нагрузке, то для сравнения была взята проба воды из ледникового высокогорного озера (Большое Алматинское озеро).

Общие химические показатели проб воды (табл. 1) характеризуют среду обитания как благоприятную для жизнедеятельности пресноводных гидробионтов. Невысокая концентрация

биогенных соединений в водохранилищах может быть обусловлена их головным положением в ирригационной сети. Гидрологический и гидрохимический режим исследованного участка р.Сырдарьи определяются попусками воды из Шардаринского водохранилища и возвратом с полей орошения, поэтому не являются стабильными (Амиргалиев, 2007).

Таблица 1. Химические показатели воды

Место отбора пробы	pH	Жесткость мг-экв/дм ³	Минерализация, мг/дм ³	Органическое вещество, мг/дм ³	Биогенные соединения, мг/дм ³			
					NH ₄	NO ₂	NO ₃	P _{PO4}
Капшагай	7.7	3.8	340.4	7.3	0	0.031	1.789	0
Кошкорган	7.3	4.5	463.3	6.4	0	0.003	0.013	0.001
Тогузское	7.8	4.4	426.2	9.1	0	0.014	1.526	0
р.Сырдарья	7.2	4.6	887.4	3.4	0	0.010	0.196	0

Таблица 2. Содержание некоторых металлов в пробах воды (г/л)

Элемент	Водоем				
	Большое Алматинское озеро	Капшагай	Кошкорган	Тогузское	р.Сырдарья
Mg	1.5*10 ⁻³	14.0 *10 ⁻³	17.0 *10 ⁻³	17.0*10 ⁻³	32.0*10 ⁻³
Sc	330.0*10 ⁻⁹	580.0*10 ⁻⁹	460.0*10 ⁻⁹	690.0*10 ⁻⁹	750.0*10 ⁻⁹
Cr	0.89 *10 ⁻⁶	2.50 *10 ⁻⁶	1.70 *10 ⁻⁶	4.20*10 ⁻⁶	1.80*10 ⁻⁶
Mn	250.0*10 ⁻⁹	5.4 *10 ⁻⁶	4.9 *10 ⁻⁶	7.1*10 ⁻⁶	4.9*10 ⁻⁶
Fe	78.0*10 ⁻⁶	300.0*10 ⁻⁶	310.0*10 ⁻⁶	320.0*10 ⁻⁶	400.0*10 ⁻⁶
Ni	220.0*10 ⁻⁹	820.0*10 ⁻⁹	1.2 *10 ⁻⁶	1.0*10 ⁻⁶	1.5*10 ⁻⁶
Cu	450.0*10 ⁻⁹	2.1*10 ⁻⁶	2.3 *10 ⁻⁶	3.1*10 ⁻⁶	8.2*10 ⁻⁶
Zn	150.0*10 ⁻⁹	1.2*10 ⁻⁶	1.7 *10 ⁻⁶	1.8*10 ⁻⁶	2.0*10 ⁻⁶
Rb	130.0*10 ⁻⁹	680.0*10 ⁻⁹	940.0*10 ⁻⁹	1.0*10 ⁻⁹	1.4*10 ⁻⁶
Sr	160.0*10 ⁻⁶	910.0*10 ⁻⁶	1.100 *10 ⁻³	930.0*10 ⁻⁶	2.20 *10 ⁻³
Cd	<11.00*10 ⁻⁹	<11.0*10 ⁻⁹	<11.0*10 ⁻⁹	<11.0*10 ⁻⁹	<11.0*10 ⁻⁹
Hg	2.0*10 ⁻⁹	310.0*10 ⁻⁹	300.0*10 ⁻⁹	280.0*10 ⁻⁹	320.0*10 ⁻⁹
Pb	9.2*10 ⁻⁹	210.0*10 ⁻⁹	230.0*10 ⁻⁹	260.0*10 ⁻⁹	220.0*10 ⁻⁹

В таблице 2 представлены данные о содержании металлов в пробах воды: жирным шрифтом выделены повышенные показатели, которые не могут быть объяснены естественными причинами. Загрязнение вод реки Сырдарьи тяжелыми металлами и сезонная динамика концентраций различных элементов также во многом зависят от характера водопользования. Повышенные концентрации металлов в воде небольших водохранилищ обусловлены процессами ветровой эрозии с сельскохозяйственных полей и бытовым загрязнением - все они расположены в густонаселенном оазисе.

Сведения о таксономическом составе сообществ рыб исследованных водоемов представлены в таблице 3.

В ходе проведенных исследований не были обнаружены не только давно занесенные в Красную книгу Казахстана (1996) шип *Acipenser nudiiventris* Lovetsky, 1828, сырдарьинский лжелопатонос *Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi* (Kessler, 1872), аральский лосось *Salmo trutta aralensis* Berg, 1908, шуковидный жерех (лысач) *Aspiolucius esocinus* (Kessler, 1874), остролучка *Capoetobrama kuschakewitschii* Kessler, 1872, но и ранее считавшиеся вполне обычными аральская колюшка *Pungitius platigaster aralensis* (Kessler, 1877) и обыкновенный ерш *Gymnocephalus cernuus* (Linnaeus, 1758). Особого внимания заслуживает отсутствие в р.Сырдарье аборигенных видов, ведущих придонный образ жизни: ерша, усатых голец, аральской щиповки. Поскольку ни один из перечисленных видов не является коммерчески ценным, то их исчезновение из состава рыбного сообщества может быть результатом существенной перестройки всей экосистемы.

Два вида усачей, также занесенных в Красную книгу Республик Казахстан, представлены в наших уловах мальковым бреднем (сразу после поимки и фотографирования рыбы были отпущены). Увеличение численности этих видов является результатом выполнения всего комплекса охранных мероприятий и искусственным подращиванием молоди из ирригационной системы в специализированном хозяйстве «Шаркент ата».

Таблица 3. Таксономический состав ихтиофауны.

Таксон	Водоем				
	1	2	3	4	5
Аборигенные:					
Обыкновенная щука <i>Esox lucius</i> Linnaeus, 1758	+	+	0	0	0
Аральская плотва <i>Rutilus rutilus aralensis</i> (Berg, 1916)	+	+	+	+	+
Сибирский елец <i>Leuciscus leuciscus baicalensis</i> (Dybowski, 1874)	0	0	0	0	+
Туркестанский язь <i>Leuciscus idus oxianus</i> (Kessler, 1874)	0	0	+	+	+
Красноперка <i>Scardinius erythrophthalmus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	0	0
Аральский жерех <i>Aspius aspius ibliodes</i> Kessler, 1872	+	+	+	0	0
Туркестанский пескарь <i>Gobio gobio lepidolaemus</i> Kessler, 1872	0	0	+	+	0
Аральский усач <i>Barbus brachycephalus brachycephalus</i> Kessler, 1872	0	+	0	0	0
Туркестанский усач <i>Barbus capito conocephalus</i> Kessler, 1872	0	+	0	0	0
Обыкновенная маринка <i>Schizothorax intermedius</i> Mc"Clelland, 1842	0	0	0	+	0
Аральская шемая <i>Chalcalburnus chalcoides aralensis</i> (Berg, 1923)	+	+	0	0	0
Полосатая быстрянка <i>Alburnoides taeniatus</i> (Kessler, 1872)	+	+	0	+	0
Ташкентская верховодка <i>Alburnoides oblongus</i> Buldakov, 1923	+	+	0	0	+
Восточный лец <i>Abramis brama orientalis</i> Berg, 1949	+	+	+	0	+
Аральская белоглазка <i>Abramis sapa aralensis</i> Tiapkin, 1939	0	+	0	0	0
Чехонь <i>Pelecus cultratus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	0	0	0
Серебряный карась <i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782)	+	+	+	+	+
Аральский сазан <i>Cyprinus carpio aralensis</i> Spitzczakov, 1935	+	+	+	+	+
Серый голец <i>Triplophysa dorsalis</i> (Kessler, 1872)	0	0	0	+	0
Гонец Кушакевича <i>Triplophysa kuschakewitschi</i> Herzenstein, 1890	0	0	0	+	0
Аральская щиповка <i>Sabanejewia aurata aralensis</i> (Kessler, 1877)	0	0	0	+	0
Обыкновенный сом <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758	+	+	0	0	0
Обыкновенный окунь <i>Perca fluviatilis</i> Linnaeus, 1759	0	+	0	0	0
Обыкновенный судак <i>Sander lucioperca</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+	+
Чужеродные:					
Белый амур <i>Ctenopharyngodon idella</i> (Valenciennes, 1844)	+	+	0	0	0
Амурский чебачек <i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck et Schlegel, 1846)	+	+	+	+	+
Глазчатый горчак <i>Rhodeus ocellatus ocellatus</i> (Kner, 1865)	0	+	0	0	0
Обыкновенный горчак <i>Rhodeus sericeus sericeus</i> (Pallas, 1776)	0	+	0	0	0
Обыкновенная востробрюшка <i>Hemiculter leucisculus</i> (Basilewsky, 1835)	+	+	0	0	0
Белый толстолобик <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Valenciennes, 1844)	+	+	0	0	0
Амурский троегуб <i>Opsariichthys uncirostris amurensis</i> Berg, 1932	+	+	0	0	0
Японская медака <i>Oryzias latipes</i> (Temminck et Schlegel, 1846)	+	+	0	0	0
Восточная гамбузия <i>Gambusia affinis holdbrookii</i> (Girard, 1859)	+	+	0	0	0
Элеотрис <i>Hypseleotris cinctus</i> (Dabry et Thiersant, 1872)	+	+	0	0	0
Амурский бычок <i>Rhinogobius similes</i> Gill, 1859	+	+	+	+	+
Амурский змееголов <i>Channa argus warpachowskii</i> (Berg, 1909)	+	+	0	0	0
Общее число таксонов/из них аборигенных	23/13	29/17	11/9	13/11	10/8
Примечание: цифрами обозначены водоемы 1-Шардаринское водохранилище, 2-р.Сырдарья, 3-Капшагай, 4-Кошкорган, 5-Тогузское водохранилища; + таксон обнаружен, 0 таксон не обнаружен.					

Сравнение результатов биологического анализа массовых видов рыб (плотвы, судака, сазана, чехони, жереха) с соответствующими известными для рыб Арало-Сырдарьинского бассейна показателями (Митрофанов и др., 1986-1992) позволило установить, что в настоящее время: 1) в исследованных нами водоемах все они нормально питаются – у рыб имеются запасы полостного жира, индексы упитанности находятся на хорошем уровне; 2) в возрастном составе выборок из р.Сырдарьи, водохранилищ Тогузского и Кошкорган преобладают особи младших возрастов (2-4-х летние). Возраст наиболее старых особей, пойманных нами, намного меньше максимального, установленного для каждого из этих видов в Арало-Сырдарьинском бассейне. Это свидетельствует о повышенной промысловой нагрузке.

Показатели флуктуирующей асимметрии большинства исследованных рыб невысокие (меньше 0,3), что указывает на стабильные условия развития. Однако встречаются экземпляры с выраженной асимметрией (от 0,7 и выше). Наиболее вероятной причиной такого явления мы считаем развитие в небольших сезонных водоемах (рисовых чеках, каналах оросительной системы и т.п.), откуда сформировавшиеся рыбы затем попадают в р.Сырдарью. Фенодевиат среди изученных рыб (более 1000 экз.) не обнаружено. Это может быть обусловлено как отсутствием острого токсического воздействия на рыб, так и жестким отбором, препятствующим выживанию аномальных особей.

Результаты морфопатологического анализа выявили нарушения в строении жабр: у многих рыб из р.Сырдарьи и водохранилищ жабры анемичные. Патология подтверждается и на гистологическом уровне: на препаратах жабр судака, плотвы и сазана видны нарушения строения ламелл и филamentos, жаберного эпителия, кровообращения в жаберных лепестках. Нарушения отчетливо проявляются у рыб из Шардаринского водохранилища, у рыб из р.Сырдарьи наблюдаются компенсаторные изменения. Нередко встречаются патологии печени – мозаичная печень, печень с бахромчатым краем, разбуханием сосудов, увеличенным желчным пузырем. Однако встречаются рыбы и без выраженных патологий. Индекс неблагополучного состояния для большинства особей не превышает 4 баллов, что соответствует зоне относительного экологического благополучия по классификации Ю.С.Решетникова и др. (1999). Высокий процент патологий печени у судака в сравнении с другими видами рыб объясняется его положением в конце пищевых цепочек, что приводит к аккумулярованию стойких загрязнителей. Обобщенные всех данных указывает на наличие каких-то токсических факторов в среде обитания, которые оказывают хроническое воздействие на рыб.

Полученные нами данные показали, что в любом из исследованных водоемов встречаются как особи одинакового возраста, одни из которых имеют выраженные патологии, а другие – вполне здоровые. Для таких крупных водоемов как р.Сырдарья и Шардаринское водохранилище этот феномен может быть объяснен смешением особей из «чистых» и «грязных» участков. Однако такое объяснение не вполне удовлетворительно для небольших изолированных водоемов, какими являются водохранилища Капшагай, Кошкорган и Тогузское. По-видимому, в популяциях каждого из исследованных видов существует доля особей, более устойчивых к токсическим факторам среды.

Результаты проведенной работы показали, что в момент проведения исследований гидрохимические показатели среды в целом были благоприятными для жизнедеятельности гидробионтов. В воде всех исследованных водоемов повышенное содержание никеля, меди, цинка, ртути, свинца не может быть объяснено только естественными причинами. Кроме того, в р.Сырдарье ниже Шардаринской плотины отмечалось повышенное содержание рубидия и стронция.

Всего было обнаружено 24 таксона ранга вида или подвида аборигенных и 12 таксонов чужеродных видов рыб. Отсутствие в р.Сырдарье аборигенных видов, ведущих придонный образ жизни (ерша, усатых гольцов, аральской щиповки) может быть результатом существенной перестройки всей экосистемы.

На исследованном участке бассейна промысловые виды рыб находят благоприятные условия для питания. Преобладание в большинстве выборок особей младших возрастных групп и снижение максимальной продолжительности жизни обусловлено высокой промысловой нагрузкой.

Интегральные показатели состояния рыб свидетельствуют о благоприятной для роста и развития среде обитания. Однако во всех изученных водоемах присутствуют какие-то токсические факторы, приводящие к патологиям в системах детоксикации организма – печени и жабрах.

За неоценимую помощь и поддержку в проведении исследований авторы выражают глубокую признательность Б.П.Анненкову, Ф.В.Климову и Е.В.Муровой, старшим научным сотрудникам Зоологического института Российской академии наук Н.Г.Богуцкой и А.М.Насека.

Список литературы

- Амиргалиев Н.А.* Арало-Сырдарьинский бассейн: гидрохимия, проблемы водной токсикологии – Алматы: Бастау. 2007. 224 с.
- Методическое пособие по проведению гистологических исследований органов и тканей рыб в водной токсикологии – Л.: Изд-во ГосНИОРХ. 1976. 53 с.
- Ромейс В.* Микроскопическая техника – М.: Изд-во иностранной литературы. 1953.
- Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. 541 с.
- Унифицированные методы анализа вод. Под ред. Ю.Ю.Лурье. – М.: Химия 1973. 376 с.
- Савваитова К.А., Чеботарева Ю.В., Пичугин М.Ю., Максимов С.В.* Аномалии в строении рыб как показатель состояния природной среды// Вопросы ихтиологии. 1995. Т.35. №2. С.182-188.
- Решетников Ю.С., Попова О.А., Каишулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А., Сталдвик Ф.* Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфологического анализа рыб// Успехи современной биологии. 1999. Т.119. №2. С.165-177.
- Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т.* Здоровье среды: методика оценки - М.: Центр экологической политики России. 2000. 68 с.
- Митрофанов В.П., Дукравец Г.М., Песериди Н.Е. и др.* Рыбы Казахстана. Т.1-5 – Алма-Ата: Наука-Гылым. 1986-1992.
- Красная книга Казахстана. Т.1 Животные: Ч.1 Позвоночные – Алматы. 1996. 327 с.
- Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб – М.: Пищевая промышленность. 1966. 376 с.
- Amirgaliev N.A.* The evaluation of the present salty regime and the level of pesticide pollution of the Aral Sea // Sustainable use of natural resources of Central Asia, Environmental problems of the Aral Sea and surrounding areas. Proceedings of International Scientific Conference, September 9-11, 1997 - Almaty: Tethys. 1998. p.89-93.
- Bragin B., Matmuratov S.* Modern ecological and toxicological situation in the lake system of the Syr-Darya delta//Sustainable use of natural resources of Central Asia, Environmental problems of the Aral Sea and surrounding areas. Proceedings of International Scientific Conference, September 9-11, 1997 - Almaty: Tethys. 1998. p.158-160

ОЛИГОХЕТЫ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ УРБАНИЗИРОВАННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ ОЗ. ВЫРЛИЦА

С.Ф. Матчинская

Институт гидробиологии НАНУ

04210, г. Киев -210, проспект Героев Сталинграда 12, Украина, hydrobiol@igb.ibc.com.ua

Озеро Вырлица расположено на территории левобережной поймы р. Днепра в пределах г. Киева. Площадь озера составляет 9.8 га, глубина достигает 18 м. Дно имеет достаточно сложный рельеф так, как по своему происхождению это водоем карьерного типа.

Озеро имеет ряд мелководных заливов (глубина 1-2.5 м) заросших высшими водными растениями. Особенную ценность это озеро приобретает в связи с тем, что оно находится в черте большого города в урбанизированном районе. Озеро подвергается многофакторному антропогенному влиянию. И хотя в озеро не поступают непосредственно стоки предприятий, однако, с одной стороны, на берегу озера размещен крупный промышленный объект, а с другой – рекреационная зона и автомагистраль (Иванова, Харченко, Клоченко, 2007). Основными составными его водного баланса являются приток и отток грунтовых вод, поверхностный сток и атмосферные осадки.

Охрана чистоты пресных вод стала одной из важнейших задач. Поэтому изучение путей загрязнения и нахождение методов предупреждения находятся в центре внимания современной гидробиологии. Особенно необходимо изучение водоемов, находящихся под влиянием вмешательства человека, что приводит к изменению структуры и функциональных особенностей сообществ организмов.

Макрозообентос является одним из главных компонентов биоты водных экосистем. Среди бентосных организмов значительное место занимают малощетинковые черви (олигохеты). Они заселяют как глубоководные, так и мелководные зоны водоемов, на биотопах от чистых песков до глубоких илов. Интенсивное продуцирование, высокая пищевая ценность этих организмов делает их уникальными в определении продуктивности водоема. В тоже время олигохеты являются прекрасными “минерализаторами” органического вещества в донных отложениях, чем вносят значительный вклад в самоочищение водоема. Малощетинковые черви выступают прекрасными индикаторами, с помощью которых можно определить санитарно-биологическое состояние водоема.

Для отбора проб зообентоса использовали дночерпатель Петерсена с площадью захвата 1/100 м². Пробы фиксировались 4% раствором формальдегида, в дальнейшем обработка проб в лаборатории проводилась по стандартным гидробиологическим методам (Абакумов, 1983). Экологическое состояние озера определяли по методу Гуднайта и Уитлея (Гуднайт и Уитлей, 1961) с использованием методики “Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними критеріями” (Романенко, Жукинський, Окснюк и др., 1998).

Изучение качественного и количественного состава олигохет озера базируется на материалах исследования 2006–2007 года.

Отбор проб проводился как на глубинах до 18 м, так и на мелководьях (0.5– 2.5 м), на биотопах ила, слабо и сильно заиленного песка. Прибрежная часть озера богата на воздушноводные, свободноплавающие и погруженные в воду растения с плавающими листьями.

За период исследования 2006–2007 г. в оз. Вырлица было отмечено 31 вид олигохет принадлежащих к 5 сем.: Aeolosomatidae, Naididae, Tubificidae, Lumbriculidae, Glossoscolecidae.

На глубоководных участках пробы отбирались на черных илах, сильно заиленных пеках, слабо заиленных песках. На мелководье – на заиленных песках, слабо заиленных песках.

Нужно отметить бедность видового состава олигохет на глубоководных черных илах с низким количеством растворенного в воде кислорода. На глубине 12–18 м были обнаружены два вида малощетинковых червей принадлежащих к сем. Tubificidae – *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, *Tubifex tubifex* (Muller). Эти виды наиболее приспособленные для существования в среде с незначительным количеством кислорода.

Богаче фауна олигохет на сильно заиленном песке на глубине 6–11 м, где было обнаружено 7 видов олигохет принадлежащих к 2-м семействам (Tubificidae, Lumbriculidae). Четко выраженными доминантами были *Potamotheix hammoniensis* (Michaelsen), *L. hoffmeisteri*, *Limnodrilus udekemianus* Claparede. В меньших количествах встречались *Pelosclex ferox* (Eisen), *Aulodrilus pluriset* (Piguet). Совсем редко встречались *Lumbriculus variegatus* (Muller), *Psammoryctides albicola* (Michaelsen).

На биотопе слабо заиленного песка на глубине 2.5– 6.0 м, обнаружено 8 видов олигохет принадлежащих к 2-м семействам (Tubificidae, Lumbriculidae). На этом биотопе доминировали *L. hoffmeisteri*, *Isochaetides michaelseni* (Lastockin), *Limnodrilus helveticus* Piguet. В меньших количествах встречались *Limnodrilus claparedianus* Ratzel, *L. udekemianus* Claparede, *L. variagatus*, *P. ferox*, *P. hammoniensis* был отмечен в единичных экземплярах.

Нами было прослежено видовое сходство по Жаккару (Макрушин А.В., 1974) между глубинными станциями отбора проб на сильно заиленных песках и слабо заиленных песках, что составляло 50. Это говорит о том, что видовой состав олигохет на этих биотопах значительно различается.

Таблица 1. Колебание численности и биомассы олигохет на различных биотопах глубоководных станций отбора проб.

Семейства	Биотопы					
	ил		сильно заиленный песок		слабо заиленный песок	
	N	B	N	B	N	B
Tubificidae	200 - 600	1.1 - 4.7	1600 - 2900	11.2 -22.7	1300 - 2300	9.1 - 16.8
Lumbriculidae	-	-	100 - 600	0.60 - 4.2	200 - 500	1.2 - 3.8

N- численность в экземплярах, B- биомасса в граммах

Видовой состав фауны олигохет мелководных участков был более разнообразный в сравнении с глубоководными. На мелководных участках озера на заиленном песке на глубине 0.5–2.5 м обнаружено 19 видов олигохет. Это представители сем: Aeolosomatidae, Naididae, Tubificidae, Lumbriculidae, Glossoscolecidae. Как было сказано выше, прибрежная часть озера богата на воздушноводные, свободноплавающие и погруженные в воду растения с плавающими листьями, по-этому здесь часто встречались фитофильные виды. Среди растений олигохеты были представлены двумя семействами – Aeolosomatidae (2 вида) и сем. Naididae (10 видов). Представители этих семейств в большинстве обитают на растениях, однако встречаются и на грунте среди растений. Нами зарегистрировано в водоеме представители сем. Aeolosomatidae: *Aeolosoma travancorense* Ayer, *Aeolosoma hemprichi* Ehrenberg. Значительно шире представлено сем. Naididae, где доминантами выступают: *Stylaria lacustris* (Linnaens), *Nais communis* Piguet, *Nais barbata* O.F Muller, *Nais variabilis* Pig., *Nais pseudobtusa* Pig. В меньших количествах встречались: *Nais simplex* Pig, *Dero digitata* (O.F. Mull), *Pristina longiseta* Ehrenb., *Slavina appendiculata* (d'Udekem), *Chaetogaster limnaei* Baer. Так, как

представители этих семейств обитают в литоральной зоне озера как на дне, так и на растениях, это позволяет их считать донно-фитофилами.

Тубифициды – наиболее распространенная группа олигохет в бентосе заиленного песка озера. Подавляющее большинство из них пелофильные формы, достигающие максимальных показателей развития на илистых грунтах. Так *L. hoffmeisteri*, *L. udekemianus*, *P. hammoniensis*, *Potamothrix moldaviensis* (Vejdovsky et Mrazek) встречались на заиленных грунтах по всему озеру на мелководной зоне. Среди корней растений очень часто можно было встретить представителя сем. Lumbriculidae (*L. variegatus*, *Rhynchelmis limmosella* Hoffmeister), сем. Glossoscolecidae (*Criodrilus lacuum* Hoffmeister).

Таблица 2. Колебание численности и биомассы олигохет на различных биотопах мелководных станций отбора проб.

Семейства	Биотопы			
	заиленный песок		слабо заиленный песок	
	N	B	N	B
Aeolosomatidae	400 - 900	0.04 - 0.090	100 - 400	0.01 - 0.040
Naididae	700 - 3100	0.07 - 0.310	400 - 2300	0.04 - 0.231
Tubificidae	700 - 4400	6.3 - 39.600	700 - 4200	6.3 - 37.700
Lumbriculidae	500 - 1100	3.6 - 9.300	-	-
Glossoscolecidae	300 - 800	3.6 - 10.600	-	-

N- численность в экземплярах, B- биомасса в граммах

На слабо заиленном песке литорали площадь зарастания высшими водными растениями значительно меньше, чем на заиленном песке. Здесь обнаружено 15 видов олигохет. Постоянными доминантами были представители сем. Tubificidae – *I. michaelsini*, *P. moldaviensis*, *P. albicola*, *P. barbatus*, *L. hoffmeisteri*. Подчиненное положение занимали *L. udekemianus*, *L. claparedeanus*, *P. ferox*. На растениях доминировали представители сем. Naididae: *St. lacustris*, *Dero dorsalis* Ferron, *Dero obtusa* d' Udekem, *Nais. barbata* O.F. Muller, *N. pseudobtusa*, *Ophidonais serpentina* (O.F.Muller). Сем. Aeolosomatidae было представлено только одним видом *A. hemprichi*.

Индекс Жаккара при сравнении фауны олигохет мелководной зоны заиленного и слабо заиленного песка составлял лишь 30. Это можно объяснить различной степенью зарастания высшими водными растениями мелководной зоны. На биотопах со слабым развитием растений в значительной мере уменьшилась встречаемость представителей сем. Naididae, а представители сем. Lumbriculidae, Glossoscolecidae вовсе отсутствовали.

Для определения экологического состояния озера был использован “олигохетный индекс” Гуднайта и Уитлея, что в данном случае составлял от 67 до 76. Затем, подставляя показатели “олигохетного индекса”, что является составной частью методики “Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними критеріями” (Романенко, Жукинський, Окснюк и др., 1998), определяли класс качества воды, сапробность, трофность, и степень ее загрязнения. Согласно этого метода класс качества воды озера – III, трофность водоема - евтрофный, сапробность колебалась в пределах от β'- мезосапробной к α'- мезосапробной, а степень чистоты воды – от “слабо загрязненной” к “умеренно загрязненной”.

Таким образом, хотя озеро расположено в черте большого города и подвергается влиянию антропогенного действия, степень загрязнения воды не так уж велика и позволяет характеризовать ее от “слабо загрязненной” к “умеренно загрязненной”. Экологическое состояние озера свидетельствуют о сбалансированности внутриводоем-ных процессов как результат высокого самоочистительного потенциала гидробионтов.

Список литературы

- Гидробиологический анализ поверхностных вод и донных отложений // Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. –Л.: Гидрометеиздат, 1983. – С. 7-21.
- Иванова И.Ю., Харченко Г. В., Ключенко П. Д. Высшая водная растительность водоемов г. Киева // Гидробиол. журн. - 2007. - 43, №1 – С. 38-58.
- Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод. – Л.: 1974.– С. 24.
- Романенко В.Д., Жукинський В.М, Окснюк О.П. та ін. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними критеріями. – К.: СИМБОЛ-Т, 1998.– 56 с.
- Goodnight C.Y. Whitley L.S. Oligochaetas as indicators of pollution // Proc. 15-th Int. Waste Conf., 1961. Vol. 106.

МИКРО- И МЕЗОБЕНТОС ДНЕПРОВСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

В.П. Машина

Институт гидробиологии НАН Украины

04210 г. Киев, пр. Героев Сталинграда, 12, Украина, v_mashina@mail.ru

Одна из важнейших проблем современной экологии связана с изучением природных экосистем к действию различных антропогенных нагрузок. Антропогенные изменения водных экосистем (в том числе и водохранилищ) происходит в результате их целенаправленного преобразования под влиянием разнообразных форм эксплуатации водоемов.

Микро- и мезобентос – эволюционная категория бентоса гидроекосистем, которая сформировалась под влиянием совместного обитания организмов в динамической среде донных отложений. Важная роль микро- и мезофауны в водоемах определяется прежде всего тем, что она вносят значительный вклад в биологическое разнообразие водных экосистем характеризуясь большим таксономическим разнообразием; играет важную роль в балансе органических веществ в донных осадках, а также в образовании кормовой базы для рыб. Обладая высокой численностью (более 1 млн. экз/м²), коротким жизненным циклом и быстрым ростом, сообщества микро- и мезобентоса способны к быстрой перестройки структуры и своих функциональных показателей в зависимости от условий среды обитания, чутко реагируя на различные виды антропогенных воздействий.

Материалом для настоящей работы послужили многолетние ретроспективные и современные данные микро- и мезобентоса (1990–2006 г.г.), которые были получены во время проведения комплексных экспедиций на днепровских водохранилищах. Сбор и камеральную обработку микро- и мезобентических проб проводили по общепринятой в гидробиологии методики (Гурвич, 1969).

Используя данные многолетних наблюдений за динамикой качественных и количественных показателей развития микро- и мезобентоса днепровских водохранилищ мы выделяем те, которые в наибольшей степени отражают изменения донных сообществ при различных видах антропогенных воздействий. Для анализа степени антропогенной нагрузки были отобраны данные, относящиеся к участкам водохранилищ испытывающих значительный антропогенный пресс в виде неравномерного в течение суток гидрологического режима (попуски воды), обусловленного работой Киевской ГЭС, промышленных загрязнений, сброса коммунально-бытовых и ливневых вод большого мегаполиса г. Киева (речной участок Каневского водохранилища), а также проведения гидротехнических (дноуглубительных) работ на Каневском и Каховском водохранилищах.

Каневское водохранилище – последнее по времени образования водохранилище днепровского каскада испытывает значительный антропогенный пресс, которому наиболее сильно подвержен его речной участок. Речной участок водохранилища (длиной более 40 км вниз по течению от плотины Киевской ГЭС) находится под постоянным влиянием загрязненных вод г. Киева. Загрязнения поступают, в основном, в залив Волковатый, куда впадает р.Сирец и на участке впадения р. Лыбедь (28 км от плотины Киевской ГЭС).

Для развития и успешного функционирования микро- и мезобентических организмов очень важные такие показатели как тип донных отложений, его механический состав, глубина, скорость течения, кислородный режим, обеспеченность пищей. Но главным фактором определяющим видовой состав, пространственное распределение и количественное развитие микро- и мезофауны бентоса в водоемах озерного типа, к которым относятся днепровские водохранилища является эдафический фактор – характер грунта.

Создание водохранилищ на р. Днепр привело к неустойчивому уровненному режиму в их верхних участках; это обусловлено, в основном неравномерным режимом работы гидроагрегатов ГЭС, которые работают на покрытие пиковых нагрузок. Смена уровненных режимов, как в течение суток, так и на протяжении года носит скачкообразный характер, который приводит к разным колебаниям уровня воды в нижних бьефах водохранилищ (Тимченко, Дубняк, 2000).

Проведенными исследованиями установлено, что влияние резких внутрисуточных колебаний скорости течения (от 0.05 до 1.20 м/с) и колебания уровня воды (до 1 м и более) отрицательно воздействует на структуру и количественные показатели микро- мезобентических ценозов речной части Каневского водохранилища. Так, в частности, микрозообентические сообщества на четырех исследованных станциях (залив Собачье Гирло на речном участке водохранилища) уже при минимальном подъеме уровня воды на 30 см в июле 2001 г. характеризовался значительным уменьшением численности и видового разнообразия на фазе спада уровня воды в сравнении с периодом до начала подъема уровня (Рис.1).

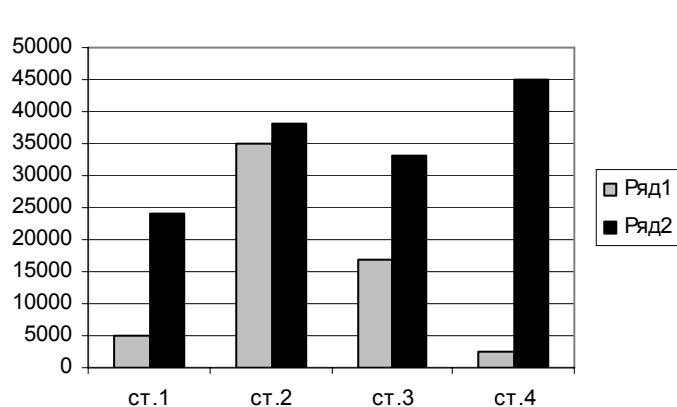
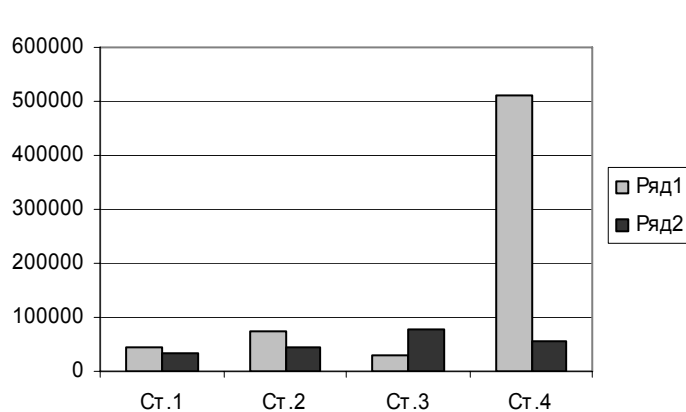


Рис. 1. Количественные показатели развития (численность, экз./м²) микробентоса (а) и мезобентоса (в) в заливе Собачье Гирло при поднятии уровня воды на 30 см (период до подъема уровня –1 и на фазе его спада –2).

На входе в залив (ст. 4 – темный ил в зарослях погруженных растений) было зафиксировано максимальную численность раковинных корненожек (*Rhizopoda*) – 507.8 тыс. экз./м² до начала подъема уровня, т.е. в период стабильных условий среды. Но уже после стремительного снижения уровня, при скорости течения – 0.08 м/сек (т.е. на фазе спада уровня) их численность уменьшилась в 14 раз и составляла лишь 39.5 тыс. экз./м².

Результаты исследований показали, что в период колебания уровня изменялся доминирующий комплекс микробентических организмов: до начала подъема уровня доминантами выступали виды раковинных корненожек из р. *Centropyxis* (*Centropyxis marsupiformis obesa* Defl. – 83.2 тыс. экз./м², *C. spinosa* Cash – 54.1 тыс. экз./м²). После стремительного спада уровня доминантами стали виды р. *Diffugia* (*Diffugia corona* Wall. – 8.5 тыс. экз./м², *D. oblonga acuminata* Ehr. – 8.0 тыс. экз./м²). Полученные результаты свидетельствуют об интенсивном влиянии на распределение донных сообществ абиотического фактора – скорости течения, которое образуется в результате резких колебаний уровня воды; обуславливает смыв поверхностных слоев донных отложений, что в свою очередь, приводит к нарушению ризоценоза (раковинных корненожек – наиболее легкой по удельному весу группе микрозообентоса). Известно, что большинство раковинных корненожек живет в стоячих или слабо проточных водоемах, течение является одним из неблагоприятных факторов их развития. Если взять во внимание, что илы для этой группы организмов являются одним из благоприятных для их развития типов донных отложений в стоячих или слабо проточных водоемах, то в данном случае мы наблюдаем отрицательное влияние колебаний уровня воды (прежде всего скорости течения) на развитие бентических организмов.

Совсем по другому реагировали на колебания уровня сообщества мезобентоса (Рис.1). В период спада уровня на всех исследованных станциях наблюдалось значительное увеличение показателей видового и количественного разнообразия организмов мезобентоса, в сравнении с периодом до начала подъема воды. В зарослях погруженных растений на илах (ст. 4) при спаде уровня воды были обнаружены зоны максимального скопления хирономид (20.8 тыс. экз./м²) и олигохет (12.5 тыс. экз./м²), а также было зафиксировано появление представителей других групп мезобентоса, в частности ветвистоусых и веслоногих рачков, которые не встречались в пробах, отобранных в период до начала подъема уровня.

Полученные результаты констатируют, что условия, которые образуются при резких внутрисуточных колебаниях воды (скоростной режим течения) обуславливает нестабильность

бентосных ценозов, негативно влияя на развитие микрозообентических организмов локальных участков водохранилища.

К другой категории антропогенных факторов относятся сбросы промышленных и коммунально-бытовых загрязнений, которые также приводят к изменениям условий обитания организмов микро- и мезобентоса. Изменение структуры ценозов микро- и мезобентоса при сбросе сточных вод можно проиллюстрировать на примере залива Волковатый, куда впадает р. Сирец и района впадения р. Лыбеди. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что качественные и количественные показатели бентосных сообществ загрязненных участков (устье р. Лыбедь и р. Сирец) формируются на 85–100% за счет одной – двух групп донных беспозвоночных (Rhizopoda, Nematoda). Микрозообентос устья Лыбеди представлен только одной таксономической группой – свободноживущими нематодами (Nematoda) с доминирующим видом – *Diplogaster rivalis* (Leydig.) – 5.7 тыс. экз/м². Среди мезобентических организмов развивались только олигохеты (Oligochaeta), представленные одним видом – *Tubifex tubifex* (Müll.). Эти полисапробные виды (*Diplogaster rivalis*, *Tubifex tubifex*), как правило, живут в очень загрязненных водоемах. Для микро- и мезобентоса устьевого участка р. Лыбедь отмечены низкие значения индекса видового разнообразия Шеннона – 1.7 бит/экз., что свидетельствует о значительной токсической нагрузки в стоке Лыбеди.

Многолетние наблюдения за динамикой развития микробентоса днепровских водохранилищ показали, что количество видов и численность раковинных корненожек (Rhizopoda, Testacea) возрастает по мере накопления органических веществ в бентосе (органическое загрязнение относится к трансформирующим антропогенным факторам водных экосистем). Реакция микробентоса на неблагоприятные условия окружающей среды может выражаться в резком возрастании плотности поселений организмов с минимальными размерами, что подтверждается нашими исследованиями, проведенными на Каневском водохранилище. Так, в устье р. Сирец отмечено резкое возрастание (более 1 млн. экз./м²) количественных показателей раковинных корненожек в летний период их развития, что составило 82% общей численности всего микробентоса.

Проведенный анализ результатов исследований свидетельствует, что реакция сообществ микро- и мезобентоса на различные виды антропогенных воздействий проявляется на структурных показателях, а именно: сокращается видовое разнообразие и количественное развитие, усиливается доминирование отдельных групп и видов бентосных организмов

Одним из антропогенных факторов влияющих на донные биоценозы водных экосистем является проведение дноуглубительных работ и добыча строительного песка в днепровских водохранилищах. Детальные исследования по изучению влияния техногенных нагрузок на микро- и мезобентос проводились в 90-х годах на Каневском водохранилище (район с. Триполье) и на Каховском водохранилище (район г. Запорожье).

Микро- и мезобентос исследовали в 3-х км выше (по течению) и в 3.5 км ниже места работы ГПП (гидропескопогрузчик). Кроме того, были отобраны пробы непосредственно на участке работы ГПП - 250 м выше точки отбора песка и 250 м ниже места работы земснаряда. Дноуглубительные работы на днепровских водохранилищах проводятся, в основном, в зоне чистых или заиленных песков.

Результаты исследований показали, что микробентос чистых песков состоит, в основном, из свободноживущих нематод (Nematoda), средняя численность которых колебалась в пределах нескольких тысяч. Мезобентос довольно беден. По численности и величине биомассы в мезобентосе доминировали олигохеты, составляя 36% общей биомассы. На втором месте по количественному развитию (10.3 тыс. экз/м²) выступали ветвистоусые рачки (*Disparalona rostrata* (Koch)). Микрофауна бентоса заиленных песков состояла, главным образом, из раковинных корненожек, образующих до 90% общей численности микробентоса, с доминированием *Diffugia oblonga oblonga* Ehr. и *D. amphora* Leidy. Среди свободноживущих нематод доминировали псаммопелофилы: *Tobrilus gracilis* (Bastian), *Mesotheristus setosus* (Butschli) и *Ironus ignavus* Bastian. Мезобентос заиленных песчаных грунтов был довольно богат и разнообразен. Доминировали олигохеты до 60% величины общей биомассы; 25% общей биомассы мезобентоса составляли личинки хирономид, среди которых доминировал *Cladotanytarsus mancus* (Walker).

Результаты исследований микро- и мезобентоса, проведенных непосредственно на участке работы ГПП, т.е. в зоне «облака мутности» или «шлейфа» показали следующее:

– в 250 м выше места размыва и забора песка микробентос характеризовался уменьшением видового разнообразия раковинных корненожек (по сравнению с аналогичным по характеру участком, лежащем на 3.0 км выше работы ГПП) с 31 до 20 видов, однако численность их возросла в 2.7 раза. Резко уменьшилось видовое разнообразие свободноживущих нематод (в основном за счет небольших по размерам псаммофилов) и в меньшей степени снизилась их численность (7.6 тыс.

экз/м²). Из состава мезобентоса «исчезли» все группы за исключением олигохет, численность которых уменьшилась в два раза, что свидетельствовало о разрушении бентосного ценоза;

– микробентос на участке (250 м ниже места размыва и забора песка) характеризовался таким же видовым разнообразием раковинных корненожек, как на участке, лежащем в 3-х км выше места работы земснаряда; численность свободноживущих нематод более низкая, чем в районе отбора песка – 1.9 тыс. экз/м². Из выше изложенного можно сделать заключение, что в районе непосредственной работы земснаряда происходило разрушение ценозов бентоса;

– в 3.5 км ниже участка ГПП (по сравнению с лежащем на 3.0 км выше места работы ГПП) видовое разнообразие микро- и мезобентоса было практически одинаковым – 48 и 49 видов соответственно; количественное развитие микро- и мезобентических организмов увеличилось. Наличие почти всех исследованных групп бентосных организмов (8 таксономических групп), их видовое разнообразие, количественное развитие (203.5 – 135.2 тыс. экз/м²) и соотношения, говорят о том, что на данном участке водохранилища эти ценоотические группировки бентоса восстановились.

Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать заключение, что отрицательное влияние проведения дноуглубительных работ на развитие микро-и мезобентоса (уменьшение видового разнообразия и количественного развития этих групп) наблюдается лишь на небольших участках, находящихся под непосредственным механическим воздействием работающих земснарядов – токи воды и вызываемое ими взмучивание. Ниже места проведения дноуглубительных работ наблюдается увеличение видового разнообразия и развития всех групп микро- и мезобентических организмов, что свидетельствует о восстановлении бентосных ценозов.

На основании анализа полученных результатов многолетних исследований определены тенденции развития микро- и мезобентоса в условиях антропогенного пресса, а именно: резко сокращается видовое и количественное разнообразие, усиливается доминирование основных групп (Rhizopoda, Nematoda) и отдельных видов гидробионтов, возрастает общая численность микрозообентических организмов и уменьшается биомасса. Стрессовые ситуации на водных объектах (антропогенно обусловленный неблагоприятный скоростной режим течения, загрязнения и проведение гидротехнических работ) оказывают негативные воздействия на фаунистический состав и количественные показатели развития микро- и мезобентоса локальных зон водных экосистем.

Список литературы.

Гурвич В.В. Методика количественного изучения микро- и мезобентоса // Биол. внутр. Вод. – 1969. – Информ. Бюл. № 3, С. 57– 62.

Тимченко В.М., Дубняк С.Г. Экологические аспекты водного режима Киевского участка Каневского водохранилища // Гидробиол. журн. – 2000. – 36, № 3. – С. 57-67.

СОСТОЯНИЕ БИОТИЧЕСКИХ СООБЩЕСТВ МАЛЫХ РЕК СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЯНЫХ РАЗЛИВОВ

Н.М. Мингазова, Э.Г. Набеева, О.В. Палагушкина, О.Ю. Деревенская, Л.Р. Павлова, В.Д. Поляков

*Казанский государственный университет, Республика Татарстан, Россия,
levira_nn@mail.ru, Nafisa.Mingasova@ksu.ru*

Развитие нефтеотраслевого комплекса неизбежно оказывает влияние на окружающую природную среду. Аварийные разрывы нефтепроводов влекут за собой попадание нефтепродуктов в почву и водные объекты. В данной работе отражено изменение сообществ гидробионтов малых рек Среднего Поволжья (Шавы – в Нижегородской области, Унги – в Республике Чувашия) вследствие разлива нефтепродуктов, показана эффективность проведенных восстановительных мероприятий.

Исследование организмов-гидробионтов проводилось лабораторией водных экосистем факультета географии и экологии КГУ при содействии НПО «ВолгоДонЭкоСпас». Пробы отбирались весной (в мае), летом (в августе) и осенью (в октябре) 2007 г., в 5 точках на участках выше места воздействия, в месте разлива, ниже по течению рек, на входе и выходе рек из прудов. Изучались фитопланктонное, зоопланктонное и зообентосное сообщества (видовой состав, количественные структурные характеристики), проводилась оценка качества воды с помощью индексов видового разнообразия.

При разрыве нефтепродуктопровода «Альметьевск - Нижний Новгород» 12 марта 2007 г. в районе с. Слободское Кстовского района Нижегородской области произошло загрязнение памятника природы областного значения «Болото «Шава», р. Шава, рыбоводных прудов ООО «Рыбхоз «Борок». Общая длина загрязненного участка по реке Шава, болоту Шава и Борковскому пруду составила около 5 км, при этом разлилось более 100 т дизельного топлива. Река Шава протекает через болото

Шава, ниже образован пруд, вода из которого вытекает и ниже по течению впадает в р. Кудьма. На месте разлива в весенне-летний период проводился ряд восстановительных мероприятий для сбора нефтепродуктов (строительство загородительной дамбы, бурение шурфов, применений бонов, сорбирующих матов и сорбентов и др.), часть нефтепродуктов аккумулировалась болотом Шава.

Исследования фитопланктона р. Шава за вегетационный период 2007 года позволили выявить 120 таксонов рангом ниже рода из семи отделов. Как свойственно большинству лотических экосистем, в видовом составе преобладают диатомовые – 66 видов, вторым по количеству видов является отдел зеленые – 21 вид, затем следуют эвгленовые – 12 видов, золотистые – 9 видов, сине-зеленые – 6, динофитовые и криптофитовые водоросли – по 3. Количество видов по сезонам в ряду весна – лето – осень менялось от 84 весной до 62 видов летом и 52 осенью.

Самые низкие значения численности (76,5 – 162,324 т.кл./л) и биомассы (0,113 – 0,439 мг/л) за период исследований отмечались на контрольной станции, отражающей фоновое состояние фитопланктона реки Шава. Весной формирование численности и биомассы шло диатомовыми водорослями с доминированием *Synedra ulna*, летом по численности доминировала зеленая водоросль *Kirchneriella lunaris*, диатомовые *Diatoma vulgaris*, *Cocconeis placentula* var. *euglypta* вносили значимый вклад в значение численности и биомассы. Трофический статус фонового участка реки соответствовал олиготрофному.

Наибольшие значения численности и биомассы фитопланктона за период исследований отмечались весной в месте прорыва нефтепровода и разлива нефтепродуктов (ст.2) – 38710 т.кл./л и 125,15 мг/л соответственно. При этом основными доминантами по численности и биомассе на время аварии были сине-зеленые водоросли рода *Oscillatoria* и диатомовые с доминантом *Synedra ulna*. Трофический статус реки в месте разлива нефтепродуктов соответствовал гипертрофному.

По мере удаления от места разлива нефтепродуктов отмечалось снижение показателей численности и биомассы фитопланктона. На станциях, приближенных к месту разлива, весенние значения численности и биомассы формировались, в основном, сине-зеленой водорослью рода *Oscillatoria* и диатомовой *Synedra ulna*. На более удаленных от места разлива участках реки по численности доминировали диатомовая *Aulacoseira granulata*, сине-зеленая *Anabaena flos-aquae*, золотистая *Chrysococcus rufescens*, доминантами по биомассе относились диатомовая *Synedra ulna* и зеленая водоросль *Spirogira* sp.

Доминантами численности летнего и осеннего фитопланктона на станциях ниже по течению были зеленые *Scenedesmus acuminatus*, *Sc.bijugatus*, сине-зеленые *Aphanizomenon flos-aquae*, *Lyngbia limnetica*, *Oscillatoria lacustris*, *Oscillatoria* sp., диатомовые *Cocconeis placentula* var. *euglypta*, *Gyrosigma acuminatum*, *Nitzschia acicularis*, а также криптофитовая *Chroomonas* sp., золотистая *Mallomonas acaroides*, эвгленовая *Euglena viridis*. Биомасса летнего и осеннего фитопланктона формировалась зелеными *Scenedesmus acuminatus*, диатомовыми *Diatoma vulgaris*, *Rhopalodia gibba*, *Navicula cuspidata*, золотистой *Mallomonas acaroides*, эвгленовой *Euglena viridis*. Трофический статус реки на станциях ниже места разлива в летний период характеризовался мезо-эвтрофным, а в осенний период – мезотрофным типом.

Самый широкий диапазон изменения качества воды в реке отмечался весной, характеризуясь при этом классом «чистая» разрядами «очень чистая – вполне чистая» на станциях выше и ниже разлива до класса «грязная» разряда «весьма грязная» на месте поступления нефтепродуктов. Отмечалось улучшение качества воды по мере удаления станции отбора от места разлива нефтепродуктов. В сезонном аспекте отмечалось постепенное его улучшение от весны к осени и восстановление структурных характеристик фитопланктона в местах разлива до уровня фоновых для реки Шава.

В зоопланктонном сообществе весной, в мае 2007 г. в р. Шава было встречено 9 видов зоопланктона, из них коловраток – 6, ветвистоусых ракообразных – 1, веслоногих ракообразных – 2 вида. На станциях встречалось от 2 до 7 таксонов. Больше количество видов отмечалось на станции у входа в пруд «Борок» и на участке протекания реки в водно-болотных угодьях.

Численность и биомасса зоопланктона были низки, на всех станциях встречались единичные экземпляры организмов зоопланктона. Численность по станциям изменялась от 1,2 до 112,3 тыс.экз/м³, биомасса – от 0,001 до 0,13 г/м³. Наиболее высокие значения численности и биомассы зоопланктона отмечены на контрольной (фоновой) станции, наименьшие – при впадении в пруд и в месте выхода из пруда. По величине биомассы зоопланктона, в соответствии с классификацией С.П.Китаева (1984), водоток можно отнести к α-олиготрофным. Индекс видового разнообразия Шеннона ниже по течению реки повышался (с 0,15 на станции ниже разлива до 2,4 при впадении реки в пруд), что связано с высокой самоочищающей способностью болота Шава. В целом весной в период разлива зоопланктон отличался низким видовым разнообразием, низкими величинами количественных показателей и нарушенной структурой сообществ.

В летний период в р. Шава встречалось 14 видов зоопланктона, по 6-8 видов на станции. Максимальные количественные показатели зоопланктона снизились – численность до 16,05 тыс.экз/м³, биомасса до 0,05 г/м³. Наименьшая численность отмечалась на фоновой станции - 2,09 тыс.экз/м³, наибольшая – в месте аварии. Доминировали на фоновой станции коловратки, на станциях ниже – ракообразные. Биомасса была очень низкой на всех станциях, по биомассе на всех станциях доминировали ракообразные.

Индекс сапробности изменялся по станциям и составлял на фоновой станции 1,58, на месте разлива – 1,44, на выходе из пруда – 1,61. Наибольшие значения индекса, соответствующие более высокому загрязнению, обнаружены на выходе реки из пруда. Значения индекса Шеннона изменялись от 0,83 до 2,4, а индекса Симпсона – от 0,29 до 0,79. Наиболее неблагоприятным по величинам биотических индексов (кроме индекса сапробности) является участок места аварии.

В октябре 2007 г. в зоопланктоне р. Шава было встречено 16 видов. На месте аварии доминирующий комплекс образовывали по численности ветвистоусые (преобладали) и веслоногие ракообразные, на станции ниже пруда – коловратки, по биомассе доминировали ветвистоусые рачки - на месте разлива и коловратки – ниже пруда. Численность изменялась от 3,69 тыс.экз/м³ до 4,52 тыс.экз/м³, при биомассе 2,78-3,22 г/м³. Относительно высокие значения биомассы образовывалась за счет копеоподитных стадий циклопов.

Показатели качества воды на станциях ниже аварийного разлива осенью повысились: индекс сапробности составлял 1,37 и 1,63, индекс Шеннона – 2,65 и 1,71, индекс Симпсона – 0,82 и 0,53. По величинам биотических индексов более загрязненным является участок реки на выходе из пруда «Борок».

В целом по результатам изучения река Шава отличается относительно невысоким видовым разнообразием, а также низкими значениями количественных показателей. По величинам биотических индексов во все периоды исследований наиболее загрязненной являлась вода реки на выходе из пруда. В зоопланктонном сообществе на участке, подвергшемся воздействию, доминировали ракообразные, осенью – ветвистоусые (рачки-фильтраторы).

В составе зообентоса р. Шава было отмечено 33 вида (двустворчатые моллюски-2, брюхоногие моллюски-8, поденки-2, стрекозы-2, ракообразные-1, пиявки-2, хирономиды-6, олигохеты-7, волосатики-1, жесткокрылые-2). В распределении видов по станциям (рис.1) заметно, что на станции выше разлива (ст.1) биоразнообразие выше, на станциях ниже места разлива (ст. 2 и 2а) преобладают брюхоногие моллюски, хирономиды и олигохеты.

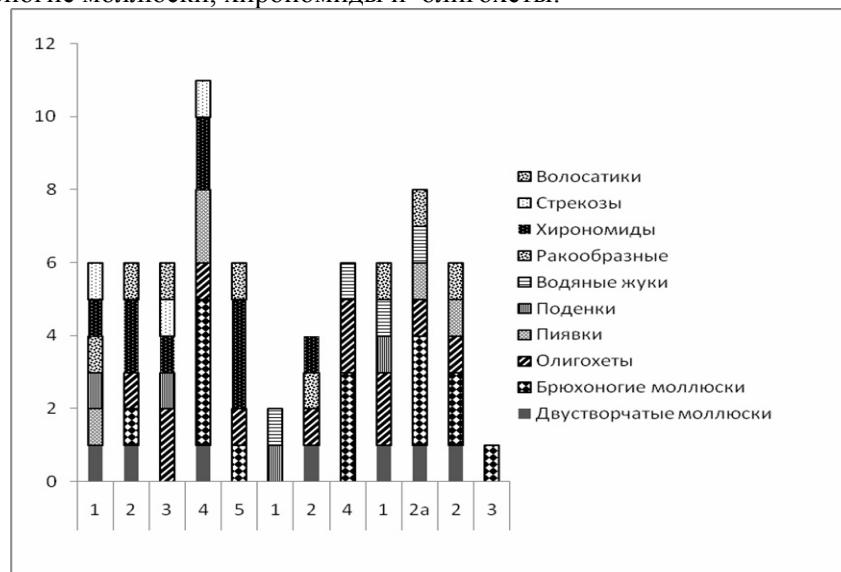


Рис. 1. Распределение видов зообентоса р. Шава в период с мая по октябрь.

Видовой состав и количественные значения видов изменялись со времени разлива. Больше всего пострадало донное сообщество на участке аварийного разлива и ниже по течению реки Шава. Здесь отмечалось низкое видовое разнообразие и минимальные количественные значения (численность составляла - 325 экз/м², биомасса - 0,26 мг/м²). На фоновой станции численность составляла 450 экз/м², биомасса - 14,30 мг/м².

Весной индекс видового разнообразия Симпсона (S) изменялся от 0,38 до 0,81, индекс Шеннона (H) от 2,32 до 3,46, индекс Вудивиса (W) от 2 до 6. Качество воды ниже аварийного разлива соответствовало загрязненным водам с неустойчивым сообществом (на месте разлива S=0,67, H=2,32, W=2, на болоте - S=0,67, H=2,32, W=5). При впадении в оз. Борок значения биологических индексов

отмечены более высокие ($S=0,72$, $H=3,46$, $W=5$), близкие к таковым на станции, расположенной выше места разлива ($S=0,81$, $H=3,00$, $W=6$).

При прохождении реки через водно-болотный комплекс, большая часть нефтепродуктов задержалась торфяниками, что повлекло сохранение высоких значений биомассы и видового разнообразия на станции впадения р.Шава в пруд «Борок». В месте аварийного разлива исчезли поденки, ракообразные, появились в большом количестве олигохеты. Устойчивой к нефтепродуктам группой оказались брюхоногие моллюски и олигохеты, обладавшие максимальными значениями численности и биомассы даже в районах повышенной концентрации нефтепродуктов. На месте аварийного разлива не отмечались поденки и стрекозы, характерные для контрольной точки. После проведения оздоровительных мероприятий (применение сорбентов, очистка донных отложений, прибрежной зоны) в видовом составе зообентоса появились хирономиды, ракообразные.

В Республике Чувашия авария произошла на нефтепродуктопроводе Альметьевск-Горький- 2, 19.04.2007. Здесь границы распространения района экологического бедствия достаточно велики, что связано с объемом разлившегося топлива (1568 т) и попаданием его непосредственно в р. Унга и разном ниже по течению, через пруды Емякасы и Карагинский с притоком в р.Цивиль. Для сбора нефтепродуктов здесь применялись боны, сорбенты, промывка и укрепление загрязненных нефтепродуктами берегов.

Исследования фитопланктона реки Унга за вегетационный период 2007 года позволили выявить 80 таксонов рангом ниже рода из восьми отделов. В видовом составе планктонных водорослей преобладают диатомовые – 29 видов, вторым по количеству видов является отдел зеленые – 23 вида двух классов и трех порядков, затем по числу видов следуют эвгленовые – 11 видов, золотистые – 8 видов, сине-зеленые - 5, динофитовые -2, криптофитовые и желто-зеленые водоросли – по 1. Количество видов по сезонам в ряду весна – лето - осень менялось от 16 весной до 54 видов летом и 48 осенью.

Фоновые для р.Унга значения численности фитопланктона (89,6-92 т.кл./л) в сравнении с другими участками исследований оставались самыми низкими в течение вегетационного периода, а биомасса (0,096 – 0,0,273 мг/л) – одной из самых низких, что соответствовало олиготрофному статусу фонового участка реки с классом качества воды как «чистая» с разрядом «очень чистая». Формирование численности на этом участке реки весной происходило, в основном, сине-зеленой водорослью *Lyngbia limnetica*, диатомовой *Synedra ulna*, а биомасса формировалась диатомовыми с доминированием той же *Synedra ulna*. Осенью по численности и биомассе преобладали эвгленовые водоросли с доминантом *Euglena viridis*.

Месту аварийного разлива нефтепродуктов на реке также были свойственны низкие значения численности фитопланктона (несколько выше фоновых), летний пик биомассы и осеннее ее снижение до уровня фоновых. Доминантами по численности являлась эвгленовая *Euglena aculeata*, а по биомассе - *Euglena viridis* Ehr. Трофический статус реки на данном участке в летний период – мезотрофный, осенью – олиготрофный.

Реке Унга ниже пруда Емякасы на протяжении всего вегетационного периода были свойственны самые высокие значения численности и биомассы в сравнении со всеми другими станциями. При этом отмечался летний пик численности (3321,2 т.кл./л) и осенний пик биомассы (2,563 мг/л), статус исследуемого участка сохранялся как мезотрофный в течение всего периода исследований. Вероятнее всего предположить вымывание рекой фитопланктонных организмов из пруда Емякасы, численность и биомасса фитопланктона на этом участке в большей степени формировалась миксотрофными водорослями отделов криптофитовые и эвгленовые, а также видами отдела сине-зеленые, что является косвенным подтверждением загрязнения вод реки органическими веществами.

Река Унга на участке ниже Карагинского пруда характеризовалась численностью и биомассой фитопланктона на уровне фоновых и олиготрофным типом воды.

В целом, прохождение реки Унга от места аварии через два пруда, способствует ее самоочищению от нефтепродуктов, снижению количественных показателей фитопланктона до уровня незагрязненных нефтью участков (фоновых) как в течение отдельно взятого сезона, так и в ряду весна-лето-осень. Но следует отметить, что реке в целом свойственно постоянное загрязнение органическими веществами, скорее всего, сельскохозяйственного происхождения, что отражается на структуре фитопланктона - значимое влияние на его численность и биомассу в том числе, и на фоновом участке реки, оказывают эвгленовые и сине-зеленые водоросли.

В р. Унга и прудах встречено 40 видов зоопланктона, из них коловраток – 19 видов (48%), ветвистоусых ракообразных – 12 (30%), веслоногих ракообразных – 9 (22%). В зависимости от времени года и станции в пробах присутствовали от 1 до 17 видов зоопланктона. В мае наибольшее количество видов встретилось на станции, расположенной ниже Карагинского пруда, в августе – в Карагинском пруду, в октябре – у моста Карачкино.

В мае на ст. 3 (река Унга фон) численность зоопланктона составляла 20,2 тыс.экз/м³. В пруду Карагинском численность снижается до 4,49 тыс.экз/м³ и ниже пруда возрастает до 91,2 тыс.экз/м³. Биомасса на фоновом участке реки составляла 0,03 г/м³, в пруде - 0,01 и ниже пруда - 0,1 г/м³. Количественные показатели зоопланктона были наиболее низки в пруде Карагинском. Доминировали по численности *Notholca accuminata*. Преобладали по численности коловратки, по биомассе – веслоногие ракообразные. В августе численность зоопланктона в пруду Емалоки составляла 53,74 тыс.экз/м³, биомасса – 0,31 г/м³. В пруду Карагинском – 19,64 тыс.экз/м³ при биомассе – 0,4 г/м³, в р. Унга ниже Карагинского пруда – 5,28 тыс.экз/м³ при биомассе – 0,06 г/м³. Наибольшая численность была в пруду Емалоки, биомасса – в пруду Карагинском. В целом, численность и, особенно, биомасса зоопланктона были относительно низки. По численности и биомассе преобладали ветвистоусые ракообразные. В октябре самые низкие значения численности зоопланктона были ниже места аварии и составляли 0,2 тыс.экз/м³. В пробе встречались только единичные экземпляры зоопланктона. Наибольшая численность зоопланктона была в пробе, взятой у Карачкинского моста и на фоновой станции в реке Унга – 3,24 и 3,12 тыс.экз/м³ соответственно. Аналогично изменялись и значения численности. По численности и биомассе преобладали веслоногие ракообразные. По величине биомассы зоопланктона, в соответствии с классификацией С.П.Китаева (1984) водоток можно ориентировочно отнести к α -олиготрофным – с очень низкой биомассой зоопланктона.

Значения индекса сапробности в реке Унга и в прудах в большинстве случаев находились в пределах β -мезосапробной зоны. В октябре, на фоновом участке реки величина индекса составляла 1,42 – олигосапробная зона. Значения индекса Шеннона были относительно низкими в мае, выше в августе и октябре. Наиболее высокие значения индекса отмечены в пруде Карачкинском (в августе) и на станции между прудами (в октябре). Значение индекса Симпсона также были низки в мае, выше в августе и октябре.

В целом сообщество зоопланктона в реке Унга отличалось невысоким видовым разнообразием, видовое богатство повышалось в прудах. Зоопланктон отличался низкими величинами количественных показателей, нарушенной структурой сообщества. По количественным показателям преобладали ветвистоусые ракообразные летом и веслоногие осенью. Индексы видового разнообразия были выше на участке реки у прудов.

В составе зообентоса исследованного участка реки Унга с прудами было отмечено 39 видов (брюхоногие моллюски – 9, хирономиды – 7, олигохеты - 5 видов, пиявки – 4, водяные жуки – 4, ручейники – 1, поденки – 2, двусторчатые моллюски – 3, стрекозы – 2, Tabanidae – 1, пауки – 1 вид (табл.14).

В мае 2007 г. наибольшее видовое разнообразие отмечалось на р. Унга на станциях до аварийного разлива и ниже Карагинского пруда. На станции до аварийного разлива наблюдались редкие виды организмов – водяные скорпионы и индикаторы чистых вод – поденки. На участке ниже аварийного разлива преобладали брюхоногие моллюски, летом обнаружены также хирономиды и пиявки. Наибольшее разнообразие отмечалось осенью, на станциях ниже прудов. По численности в течение всего периода исследований на участке реки, подвергнутому воздействию, доминировали малощетинковые черви и брюхоногие моллюски. Максимальные их количества отмечались на станции в Карагинском пруду и в р.Унга, ниже Карагинского пруда. Минимальными значениями численности характеризовалась станция на месте разлива летом. На участке, не подвергнутому загрязнению, отмечалась меньшая численность гидробионтов. При расчете биомассы максимальные значения наблюдались у брюхоногих моллюсков и личинок насекомых. Биомасса различалась по станциям и времени года. Всплеск биомассы наблюдался на станции ниже пруда Карагинского в октябре за счет брюхоногих моллюсков. На фоновой станции отмечалось более равномерное соотношение различных групп организмов.

Согласно биотическим индексам в начальный период (весной) более всего пострадали сообщества зообентоса на станциях в месте аварии, у плотины ниже Карагинского пруда, у пруда Емякасы. В летний период также отмечались низкие показатели качества воды. Осенью произошло частичное улучшение качества воды на участках р. Унга ниже прудов Емякасы и Карагинский. Лучшими характеристиками обладают воды ниже Карагинского пруда.

Обе реки характеризовались высоким качеством воды до аварийного разлива. В зообентосном сообществе отмечались виды – индикаторы чистых вод и виды редкие, занесенные в Красную книгу. При аварийном разливе нефтепродуктов видовой состав и количественные показатели изменились, свидетельствуя о снижении качества воды. Исчезли редкие виды, увеличилась численность и биомасса олигохет и брюхоногих моллюсков. Большое влияние на улучшение качества воды оказали водно-болотный комплекс Шава (для р. Шава) и пруды (для р. Унга), которые способствовали процессам самоочищения и снижения концентрации нефтепродуктов. Участки с низкой скоростью течения характеризовались застойными явлениями, снижением видового разнообразия.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКЦИОННО-ДЕСТРУКЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАНКТОНА РЕКИ СВИСЛОЧЬ ПОСЛЕ ЕЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ

Т.М. Михеева, Р.З. Ковалевская, Н.В. Дубко, О.А. Шевелева

Белорусский государственный университет, НИЛ гидроэкологии

г. Минск, 220030, проспект Независимости, 4, Беларусь, mikheyeva@tut.by

Река Свислочь правый приток р. Березины (бассейн Днепра) – классический пример небольшого водотока, подверженного высокому уровню антропогенного воздействия. После переброски воды из крупнейшего в Беларуси Вилейского водохранилища в 1976 г. р. Свислочь значительно обводнена и является главной водной магистралью г. Минска. Сезонный уровень обводнения регулируется стоком из второго по величине в республике Заславского водохранилища, расположенного в 10 км на северо-западе от города.

После обводнения, реконструкции и благоустройства головного Заславского водохранилища в 1977 г. (создано в 1956 г.) состояние прежде крайне загрязненного водотока хотя и улучшилось значительно, но оставалось далеко не удовлетворительным. Это касалось, прежде всего, городского отрезка реки – важного многофункционального элемента городской среды, протяженность которого с чередованием зарегулированных и речных участков составляет более 40 км. Низкое качество воды определялось высокой трофностью речного потока. Примером могут служить результаты наблюдений, выполненных в вегетационном сезоне (май–октябрь) 1995 г. на отрезке реки в границах города (от выхода из высоко проточного водохранилища Дрозды до Чижовского водохранилища включительно), представленные в работе (Остапеня и др., 1999). Согласно приведенным данным, в период сезонного максимума содержание хлорофилла-*a* и скорость потенциального фотосинтеза оказались на данном отрезке реки на уровне величин, характерных для гиперэвтрофных вод (табл 1).

Таблица 1. Среднесезонные значения отдельных биологических характеристик на городском отрезке р. Свислочь в вегетационном сезоне (май–октябрь) 1995 г.

Параметры	Створы			
	1	2	3	4
Сестон, сухая масса, мг/л	23.4 (4.2–30.3)	21.6 (3.6–53.7)	25.3 (3.9–65.5)	22.8 (5.3–42.8)
Хлорофилл- <i>a</i> , мкг/л	31.9 (8.4–66.2)	34.2 (7.1–76.7)	52.3 (5.8–122.8)	70.7 (18.7–150.5)
Скорость фотосинтеза, (A_{max}), мг O_2 /л·сут	7.6 (0.9–16.5)	9.0 (1.0–18.1)	13.1 (0.8–34.2)	12.4 (2.5–22.7)
Деструкция, мг O_2 /л сут	1.5 (1.1–1.9)	1.6 (0.4–2.4)	1.3 (0.5–2.2)	2.2 (0.4–5.0)
Ассимиляционное число, (САЧ), мг С/мг хлор·сут	70.7 (32.1–113.5)	76.1 (40.8–123.9)	66.4 (41.4–112.4)	51.3 (29.4–66.9)

Обращают на себя внимание чрезвычайно высокие значения фотосинтетической активности планктона (САЧ), превышающие в отдельных случаях максимальные величины, приводимые в литературе для пресных вод.

Для оздоровления главной водной магистрали г. Минска на протяжении последних пяти лет планомерно проводились мероприятия по упорядочению и благоустройству участков реки в границах города и очистке русла с изъятием донных отложений и др. Ранее были выполнены работы по упорядочению водосборной территории и непосредственно водных акваторий речной системы, расположенных выше города.

С целью оценки эффективности проведенных мероприятий с апреля 2006 г. Лабораторией гидроэкологии Белгосуниверситета были начаты исследования по изучению временной и пространственной изменчивости количественного развития, структуры и функциональных характеристик автотрофной компоненты планктона (фитопланктона), играющей приоритетную роль в процессах самоочищения и формирования качества воды открытых водных экосистем.

Наблюдения выполнялись ежемесячно на 7 постоянных створах, пять из которых (створы 2–6) расположены в пределах города. Створ № 1 располагается в месте входа в реку канала переброски

воды из Вилейского водохранилища в нескольких километрах выше головного Заславского, створ № 7 – в 10 км ниже города, в пункте полного смешения речного потока со стоком с городских очистных сооружений. В границах города пробы отбирались: на выходе из двух последовательно расположенных высоко проточных водохранилищ Дрозды и Комсомольское озеро (створы 2 и 3), на речном участке в густонаселенном районе (створы 4 и 5) и на выходе речного потока из города в 0,5 км ниже Чижовского водохранилища (створ 6).

В настоящей работе приводятся сравнительные результаты определения количественного развития фитопланктона (по содержанию хлорофилла-*a* – Chl-*a*), его доли в сухой массе сестона ($C_{\text{сест}}$), потенциальной скорости фотосинтеза ($A_{\text{пот.}}$) и деструкции (R) планктона, БПК₅, полученные в вегетационных сезонах 2006, 2007 гг., отражающие уровень и направленность межгодовых изменений в речной системе после проведенных оздоровительных мероприятий.

Скорость фотосинтеза (валовый фотосинтез) и деструкции измеряли методом склянок в кислородной модификации при экспонировании проб в люминостате, содержание хлорофилла-*a* определяли спектрофотометрическим методом ацетоновых экстрактов (SCOR–UNESCO, 1966), концентрацию сестона (по сухой массе) – гравиметрическим методом. Для сбора взвеси при определении концентрации сестона и хлорофилла-*a* использовали ядерные фильтры с размером пор 1,0 мкм. Величины хлорофилла-*a* в работе приведены без учета феопигментов, содержание которых в общем форбине редко превышало 10–15 %. Определение скорости фотосинтеза в стандартных условиях люминостата позволяет выявить различия уровня функциональных характеристик планктона на отдельных участках речного потока вне зависимости от неравномерности погодных и прочих условий, возможных при измерениях *in situ*.

Биологические процессы самоочищения, пусковым механизмом которых в водных экосистемах служит функционирование автотрофной компоненты биоты, динамичны и имеют выраженный сезонный цикл с зимним минимумом, нарастанием интенсивности с началом биологической весны, весенним, чаще позднелетним максимумами.

На исследуемом отрезке р. Свислочь весенний максимум содержания хлорофилла-*a* в оба года исследований наблюдался лишь на первом створе. В начале мая 2006 г. содержание хлорофилла-*a* составило 75,2 мкг/л. К началу июня оно снизилось до 49,6 мкг/л и оставалось далее на протяжении сезона, вплоть до октября, на сходном уровне (43,5–57,8 мкг/л). В связи с необычайно теплой зимой 2007 г., уровень хлорофилла на данном створе уже в апреле приблизился к 50 мкг/л, но более чем на порядок (до 3,7 мкг/л) снизился в июне. Максимальное содержание хлорофилла-*a* – 87,9 мкг/л наблюдалось в конце лета (первая декада сентября). Столь выраженного весеннего максимума количественного развития фитопланктона на последующих створах не наблюдали. Максимальные величины хлорофилла-*a* в оба года были отмечены в июле–сентябре, находясь в пределах 36,4 мкг/л (створ 2) и 102,6 мкг/л (створ 6) в 2006 г. и 44,2 мкг/л (створ 2) и 22,5 мкг/л (створ 4) – в 2007 г.

Сезонная динамика относительного содержания хлорофилла-*a* в сухой массе сестона менее закономерна. На первом створе в вегетационном сезоне двух лет доля автотрофной компоненты планктона, а, следовательно, и ее роль в формировании массы сестона, значительна. Диапазон величин, за исключением июня 2007 г. (0,10 %), составил 0,30 % – 0,64 %, что характерно для высокоэвтрофных вод с наличием вторичного загрязнения. На всех последующих створах относительное содержание хлорофилла-*a* было гораздо ниже, особенно в 2007 г., на речных участках (0,04 – 0,12 %).

Характер динамики потенциального фотосинтеза на отрезке реки достаточно сходен с динамикой содержания хлорофилла-*a* – главного фотосинтетического пигмента. В таблице 2 приведены минимальные и максимальные значения показателя, сроки их наступления на каждом отдельном створе в оба года наблюдений. Как следует из приведенных данных, диапазон сезонных изменений скорости фотосинтеза на всем отрезке реки достаточно широк. По величине максимальных значений данного показателя, как и по уровню содержания хлорофилла-*a*, отчетливо проявился эффект снижения трофности воды с улучшением ее качества в 2007 г., в сравнении с предыдущим годом, особенно на речных створах ниже Комсомольского озера.

Хлорофилл-*a* и свет являются необходимыми условиями фотосинтеза, однако на его интенсивность (соотношение скорости фотосинтеза и содержания хлорофилла-*a*) влияют прочие условия (температура, физиологическое состояние водорослей и др.). Определяя скорость фотосинтеза при равных световых и температурных условиях, можно оценить влияние на фотосинтетическую активность планктона прочих факторов, возникающих при прохождении речного потока по территории города. Фотосинтетическая активность планктона (ассимиляционное число) в работе приведена в количестве ассимилированного углерода, в расчете на единицу хлорофилла за сутки (САЧ, мг С/мг хл.·сут).

Таблица 2. Размах колебаний потенциального фотосинтеза (А, мг О₂ · л сут) и деструкции (R, мг О₂ · л·сут) планктона на исследованных створах р. Свислочь в вегетационных сезонах 2006–2007 гг.

Створы	Год	А		Сроки (месяц)		R		Сроки (месяц)	
		min	max	min	max	min	max	min	max
1	2006	2.07	8.80	V	VIII, IX	0.15	1.80	X	V
	2007	0.67	11.18	VI	IX	0.50	1.30	VII	IX
2	2006	0.70	7.70	V	IX	0.80	1.20	*	VIII
	2007	0.30	6.30	V	VIII	0.17	1.04	V	VII
3	2006	1.16	7.87	VI	IX	0.83	1.14	*	VII
	2007	0.22	7.40	V	VIII	0.35	1.08	V	IX
4	2006	1.12	9.03	VI	VIII	0.45	1.77	X	VII
	2007	0.32	4.87	V	VIII	0.33	1.08	VII	IX
5	2006	0.91	10.64	VI	VIII	0.88	2.04	IX	VII
	2007	0.39	4.57	V	VIII	0.41	1.13	VII	VI
6	2006	0.84	10.72	VI	VIII	0.44	2.47	X	VII
	2007	1.25	4.84	VI	VIII	0.39	1.68	X	VII
7	2006	0.46	4.50	VI	VIII, IX	1.44	8.48	VI	VIII
	2007	0.42	3.76	VI	VIII, IX	0.62	2.64	X	VII

Примечание: * Минимум не выражен, деструкция на протяжении сезона, за исключением августа, держится на одном уровне.

Строгой закономерности сезонной динамики САЧ на всем отрезке реки не наблюдалось. Основной массив данных, за исключением створа № 7, был в пределах, обычно встречаемых в литературе (от 20 до 60 мг С/мг хл.·сут). В створе № 7 в июне обоих лет величины САЧ оказались необычайно низкими (9,6–11,2 мг С/мг хл.·сут), причиной чему могло быть качество поступающего в это время года стока с очистных сооружений. Межгодовые различия среднесезонных значений САЧ на каждом отдельном створе практически не выражены. Некоторое их снижение наблюдалось вниз по течению реки (рис. 1).

В отличие от характеристик фитопланктона (содержания хлорофилла-а, потенциального фотосинтеза) размах сезонных изменений скорости деструкции органического вещества планктона сравнительно невелик и незакономерен. Для всего отрезка реки, за исключением загрязняемого створа № 7, в оба года они уложились в одни и те же пределы 0,33–2,04 мг О₂/л·сут, в 2006 г. и 0,32–2,06 мг О₂/л·сут в 2007 г.

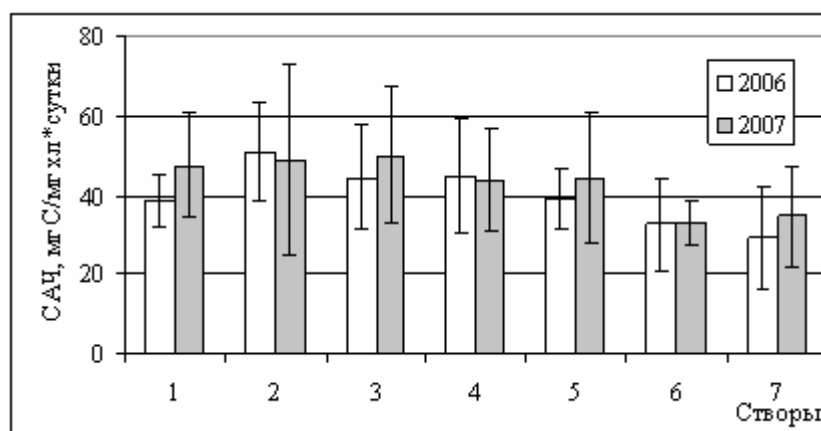


Рис 1. Среднесезонные величины САЧ планктона на исследованных створах р. Свислочь в два последовательных года наблюдений (с мая по октябрь)

Крайне высокие значения суточной скорости деструкции в оба года были характерны для створа № 7 – 3,80±2,58 мг О₂/л в 2006 г. и 2,04 мг О₂/л в 2007 г. Сезонная динамика показателя БПК₅ имела сходный характер.

Таблица 3. Снижение (%) среднесезонных значений отдельных характеристик планктона на отрезке р. Свислочь в 2007 г. относительно 2006 г.

№№ створов	Год	Chl, мкг/л		Сестон, мг/л		Chl, % в сестоне	
		среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD
1	2006	50.8	19.2	10.9	3.5	0.46	0.12
	2007	38.9	30.1	8.1	4.2	0.42	0.18
	% к 2006	76.5		74.0		90.9	
2	2006	18.4	11.1	14.7	8.1	0.13	0.03
	2007	13.5	15.2	10.8	11.4	0.14	0.05
	% к 2006	73.0		73.6		103.9	
3	2006	29.5	18.7	14.5	9.7	0.22	0.1
	2007	14.9	14.2	11.3	7.2	0.12	0.0
	% к 2006	50.4		77.8		56.8	31.5
4	2006	32.4	21.7	19.9	12.4	0.17	0.0
	2007	10.1	8.8	11.6	7.2	0.08	0.0
	% к 2006	33.2	14.5	58.1		54.2	26.2
5	2006	42.1	33.6	21.9	8.5	0.16	0.1
	2007	9.5	7.4	10.8	6.4	0.09	0.0
	% к 2006	32.9	21.4	49.2		60.99	25.9
6	2006	45.5	31.0	20.5	11.9	0.23	0.1
	2007	26.8	13.7	12.5	6.1	0.22	0.1
	% к 2006	66.7	38.1	61.1		104.05	49.0
1	2006	6.5	2.5	1.11	0.58	3.63	1.62
	2007	5.4	3.6	0.9	0.5	2.74	1.02
	% к 2006	82.5		84.0		75.4	
2	2006	3.4	2.6	0.91	0.13	2.66	0.21
	2007	2.2	2.2	0.54	0.31	2.19	0.93
	% к 2006	63.3		59.7		82.2	
3	2006	4.1	2.6	0.99	0.12	2.84	0.56
	2007	2.6	2.5	0.68	0.26	2.01	0.35
	% к 2006	63.0		69.1		72.0	
4	2006	5.1	3.8	1.18	0.48	3.38	0.84
	2007	1.7	1.8	0.78	0.26	2.26	0.47
	% к 2006	34.3	19.9	66.30		66.7	
5	2006	5.4	4.3	1.24	0.5	3.71	0.62
	2007	1.7	1.7	0.98	0.59	2.86	1.44
	% к 2006	40.7	40.1	79.5		77.2	
6	2006	5.1	3.5	1.25	0.81	3.42	1.42
	2007	3.0	1.7	0.92	0.52	4.02	2.93
	% к 2006	79.4	53.7	73.6		117.6	
7	2006	3.1	1.6	3.8	2.6	15.0	4.8
	2007	2.6	1.7	2.0	1.2	15.1	10.5
	% к 2006	87.3	50.1	53.6		100.4	

Межгодовые различия уровня показателей в речной экосистеме в значительной мере обусловлены межгодовыми различиями климатических и прочих факторов. Приняв, что различия этих факторов в 2006 и 2007 гг. одинаково влияют на изучаемые характеристики планктона на всем отрезке реки, мы имеем возможность по степени направленных изменений уровня параметров на

створах до (створы 1 и 2) и в зоне проведенных восстановительных мероприятий (створы 3, 4, 5) оценить эффективность последних. Сравнительные результаты оценки относительного уровня направленных изменений рассмотренных выше продукционно-деструкционных характеристик планктона (табл. 3) указывают на положительный эффект проведенных мероприятий. На первых двух створах снижение уровня исследуемых характеристик планктона, обусловленное только различиями лет, в 2007 г., заметно меньше, чем на створах в зоне восстановительных работ.

Сравнивая полученные результаты с приведенными данными в работе А.П. Остапени и др. (1999) можно оценить характер изменений состояния реки за более чем десятилетний период. Очевидно, что изменения разительны! Трофический статус реки резко снизился с высокоэвтрофного до эвтрофного уровня на всем протяжении исследуемого отрезка. Ужесточение охранных мер на водосборе, упорядочение береговых территорий и др. благотворно сказались на состоянии реки, прежде всего, через изменение функционирования автотрофных гидробионтов, обеспечивающих фотосинтетическую аэрацию и являющихся важнейшим агентом биологических процессов формирования качества воды в целом.

Список литературы

Остапеня А.П., Ковалевская Р. З., Макаревич Т.А., Михеева Т.М., Дубко Н.В., Никитина Л.В. Процессы биологического самоочищения реки Свислочь // Вестн. БГУ. Сер. 2. 1999, № 2. С. 37–42.
SCOR–UNESCO determination of photosynthetic pigments in sea-water / Paris, 1966. 12 p.

ЗООПЛАНКТОН РЕКИ ИНГУЛЕЦ (КРИВБАСС) В УСЛОВИЯХ МНОГОФАКТОРНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

О.В. Пашкова

Институт гидробиологии НАН Украины

г. Киев, проспект Героев Сталинграда, 12, Украина, hydrobiol@igb.ibc.com.ua

Река Ингулец является самым большим правобережным притоком нижнего течения Днепра, длина которого составляет 550 км, а ширина – 1.0–3.5 км. В своей средней части она протекает по территории Криворожского железорудного бассейна, где находятся многочисленные добывающие и перерабатывающие промышленные предприятия. Русло реки извилистое, глубины и скорости течения небольшие (0.5–5.0 м и 0–0.5 м/сек). Естественная минерализация и жесткость воды достаточно велики и составляют около 1–2 г/дм³ и 10 мг-экв/дм³ (Багрий, Блінов, Белокопитова та ін., 2002). Большие площади заняты зарослями разнообразной высшей водной растительности – тростника обыкновенного, рогоза узколистного, манника большого, рдестов пронзеннолистного, гребенчатого и курчавого, роголистника темно-зеленого, кубышки желтой (Поліщук, Травянка, Коненко, Гарасевич, 1978).

Основным фактором антропогенной нагрузки на гидрозкосистему Ингульца являются сбросы шахтных и карьерных вод, к которым присоединяются неочищенные промышленные и хозяйственно-бытовые стоки, несущие токсические вещества, и содержащие избыток органических веществ смывы терригенного материала и удобрений с прилегающих к реке сельскохозяйственных угодий.

По химическому составу шахтные воды являются преимущественно хлоридно-сульфат-ными натриево-магниевыми или гидрокарбонатно-сульфатными натриево-кальциевыми. Их минерализация очень велика и составляет в среднем 10–15 г/дм³, достигая иногда 30–50 г/дм³. Значительна и жесткость этих вод – 50–80 мг-экв/дм³. Кроме того, они вследствие большого техногенного влияния на исследуемую территорию загрязнены целым рядом опасных токсикантов (в первую очередь, таких как фосфор, хром, марганец, цинк, свинец, фенолы, нефтепродукты, пестициды) (Адаменко, Антонов, Аксьом та ін., 2001). Шахтные воды и промышленные отходы в течение года поступают в пруды-накопители и хвостохранилища горно-обогатительных комбинатов, из которых в межвегетационный период (зимой) в Ингулец и его притоки производятся регламентные сбросы, годовой объем которых составляет около 20 млн. м³. Вместе с тем, в последнее время разрабатываются и начинают приниматься меры для уменьшения минерализации воды в реке (до 3–4 г/дм³), такие как разбавление сбрасываемых вод очищенными хозяйственно-бытовыми стоками, промывка русла днепровскими водами через систему каналов, перекачивание фильтрационных вод дренажными насосными станциями назад в хвостохранилища (Антонов, 2000, Багрий та ін., 2002).

Целью настоящей работы было исследование состава и развития зоопланктона среднего и нижнего течения Ингульца в период промышленных сбросов и в стабилизационный период между

ними для оценки степени антропогенного влияния на это сообщество и гидроекосистему в целом. Были использованы собственные материалы по зоопланктону за 1999–2000 гг. (зимние периоды сбросов) и 2001 г. (весенний стабилизационный период) и литературные данные (в том числе и гидрохимические) (Багрий та ін., 2002, Поліщук та ін., 1978). Пробы отбирались, фиксировались и обрабатывались по общеизвестным гидробиологическим методикам (Руководство..., 1983).

Таблица 1. Химический состав воды в р. Ингулец на разных станциях в разные периоды (мг/дм³) в 90-е годы (расчет сделан по данным (Багрий та ін., 2002))

Показатели	Период сбросов			Стабилизационный период		
	выше сбросов	в районе сбросов	ниже сбросов	выше сбросов	в районе сбросов	ниже сбросов
Сумма ионов	1238	5364	2208	1240	2639	1414
Кальций	110.2	231.5	170.4	67.9	167.2	89.3
Аммонийный азот	0.6	1.9	0.8	0.3	1.0	1.0
Нитраты	0.32	3.40	2.0	0.02	0.06	0.03
Нитриты	0.93	0.84	0.56	< 0.01	2.0	0.02

Согласно публикациям, многие гидрохимические характеристики реки зимой в период сбросов значительно меняются по сравнению с летним стабилизационным периодом, особенно на станциях, расположенных в районе сбросов и ниже их по течению. Так, в 90-е годы прошлого века общая минерализация воды в среднем по реке в период сбросов возрастала в 1.5 раза (с 1764 до 2937 мг/дм³), а в районе сбросов и ниже их по сравнению с вышерасположенной станцией – соответственно в 4.5 и 2 раза (табл. 1) (Багрий та ін., 2002). В среднем в 1.5 раза увеличивалась в это время и основная составляющая жесткости воды – концентрация ионов кальция (с 108.1 до 170.7 мг/дм³). Также возрастало и количество биогенов. Так, суммарное содержание минеральных соединений азота в среднем по реке при сбросах было больше, чем при стабилизации, в 2.5 раза (3.8 против 1.5 мг/дм³). Особенно резко увеличивалось количество нитратов – в среднем более, чем в 50 раз, а собственно в районе сбросов – в 10 раз по сравнению со станцией выше них. Кроме того, почти на порядок больше становилась и концентрация нитритов. Все это может свидетельствовать о загрязнении воды органическими веществами антропогенного происхождения, ибо в природных условиях превышение зимнего количества легкоусвояемой органики над летним имеет меньший масштаб. Еще более контрастной была эта картина в 70-е годы, когда промышленные предприятия Кривбасса работали на полную производственную мощность. Так, минерализация в среднем по реке в период сбросов возрастала в 3.5 раза (с 1302 до 4396 мг/дм³), а суммарное содержание аммонийного азота, нитратов и нитритов – в 3 раза (с 1.3 до 3.7 мг/дм³) (Поліщук та ін., 1978).

В период наших наблюдений зоопланктон Ингульца в целом отличался большим таксономическим богатством (учитывая сезонный аспект – пробы отбирались зимой и весной) – в его составе было обнаружено 27 видов коловраток (Rotatoria), 11 видов ветвистоусых (Cladocera) и 11 видов веслоногих (Copepoda) ракообразных, а также ракушковые ракообразные (Ostracoda), тардиграды (Tardigrada) и личинки некоторых двусторчатых моллюсков – всего 53 вида (вместе с таксонами надвидовых рангов) водных животных. Как видим, ведущую роль по количеству видов в сообществе играли коловратки, составляющие 55%, хотя ветвистоусых и веслоногих также было немало (табл. 2).

Таблица 2. Спектры биоразнообразия зоопланктона р. Ингулец, %

Виды	Таксономические спектры			Экологические спектры			Трофические спектры		
	Rotatoria	Cladocera	Copepoda	пелагические виды	прибрежные виды	придонные виды	мирные виды	всеядные виды	хищные виды
Общий состав	55	23	22	60	25	15	76	12	12
Доминанты	55	25	20	82	13	5	82	0	18

Это зоопланктонное сообщество характеризовалось также экологическим и трофическим разнообразием. Кроме пелагических организмов, занимающих первое место (60% количества видов), в него входили представители и других экологических группировок – прибрежно-зарослевой и придонно-зарослевой, что типично для малых рек с небольшими глубинами и наличием обширных

зарослей всевозможных растений: воздушно-водных, погруженных, с плавающими листьями. Среди прибрежных форм можно назвать *Lecane flexilis* (Gosse), *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, *Trichotria pocillum* (Müller), *Chydorus sphaericus* (O. F. Müller), *Ch. latus* Sars, *Pleuroxus aduncus* (Jurine), *Simocephalus vetulus* (O. F. Müller), а среди придонных – *Ilyocryptus sordidus* Lievin, *Alona rectangula* Sars, *Eucyclops serrulatus* (Fisch.). В трофическом спектре наибольшее значение имели мирные консументы, составляя 76% видов.

Следует также отметить, что среди зоопланктонов было отмечено несколько солоноватоводных видов: ветвистоусые *Chydorus latus* Sars и *Evadne trigona* Sars и веслоногая *Eurytemora affinis* (Pope). Первый и последний из них представляют собой исконных обитателей реки Ингулец, что же касается *E. trigona*, являющейся к тому же представителем понто-каспийского фаунистического комплекса, то нами она была выявлена здесь впервые (судя по имеющимся литературным данным), но не на русловом участке, а в небольшом, расположенном в среднем течении реки, выше сбросов, Карачуновском водохранилище. Это еще один интересный факт распространения „каспийца” за пределы своего естественного ареала (одним из центров которого являются, как известно, находящиеся неподалеку низовье Днепра и Днепроовско-Бугский лиман). По нашему мнению, решающим внешним фактором, позволяющим понто-каспийским зоопланктонным осваивать новые водные объекты, является замедленное или отсутствующее течение, что подтверждается тем, что *E. trigona* была встречена только в водохранилище.

Ответ на вопрос, как плохо плавающее маленькое планктонное животное смогло преодолеть большой отрезок реки от низовьев до среднего течения, может быть таким. Известно, что одним из способов естественного расселения гидробионтов является перенесение их стойких стадий (таких как цисты, покоящиеся яйца, впавшие в анабиоз взрослые особи и др.), которые могут сохраняться в таком состоянии месяцы и годы, ветром вместе с пылью или высохшим грунтом, на покровах водоплавающих птиц и животных или другими путями. Так они могут преодолевать огромные расстояния и попадать в различные водоемы. На наш взгляд, именно таким путем *E. trigona* проникла в водохранилище.

В некоторых пробах зоопланктона также была зарегистрирована (хотя и не учтена при количественных расчетах) *Limnomysis benedeni* Czerniavsky из еще одной группы ракообразных – мизид (Mysidacea). Это бентопланктонные (бентонектонные) формы, периодически попадающие в толщу воды в процессе сезонных горизонтальных и суточных вертикальных миграций. *L. benedeni* – понто-каспийское беспозвоночное, вселенное непосредственно в Карачуновское водохранилище на Ингульце во время широкомасштабных интродукционных работ, проводимых в середине прошлого столетия на многих водоемах для обогащения кормовой базы рыб и увеличения рыбопродуктивности, и прекрасно прижившееся здесь благодаря своей высокой жизнеспособности и подходящим условиям существования, в первую очередь, олигогалинности вод, небольшим глубинам, наличию зарослей. Так, в зимний период ее плотность в водохранилище составляла 0.2 тыс. экз/м³.

Таблица 3. Количественное развитие зоопланктона в разные периоды разных лет (над чертой – численность, тыс. экз/м³, под чертой – биомасса, г/м³)

Таксоны	Период сбросов			Стабилизационный период	
	зима 1974 г.*	зима 1999 г.	зима 2000 г.	лето 1973 г.*	весна 2001 г.
Rotatoria	<u>1.3</u> 0.002	<u>35.2</u> 0.024	<u>23.1</u> 0.032	<u>287.1</u> 0.389	<u>966.2</u> 4.576
Cladocera	<u>< 0.1</u> < 0.001	<u>0.1</u> 0.001	<u>0.7</u> 0.011	<u>23.7</u> 1.003	<u>6.9</u> 0.069
Copepoda	<u>0.1</u> 0.001	1.3 0.013	<u>1.6</u> 0.013	<u>131.0</u> 0.628	<u>43.6</u> 0.644
Другие	–	<u>0.2</u> 0.003	<u>0.2</u> 0.008	–	<u>8.4</u> 0.090
Вместе	<u>1.4</u> 0.003	<u>36.8</u> 0.041	<u>25.6</u> 0.064	<u>441.8</u> 2.020	<u>1025.1</u> 5.379

Примечание. * – расчет сделан по данным (Поліщук та ін., 1978).

Доминирующий комплекс видов (имеющих наибольшую биомассу и частоту встречаемости не менее 50% по всей акватории) в описываемый период был образован *Synchaeta* sp., *Polyarthra vulgaris* Carlin, *Brachionus leydigii* Cohn, *B. nilsoni* Ahlstrom, *B. calyciflorus* Pallas, *B. angularis* Gosse, *Keratella cochlearis* (Gosse), *K. quadrata* (Müller), *Notholca squamula* (Müller), *Ch. sphaericus*, *P. aduncus*, *A. rectangula*, *Bosmina longirostris* (O. F. Müller), *Cyclops strenuus* Fisch., *Acanthocyclops americanus* (Marsh), *Thermocyclops crassus* (Fisch.). Таксономический спектр этого комплекса был точно таким

же, как и сообщества в целом, а экологический и трофический имели более „речной” характер – решающая роль в них хотя и принадлежала тем же группам гидробионтов (соответственно пелагическим и мирным видам), но их отрыв от остальных был гораздо большим (по 82%).

Большое качественное богатство зоопланктона Ингульца сопровождалось существенным количественным обилием – его общая численность и биомасса составляли зимой 25.6–36.8 тыс. экз/м³ и 0.041–0.064 г/м³, а весной – 1025.1 тыс. экз/м³ и 5.379 г/м³ (табл. 3). Такой уровень количественного развития является очень высоким для зимне-весеннего речного зоопланктона, что можно объяснить наличием здесь благоприятных для него условий существования и, очевидно, отсутствием особо негативного антропогенного влияния. Среди основных систематических групп на протяжении обоих сезонов и по численности, и по биомассе господствовали Rotatoria, составляя зимой соответственно 90–96 и 50–59%, а весной – 94 и 85%. Такая структура типична для речных ротаторных зоопланктонных сообществ.

В 70-е годы количественные характеристики зоопланктона Ингульца были несколько меньшими, хотя все равно достаточно большими для ценозов реки, составляя зимой 1.4 тыс. экз/м³ и 0.003 г/м³ и 441.8 тыс. экз/м³ и 2.020 г/м³ – летом (Полішук та ін., 1978). Зимой доминировали коловратки, составляя 93% численности и 67% биомассы, а летом – коловратки по численности (65%) и ветвистоусые ракообразные по биомассе (50%).

При сравнении зоопланктонных сообществ на разных станциях реки было установлено следующее. Зимой 1999 г. в период сбросов на станции в районе сбросов общее количество видов составляло 25, а первой, определяющей парой доминантов (эдификаторов) были *B. calyciflorus* и *K. quadrata*. Ниже сбросов и количество видов, и виды-эдификаторы остались те же. Общие же численность и биомасса сообщества на второй станции по сравнению с первой уменьшились в 2.5 раза (с 68.4 до 25.1 тыс. экз/м³ и с 0.064 до 0.024 г/м³), что для зоопланктона не принципиально (рис.). Структурная организация почти не изменилась – везде среди основных таксонов по биомассе преобладали представители Rotatoria, составляя соответственно 77 и 59%.

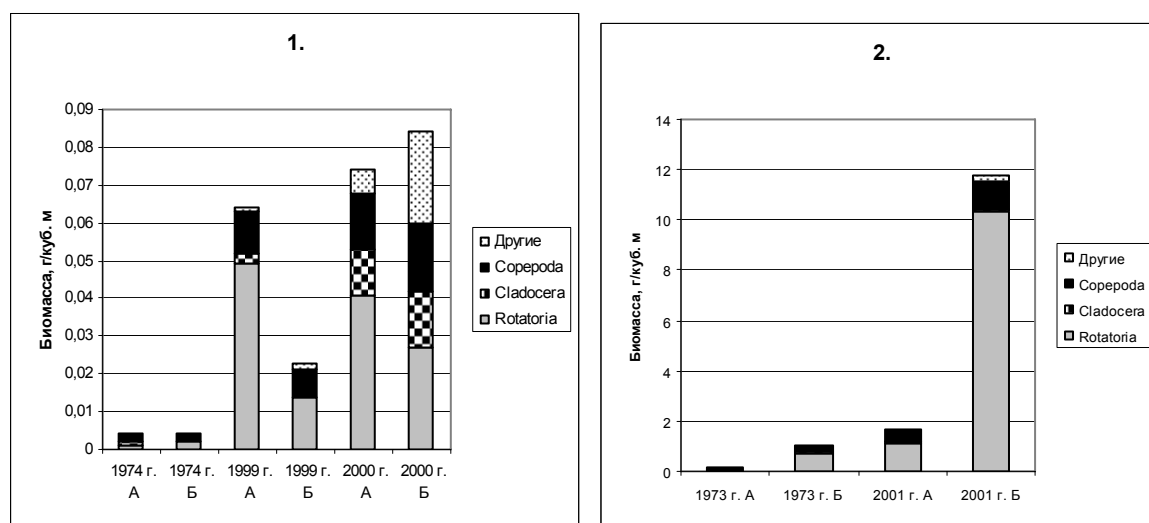


Рисунок. Биомасса зоопланктона р. Ингулец на разных станциях в разные периоды (1. – период сбросов, 2. – стабилизационный период; А – станция в районе сбросов и Б – ниже сбросов).

Зимой 2000 г. (время сбросов) в районе сбросов в состав зоопланктона входило 34 вида, среди которых доминантами первого порядка были прошлогодний *B. calyciflorus* и *A. rectangula*. Ниже сбросов общее количество видов уменьшилось до 28, но доминирующий комплекс возглавляли те же виды. Количественные характеристики абсолютно не изменились – разница составила менее 1.5 раз (было 31.4 тыс. экз/м³ и 0.073 г/м³, стало 25.5 тыс. экз/м³ и 0.084 г/м³). На обеих станциях основную часть сообщества по биомассе, как и в прошлом году, составляли коловратки (соответственно 55 и 32%).

Весной 2001 г. в стабилизационный период в районе сбросов было выявлено 28 видов, а первыми среди доминантов и субдоминантов были *B. calyciflorus* и *A. americanus*. Ниже сбросов количество видов осталось почти таким же (27), а в первой паре доминантов *A. americanus* заменила *K. quadrata*. Количественные же параметры зоопланктона увеличились почти на порядок – с 224.0 до 2332.8 тыс. экз/м³ и с 1.669 до 11.734 г/м³, то есть разница в развитии сообществ на разных станциях была намного большей при отсутствии сбросов, чем при них (хотя везде лидировали представители Rotatoria, составляя соответственно 67 и 88% биомассы). Это свидетельствует о том, что состояние зоопланктона в каждый из сезонов года определяется в первую очередь типом местообитания,

которых вдоль реки очень много: плесы, перекаты, разнообразные заросли, незаросшие участки и др., а влияние собственно сбросов по сути отсутствует. Так же вели себя зоопланктонные ценозы на разных станциях Ингульца в периоды сбросов и стабилизации и в 70-е годы (Поліщук та ін., 1978).

Таким образом, регулярные сбросы минерализованных шахтных вод и промышленных отходов оказывают значительное влияние на условия существования растительного и животного населения реки Ингулец, периодически изменяя водную среду на больших акваториях с пресной на солоноватую и наоборот. Вместе с тем, благодаря самоочистительным свойствам самой реки, мерам, принимаемым для уменьшения антропогенной нагрузки на нее, а также в силу высоких адаптационных и восстановительных способностей зоопланктона, это сообщество, судя по его качественному богатству и количественному обилию, пребывает в достаточно удовлетворительном экологическом состоянии и не претерпевает ощутимых изменений под влиянием загрязнений, что свидетельствует и об определенном благополучии гидроэкосистемы в целом.

Список литературы

- Адаменко І.І., Антонов О.М., Аксьом С.Д. та ін. Гідрогеоекологічні дослідження як основа захисту водних ресурсів Кривбасу // Геологія в ХХІ столітті: Шляхи розвитку та перспективи. Зб. – Київ: Знання, 2001. – С. 26–36.
- Антонов А.Н. Возможность сброса минерализованных вод предприятий горно-металлургического комплекса Кривбасса в рр. Ингулец и Саксагань // Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія. Період. наук. зб. – Київ: Ніка-Центр, 2000. – Т. 1. – С. 64–67.
- Багрий І.Д., Білов П.В., Белокопитова Н.А. та ін. Геоєкологічні проблеми Криворізького басейну в умовах реструктуризації гірничодобувної галузі. – Київ: Фенікс, 2002. – 192 с.
- Поліщук В.В., Травянюк В.С., Коненко Г.Д., Гарасевич І.Г. Гідробіологія і гідрохімія річок Правобережного Придніпров'я. – Київ: Наук. думка, 1978. – 272 с.
- Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА В УСЛОВИЯХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ (НА ПРИМЕРЕ ОЗЕР ЧУВАШСКОЙ РЕСПУБЛИКИ)

В.Н. Подшивалина

*Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева
г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 38, Чувашская Республика, Россия, vrodsh@newmail.ru*

Антропогенная деятельность на водосборах озер, связанная с сельскохозяйственной отраслью, приводит, как правило, к увеличению поступления органических и биогенных веществ в водоем. Это способствует изменению биоты и трансформации водного объекта в целом. Данная проблема актуальна и для Чувашской Республики, являющейся одним из регионов с высокой плотностью населения. Ряд специалистов (Салахутдинов, 2000) отмечает, что без искусственного поддержания кислородного режима и проведения мелиоративных работ озера Чувашской Республики совершенно не пригодны и для рыбозаведения. В связи с этим, необходим мониторинг состояния водоемов данного региона, находящихся под наиболее интенсивным антропогенным прессом. Как было подчеркнуто ранее (Андроникова, 1996; Крылов, 2005), показатели структуры зоопланктона весьма информативны для оценки экологического состояния водных объектов разного типа.

Изучение структуры зоопланктона при различных видах воздействия на водоем в результате сельскохозяйственной деятельности производилось на примере озер Тени и Кюльхири, расположенных соответственно в Аликовском и Вурнарском районах Предволжской части Чувашской Республики. Выбор данных озер как модельных объектов для изучения последствий антропогенных воздействий обусловлен их расположением в густо населенной местности и, как следствие, активным использованием, приведшим к значительным преобразованиям во внешнем облике. Последнее противоречит статусу особо охраняемых объектов – памятников природы.

Анализ структуры сообщества зоопланктона данных объектов выполнен на основе сборов 2005-2008 гг. На каждом из объектов пробы отбирались из различных участков, подверженных воздействиям разнообразного характера.

Оба водоема имеют карстовое происхождение.

Озеро Тени относится к 5 наиболее крупным озерам Чувашии. Площадь его составляет 8.9 га, максимальная глубина достигает 8.8 м. Ширина озера - около 240 м, длина – 480 м, объем – 422.7 тыс. м³. (Особо охраняемые природные территории..., 2004). Растительность по берегам изреженная. Озеро

окружено возделываемыми полями, на северо-востоке находится животноводческая ферма. Вдоль побережья отмечен выпас крупного рогатого скота, принадлежащего сельскохозяйственному предприятию, а также местному населению.

Сборы производились на восьми станциях. Сельскохозяйственное воздействие на озеро и его фауну рассматривалось на примере следующих станций. Станции 1 и 2 располагаются в месте, где происходит вынос минеральных и органических веществ с полей и огородов поверхностно-склоновыми водами. Ст. 5 – место водопоя крупного рогатого скота, ст. 5' – зона отдыха и купания местных жителей, ст. 6 – акватория интенсивного в предыдущие годы и прекратившегося в настоящий момент поступления стоков животноводческой фермы, ст. 3 – фоновая.

Таблица 1. Значения численности и биомассы зоопланктона отдельных участков оз. Тени

Год	Станция	Численность, тыс. экз. /м ³	Биомасса, г/м ³
2005	1	267.20	3.23
	2	264.00	0.78
	3	150.00	0.52
	5	84.60	0.13
	6	66.60	0.28
2007	1	9.60	0.03
	3	133.20	0.26
	5	9.60	0.02
	5'	30.80	0.11

Таблица 2. Значения численности и биомассы зоопланктона отдельных участков оз. Кюльхири

Год	Станция	Численность, тыс. экз. /м ³	Биомасса, г/м ³
2005	12	74.40	0.09
	14	12.70	0.03
	8	48.00	0.08
2008	12	38.40	0.01
	14	6.90	0.02
	8	35.84	0.03

Таблица 3. Средние значения численности и биомассы зоопланктона

Объект	Год	Численность, тыс. экз. /м ³	Биомасса, г/м ³
Тени	2005	166.48	0.99
	2007	45.80	0.10
Кюльхири	2005	77.20	0.15
	2007	19.20	0.05
	2008	27.99	0.03

Озеро Кюльхири, имея объем 711.8 тыс. м³, является самым крупным в Чувашской Республике по запасам воды. Его ширина составляет 630 м, длина – 310 м, максимальная глубина около 12 м (Озера..., 1976). Несмотря на столь значительные размеры, в зимний период в водоеме отмечается недостаток кислорода в воде (Салахутдинов, 1996). Отбор проб осуществлялся на семи станциях. Однако антропогенное воздействие анализировалось на примере станций 12 (фоновая), 14 и 8 (зона смыва поверхностно-склоновыми водами минеральных и органических веществ с огородов). В районе ст. 8 располагается местная свалка.

Анализ показателей количественного развития зоопланктона оз. Тени позволяет предположить стимулирующее влияние на сообщество пассивного стока вещества с полей и подавляющее действие вещества, связанного с жизнедеятельностью крупного рогатого скота (табл. 1). Более заметный в 2005 г., подобный эффект был менее выражен в 2007 г. в оз. Кюльхири (табл. 2). Следует также отметить снижение численности и биомассы зоопланктона в обоих озерах к 2007-2008 гг. (табл. 3).

Таблица 4. Структурные характеристики (индексы Шеннона по биомассе (H_B) и численности (H_N), средняя индивидуальная масса зоопланктона (W), индекс сапробности зоопланктона оз. Тени

Станция	Год	H_B	H_N	W	S
1	2005	1.04	2.12	12.08	1.29
	2007	3.36	3.63	2.85	1.36
3	2005	2.43	2.93	3.45	1.56
	2007	2.28	2.30	1.97	1.42
5	2005	2.81	2.48	1.51	1.49
	2007	2.54	3.11	2.19	1.40

Таблица 5. Структурные характеристики (индексы Шеннона по биомассе (H_B) и численности (H_N), средняя индивидуальная масса зоопланктона (W), индекс сапробности зоопланктона оз. Кюльхири

Станция	Год	H_B	H_N	W	S
12	2005	2.74	2.96	1.26	1.58
	2008	1.78	1.25	0.38	1.54
14	2005	3.35	3.28	2.30	1.45
	2008	2.21	3.23	2.93	1.65
8	2005	3.52	2.88	1.77	1.48
	2008	2.43	2.21	0.95	1.70

Имеющиеся данные о разнообразии (оцененном с помощью индексов Шеннона, вычисленных по биомассе и по численности) и размерной структуре зоопланктоценоза оз. Тени не позволяют выявить закономерного влияния загрязнения по сравнению с фоновым участком (табл. 4). Одновременно, в оз. Кюльхири отмечено некоторое снижение разнообразия на всех станциях, а также увеличение значений индекса сапробности на загрязняемых стоками участках (табл. 5).

Роль коловраток в биомассе зоопланктона оз. Тени незначительна (табл. 6). Преобладают ветвистоусые (на фоновом участке) и веслоногие (в зонах загрязнения различного происхождения).

Таблица 6. Соотношение таксономических групп зоопланктеров (% по биомассе) отдельных участков оз. Тени

Год	Станция	Rotatoria	Copepoda	Cladocera
2005	1	0.1	88.9	10.9
	2	0.3	84.1	15.7
	3	1.2	47.7	51.1
	5	0.6	41.0	58.5
	6	0.2	90.9	9.0
2007	1	0.6	81.9	17.5
	3	0.1	32.7	67.2
	5	1.6	89.1	9.4
	5'	0.5	44.4	55.1

Биомасса зоопланктона оз. Кюльхири в большей степени представлена коловратками, чем в оз. Тени (табл. 7). Причем их участие увеличилось к 2008 г. как на фоновом участке, так и в зоне загрязнения (станция 8). В зимнем зоопланктоне подавляющую часть биомассы составляют Rotatoria, среди которых доминируют виды р. *Brachionus*. Это явление отмечалось и в более ранних исследованиях (Салахутдинов, 1996).

Таблица 7. Соотношение таксономических групп зоопланктеров (% по биомассе) отдельных участков оз. Кюльхири

Год	Станция	Rotatoria	Copepoda	Cladocera
2005	12	8.2	63.4	28.3
	14	3.0	44.4	52.6
	8	1.4	23.4	75.2
2008	12	86.4	3.8	9.8
	14	5.5	36.8	57.8
	8	33.0	30.6	36.4

В озере Тени с 2005 г. по настоящее время изменения в соотношении основных групп зоопланктона не столь заметны, как в оз. Кюльхири (табл. 8).

Таблица 8. Соотношение таксономических групп зоопланктеров (% по биомассе) исследованных озер

Объект	Год	Rotatoria	Copepoda	Cladocera
Тени	2005	0.5	70.5	29.0
	2007	0.7	62.0	37.3
Кюльхири	2005	0.8	69.0	30.2
	2007	30.0	21.7	48.3
	2008	37.6	31.8	30.6

В трофической структуре сообщества зоопланктона оз. Тени (табл. 9), согласно классификации Чуйкова Ю.С. (1981), преобладают, в зависимости от станции, добывающие пищу в толще воды первичные фильтраторы (преимущественно р. *Ceriodaphnia*), грубые фильтраторы и зоопланктеры, осуществляющие активный захват. Причем на станции, где осуществляется водопой крупного рогатого скота, выявлены наиболее заметные изменения в структуре по годам, выражающиеся в уменьшении роли первичных фильтраторов и увеличении доли хищников.

Таблица 9. Соотношение экологических групп (%) в зоопланктоне исследованных участков оз. Тени

Год	Станция	Экологическая группа, %										
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2005	1	0.1	0.0	0.0	0.1	10.1	0.9	0.6	0.0	84.5	0.0	3.9
	2	0.2	0.0	0.0	0.0	15.1	0.6	73.7	0.0	9.4	0.0	1.1
	3	1.0	0.1	0.0	0.0	49.5	1.6	29.1	0.0	8.3	0.0	10.3
	5	0.6	0.0	0.0	0.0	56.8	1.6	29.4	0.0	7.8	0.0	3.9
	6	0.1	0.0	0.0	0.0	8.0	1.0	85.2	0.0	5.7	0.0	0.0
2007	1	0.6	0.0	0.0	0.0	14.7	2.8	13.7	0.0	56.3	0.0	11.9
	3	0.1	0.0	0.0	0.0	64.9	0.6	7.8	0.0	21.2	0.0	5.4
	5	1.6	0.0	0.0	0.0	9.0	0.4	15.6	0.0	68.9	0.0	4.5
	5'	0.5	0.0	0.0	0.0	40.7	14.1	3.7	0.0	27.9	0.0	13.1

*1 – вертикаторы; 2 – вертикаторы и всасыватели; 3 – всасыватели; 4 – захват + всасывание; 5 – первичные фильтраторы; 6 – вторичные фильтраторы; 7 – фильтраторы; 8 – фильтрация + захват; 9 – активный захват; 10 – захват + высасывание; 11 – собиратели.

В зоопланктоне оз. Кюльхири на станциях 14 и 8 (табл. 10) отчетливо наблюдается от года к году тенденция к увеличению роли вторичных фильтраторов, добывающих пищу с поверхности субстрата, за счет снижения численности и разнообразия первичных фильтраторов. Вероятно, это обусловлено все большим накоплением органического вещества в водоеме.

Таблица 10. Соотношение экологических групп (%) в зоопланктоне исследованных участков оз. Кюльхири

Год	Станция	Экологическая группа, %										
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2005	12	2.3	0.0	3.6	2.3	62.4	1.1	14.2	0.0	9.4	0.0	4.7
	14	0.5	0.0	0.0	2.5	38.4	6.0	11.7	0.0	25.0	0.0	15.8
	8	0.9	0.5	0.0	0.0	17.0	6.0	17.2	0.0	24.2	0.0	34.2
2008	12	76.1	0.0	0.0	10.3	0.0	0.0	9.8	0.0	0.0	0.0	3.8
	14	4.3	0.0	0.0	1.2	5.0	31.7	11.8	0.0	46.0	0.0	0.0
	8	33.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30.6	6.5	0.0	7.5	0.0	22.3

*1 – обозначения - см. табл. 9

Таким образом, имеющееся сельскохозяйственное загрязнение озер оказывает стимулирующее действие на развитие сообщества зоопланктона в случае пассивных поступлений поллютантов с водосбора и депрессивное при интенсивном загрязнении продуктами жизнедеятельности животных. Происходящие изменения в структуре наиболее наглядно прослеживаются на примере соотношения трофических групп зоопланктонных организмов. Более динамичные изменения в структуре фауны зоопланктона в настоящее время происходят, вероятно, в оз. Кюльхири.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта № 08-04-97030-104-170 – поволжье. Российского фонда фундаментальных исследований.

Список литературы

- Андроникова И.Н. Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов. – СПб.: Наука, 1996. – 189 с.
- Крылов А.В. Зоопланктон равнинных малых рек. – М.: Наука, 2005. – 263 с.
- Озера Среднего Поволжья. – Л.: Наука, 1976. – 236 с.
- Особо охраняемые природные территории и объекты Чувашской Республики. Материалы к единому пакету кадастровых сведений. - Чебоксары, 2004. - 444 с.
- Салахутдинов А.Н. Зимний зоопланктон оз. Кюльхири // Экологический вестник Чувашии. Вып. 15. – Чебоксары, 1996. – С. 67-68.
- Салахутдинов А.Н. Экологическое состояние озер Чувашской Республики // Научные труды государственного природного заповедника «Присурский». Т. 3. - Чебоксары-Атрат, 2000. – С. 61-62.
- Чуйков Ю.С. Методы экологического анализа состава и структуры сообществ водных животных. Экологическая классификация беспозвоночных, встречающихся в планктоне пресных вод // Экология. - 1981. - № 3. - С. 71-77.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ЗООПЛАНКТОНА В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИДРОСТРОИТЕЛЬСТВА В НЕВСКОЙ ГУБЕ (САНКТ-ПЕТЕРБУРГ)

Н.В. Родионова¹, В.Е. Панов²

¹Институтт озероведения РАН

196105, Санкт-Петербург, ул.Севостьянова, д.9, Россия, ostrov.89@mail.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет

199178, Санкт-Петербург, 10-я линия, д. 33/35; Россия, vpanov@mail.ru

В последнее время на акватории Финского залива проводятся разномасштабные гидротехнические работы, включающие строительство портовых сооружений, дноуглубление фарватеров, дампинг грунта и прочие. В результате меняются физических и химических характеристик водной среды, влияющие на экосистемные взаимосвязи. Главным фактором, действующим на зоопланктон при проведении подобного рода работ, является повышенная мутность воды, степень воздействия которого на сообщество планктонных организмов, как и любого другого фактора, зависит от его интенсивности и продолжительности (Сулопарова и др., 2006). Цель данной публикации – проанализировать воздействие мутности воды на структурно-функциональные характеристики зоопланктона.

Материалом для настоящей статьи послужили пробы зоопланктона, собранные в 2005-2007 гг. в течение всего вегетационного сезона каждые две недели. Отбор проб проводился на постоянной станции 21, расположенной в 6 км от г. Зеленогорска (восточная часть Финского залива). Тотальный лов зоопланктона осуществляли средней количественной сетью. Пробы обрабатывали по общепринятой методике (Методические рекомендации..., 1984). Индивидуальные массы организмов вычисляли по формулам зависимости между массой тела и его длиной (Балушкина, Винберг, 1979).

В июне-октябре 2005-2007 гг. в зоопланктоне отмечено 76 видов: коловраток – 35, кладоцер – 22, калянид – 8 и циклопид – 10. На протяжении всего периода исследований в зоопланктоне присутствовали все основные группы, состав которых практически не менялся. Фон зоопланктона создавали 13 видов, которые постоянно встречались в планктоне и в том или ином сочетании формировали комплекс доминирующих видов. К ним относятся: *Asplanchna priodonta*, *Conochilus unicornis*, *Keratella quadrata frenzeli*, *Keratella cochlearis*, *Synchaeta* spp., *Leptodora kindti*, *Limnospila frontosa*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Daphnia cucullata*, *Daphnia longispina*, *Eurythemora lacustris*, *Eurythemora affinis*, *Mesocyclops leuckarti*, *Thermocyclops oithonoides*. Сравнение сезонных групп доминант по годам показало существенные различия (табл.1, 2). В 2007 г. в весеннем комплексе доминант отсутствовали коловратки, на протяжении всего вегетационного сезона доминировала молодь копепод с преобладанием молоди калянид, *Eurythemora lacustris* и *Eurythemora affinis*.

Таблица 1. Доминирующие по численности виды зоопланктона в северной части мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь, 2005-2007 гг.

Год Сезон	2005	2006	2007
Весна (июнь)	<i>Synchaeta</i> spp. <i>K. quadrata frenzeli</i>	<i>Synchaeta</i> spp.	<i>E. lacustris</i> + <i>affinis</i> <i>Nauplii Calanoida</i>
Лето (июль-август)	<i>Th. oithonoides</i> , <i>M. leuckarti</i> <i>Nauplii Cyclopoida</i> + <i>Calanoida</i>	<i>Conochilus unicornis</i> <i>Th. oithonoides</i> <i>M. leuckarti</i> <i>Nauplii Cyclopoida</i>	<i>K. quadrata frenzeli</i> <i>E. lacustris</i> + <i>E. affinis</i> <i>Nauplii Cyclopoida</i> + <i>Calanoida</i> <i>D. cucullata</i>
Осень (сентябрь-октябрь)	<i>K. quadrata frenzeli</i> <i>Nauplii Calanoida</i> <i>Th. oithonoides</i> <i>E. lacustris</i> + <i>E. affinis</i>	<i>K. cochlearis macracantha</i>	<i>K. quadrata frenzeli</i> <i>E. lacustris</i> + <i>E. affinis</i> <i>Nauplii Cyclopoida</i> + <i>Calanoida</i>

Таблица 2. Доминирующие по биомассе виды зоопланктона в северной части мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь, 2005-2007 гг.

Год Сезон	2005	2006	2007
Весна (июнь)	<i>A.priodonta</i> <i>E.lacustris</i> + <i>E.affins</i>	<i>A.priodonta</i>	<i>E.lacustris</i> + <i>E.affins</i> <i>L.kindti</i> <i>D.longispina</i>
Лето (июль-август)	<i>Th.oithonoides</i> <i>M.leuckarti</i> <i>M.viridis</i> <i>B.longispina</i> <i>L.kindti</i> <i>L.frontosa</i>	<i>A.priodonta</i> <i>L.kindti</i> <i>L.frontosa</i> <i>M.leuckarti</i> <i>Conochilus unicornis</i>	<i>E.lacustris</i> + <i>E. affinis</i> <i>D.cucullata</i> <i>L.kindti</i> <i>D.brachiurum</i>
Осень (сентябрь-октябрь)	<i>Th. oithonoides</i> <i>E.lacustris</i> + <i>E. affinis</i> <i>M.leuckarti</i> <i>Acartia clausi</i>	<i>E.lacustris</i> + <i>E. affinis</i>	<i>E.lacustris</i> + <i>E. affinis</i> <i>D.cristata</i> <i>D.brachiurum</i>

В июне 2005 и 2006 гг. численность и биомасса зоопланктона была полностью определена коловратками.

2005 г. В июне численность зоопланктона варьировала от 105.8 до 147.7 тыс. экз./м³, биомасса – 2351- 2628 мг/м³. Доминировали коловратки, из которых наибольшей численности достигали *Synchaeta spp.* (87.1 тыс.экз./м³), *K. quadrata frenzeli* (25.1 тыс.экз./м³), *A. priodonta* (17.8 тыс.экз./м³). Биомасса последней достигала огромной величины 2130 мг/м³. В начале июля роль коловраток в сообществе по-прежнему оставалась высокой до 58% от общей численности, при этом среди коловраток не было доминирующих видов. Возрастала роль веслоногих рачков, главным образом циклопид. Появление в планктоне *L. kindti* отразилось на величине биомассы ветвистоусых рачков – 47%. К середине июля роль коловраток заметно уменьшилась, уступая место веслоногим рачкам, среди которых главные позиции занимали *M. leuckarti* (до 22% от численности), *Th. oithonoides* (до 30%) и науплиальные стадии циклопов (до 43%). Ветвистоусые рачки немногочисленны. Однако вклад в биомассу этой группы составлял до 50%, благодаря таким крупным видам как *L. kindti* и *L. frontosa*. В конце июля в планктоне доминировали науплии циклопид, *M. leuckarti* и *Th. oithonoides* их доля в общей численности составляла около 80%, а в биомассе – около 50%. В июле количество зоопланктона по сравнению с июнем снизилось до 64.3-110.2 тыс. экз./м³ и 485.8-918.5 мг/м³. В августе соотношение численности коловраток и циклопид было сходным – 33 и 34% соответственно. Доля ветвистоусых возросла до 18%. По численности преобладали *Th.oithonoides* и науплии циклопид, по биомассе – *L. frontosa*, *B. longispina*, *M.viridis*. Наблюдалось дальнейшее снижение обилия зоопланктона. Общая численность и биомасса в начале августа составили 39.0 тыс. экз./м³ и 889.5 мг/м³, в конце августа – 31.1 тыс.экз./м³ и 196.5 мг/м³. До третьей декады сентября величина численности и биомассы не поднималась выше 32.1 тыс.экз./м³ и 226.5 мг/м³. В конце сентября отмечено небольшое увеличение до 55.8 тыс.экз./м³ и 422.2 мг/м³, и далее в октябре резкое снижение до самых низких значений 8.8 тыс.экз./м³ и 110.7 мг/м³. Ведущая роль в формировании зоопланктонного сообщества в осенний период принадлежала веслоногим рачкам (табл.1).

2006 г. Количественные параметры июньского зоопланктона составили 94.1 тыс. экз./м³ (численность) и 1636.2 мг/м³ (биомасса). Преобладали коловратки *Synchaeta spp.* (20.3 тыс.экз./м³) и *A.priodonta* (10.3 тыс.экз./м³ и 1263.8 мг/м³). В начале июля их сменила другая коловратка *C. unicornis* – 51.4 тыс.экз./м³ (50% от численности). Значение веслоногих рачков в планктоне заметно возросло. Присутствие *L. kindti* увеличило долю ветвистоусых рачков в общей биомассе до 45%. В середине и конце июля структура доминантного комплекса соответствовала таковой в 2005 г. В июле величина количественных параметров зоопланктона достигла июньского уровня – 102.8-116,1 тыс.экз./м³ и 1174.9-1528.2 мг/м³. В первой декаде августа в планктоне преобладали науплии циклопид (42% по численности и 38% по биомассе). Суммарный вклад циклопид в численность и биомассу составил 79% и 56%. В третьей декаде значительно возрастает роль коловраток (50% от численности). Существенный вклад в биомассу (34%) внесли каляниды *L. grimaldii* и *E. affinis* + *E. lacustris*. В планктоне преобладали *K. quadrata frenzeli*, *M.oithonoides*, науплии циклопид. В августе снижение общей численности и биомассы продолжалось. В начале месяца величина численности составила 42.1 тыс.экз./м³, биомасса – 404.5 мг/м³, в конце – 23.4 тыс. экз./м³ и 173.0 мг/м³. К середине сентября

отмечено увеличение этих показателей до 55.3 тыс. экз./м³ и 358.23 мг/м³. Доминировали *K.quadrata frenzeli* (22.4%), *E. lacustris*+*E. affinis*, науплии калянид и циклопид.

2007 г. В начале июня в планктоне преимущественно развивались каляниды (56% от численности и 79% от биомассы) и коловратки (34 и 11% соответственно). Доминировали науплии калянид и *E. affinis*+*E.lacustris*. Общая численность зоопланктона равнялась 66.6 тыс.экз./м³, биомасса – 816.7 мг/м³. Слабое развитие коловраток (3.5 тыс.экз./м³) в последней декаде июня снизило общую численность зоопланктона почти в 2 раза (36.8 тыс.экз./м³). В это время в планктоне по-прежнему доминировали науплии калянид, а также *D. cucullata*. Появление в планктоне даже в небольших количествах крупных кладоцер *L. kindti* и *D. longispina* увеличило биомассу до 1062.5 мг/м³. В начале июля доминантами оставались науплии калянид (20% от численности) и *E. affinis*+*E.lacustris* (17%), не меньшую роль играли науплии циклопид (22%). Высокие значения биомассы 1386.3 мг/м³ в первой декаде июля связаны с развитием крупных кладоцер *L. kindti* (3% от численности) и *D.longispina* (15%), доля которых в общей биомассе составила около 63%. В конце июля возрастала роль циклопид, сформировавшие 37 и 16% общей численности и биомассы соответственно. Вместо крупной *D. longispina* появилась мелкая *D.cucullata*, чей вклад, как в численность зоопланктона, так и в его биомассу, составил около 21-22%. Отмеченные изменения в структуре доминантного комплекса практически не повлияли на величину количественных параметров – 34.9 тыс. экз./м³ и 1031.6 мг/м³. В начале августа обилие зоопланктона снизилось до 19.8 тыс. экз./м³ и 258.5 мг/м³. В планктоне преобладали *D. cucullata*, копепоиды *E. affinis*+*E. lacustris*, науплии циклопид. Во второй и третьей декаде происходило постепенное увеличение численности (46.1 тыс.экз./м³ и 58.7 тыс.экз./м³) и биомассы (748.5 мг/м³ и 593.1 мг/м³) зоопланктона. К комплексу доминант, состоящему из тех же видов, что и в начале августа, добавились *D. brachiurum* (23% от биомассы) и *K.quadrata frenzeli* (24% от численности). Произошли изменения в сообществе копепод – увеличилась доля взрослых особей. В сентябре, при общем снижении уровня развития зоопланктона, отмечен незначительный рост количественных показателей калянид. Численность и биомасса зоопланктона в начале сентября составила 19.3 тыс.экз./м³ и 226.4 мг/м³, в конце – 22.4 тыс.экз./м³ и 250.7 мг/м³. Доминировали – *K.quadrata frenzeli*, *E. affinis*+*E.lacustris*, *D.cristata*, *D. brachiurum*.

В целом сезонная динамика зоопланктона в 2005-2006 гг. характеризовался сходной картиной смены доминант. В начале сезона в планктоне доминировали коловратки, в июле и августе в массе развивались циклопиды, роль которых к концу сентября снижалась, уступая место калянидам. Ветвистоусые рачки были немногочисленны, но за счет своих крупных размеров играли ведущую роль в формировании летней биомассы зоопланктона. В 2007 г. отсутствовал ярко выраженный пик развития коловраток в начале сезона, отмечены низкие величины их численности. В зоопланктонном сообществе в течение всего периода наблюдений основная роль принадлежала калянидам (крупным хищникам). Следует отметить, что в 2005 г. динамика численности и биомассы зоопланктона характеризовалась кривой с четырьмя совпадающими по времени пиками, два из которых приходились на июнь и по одному – на вторую декаду июля и последнюю декаду сентября. В 2006 г. таких пиков было три – в июне, в начале и середине июля. В оба года пики численности были обусловлены массовым развитием коловраток и циклопид, пики биомассы – кладоцерами и циклопидами. В 2007 г. наблюдалось два максимума, несовпадающих по численности и биомассе. Первый июньский пик был сформирован калянидами и коловратками, второй – в конце августа калянидами и копеподами. Оба пика биомассы (июль, август) были связаны с обилием кладоцер, калянид и циклопид.

Анализ структурных изменений в сообществе зоопланктона подтвердил негативное влияние мутности воды. В 2007 г. отмечено снижение численности зоопланктона (табл.3).

Таблица 3. Средние за сезон величины численности и биомассы зоопланктона в северной части мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь, 2005-2007 гг.

Показатели	Численность, тыс.экз./м ³	Биомасса, мг/м ³
Год		
2005	66.12	912.54
2006	68.22	956.12
2007	38.27	708.24

Произошли изменения в соотношении основных функциональных групп сообщества. В течение всего сезона беспанцирные коловратки и мелкие кладоцеры встречались в единичных экземплярах. В предыдущие годы основная роль в формировании сообщества принадлежала довольно мелким циклопам *M. leuckarti* и *Th. oithonoides*. В 2007 г. доминировали крупные каляниды *E. affinis* и *E.*

lacustris. Ухудшение среды обитания привело к снижению доли мелкой фракции зоопланктона, что отразилось на среднем размере особи в сообществе: 2005 г. – 0.014, 2006 г. – 0.014, 2007 г. – 0.019.

В наибольшей степени от мутности воды зависят коловратки, которые в большинстве своем являются тонкими фильтраторами. При низкой прозрачности воды в 2007 г., связанной с механической взвесью, численность коловраток в течение всего вегетационного периода не поднималась выше 23 тыс.экз./м³ (рис. 1).

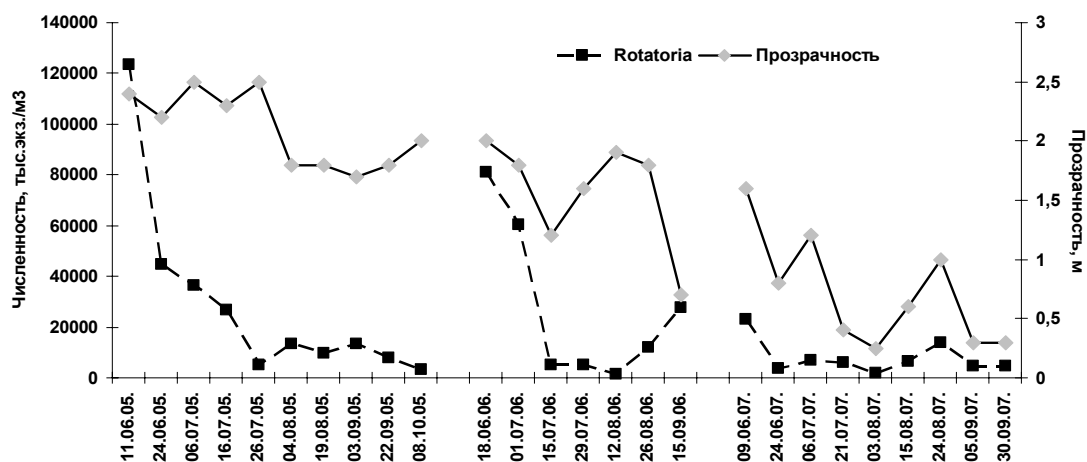


Рис. 1. Сезонная динамика численности коловраток и величины прозрачности воды в северной части мелководного района восточной части Финского залива, июнь-октябрь, 2005-2007 гг.

В среднем в 2007 г. их численность составила 8 против 28 тыс.экз./м³ в 2005-2006 гг. Обнаружена положительная корреляция между численностью коловраток и прозрачностью ($r = 0.45$; $p < 0.05$). Это согласуется выводами о негативном влиянии мутности воды на структурно-функциональные характеристики зоопланктона (Алешина, 2001; Сулопарова и др., 2006).

Таким образом, под воздействием мутности воды в 2007 г. в зоопланктоне произошло выпадение из массовых видов беспанцирных коловраток и мелких кладоцер; сократилась доля «мирных» (седиментаторы, фильтраторы) и возросла доля «хищников»; увеличился средний размер особи в сообществе; численность и биомасса зоопланктона по сравнению с фоновыми величинами (2005 г.) уменьшилась в 2 раза; изменился сезонный ход динамики количественных параметров сообщества.

Список литературы

- Алешина О.А. Пространственно-временная структура зоопланктона эвтрофного озера при гидромеханических работах // Тезисы. VIII съезда ГБО РАН, т.2. 2001. С. 101-102.
- Балушкина Е.В., Винберг Г.Г. Зависимость между массой и длиной тела у планктонных животных // Общие основы изучения водных экосистем. Л., Наука. 1979. С.169-172.
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л. 1984.
- Сулопарова О.Н., Огородникова В.А., Волхонская Н.И. Воздействие повышенной мутности воды, возникающей при выполнении гидротехнических работ на структурно-функциональные характеристики зоопланктона // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ, вып.331, т.1. 2006. С.274-334.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ВОДОЕМА В-11 ТЕЧЕНСКОГО КАСКАДА ВОДОЕМОВ

Е.В. Сафонова, Л.В. Дерябина, С.С. Андреев, Е.А.Пряхин
ФГУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины
г. Челябинск, Россия, safonova@urcrm.chel.su

В настоящее время на предприятии ПО «Маяк» (г. Озерск, Челябинская область) существует ряд промышленных водоемов, куда удаляется значительная часть среднеактивных и низкоактивных жидких отходов производства для их дальнейшего хранения. Водоем В-11 является замыкающим в системе Теченского каскада водоемов и эксплуатируется в бессточном режиме с момента его создания (1966 г.).

Экосистема этого водоема уникальна, так как более 40 лет испытывает на себе хроническое радиационное воздействие. В то же время, гидробиологические исследования данного водоема за все время его существования проводились в очень малом объеме, т.к. мониторинг, осуществляемый специалистами ПО «Маяк» сконцентрирован в основном на гидрохимических и радиохимических исследованиях.

В связи с этим, анализ состава и структуры сообщества живых организмов, существующего в условиях столь продолжительного радиационного воздействия, представляет собой важную задачу. Фитопланктонное сообщество является первым звеном трофической цепи биоценоза водоема, влияет на продукционные характеристики и является важнейшим показателем трофического статуса экосистемы. Изменения в составе и структуре фитопланктонного сообщества непременно повлекут за собой цепь реакций в других звеньях водной экосистемы.

В связи с этим, нами была поставлена цель: оценить видовой состав и количественное развитие фитопланктона водоема В-11 Теченского каскада водоемов. Эти показатели сравнивали с характеристиками фитопланктона Шершневского водохранилища (г. Челябинск), которое по гидрологическим и морфометрическим показателям сопоставимо с водоемом В-11 и не испытывает существенного техногенного загрязнения.

Отбор проб на обоих водоемах производился в июне – сентябре 2007 г. В водоеме В-11 пять станций отбора проб располагались по старому руслу р. Теча. В Шершневском водохранилище отбор проб проводили на трех станциях, расположенных равномерно в малопроточной части, где гидрологический режим наиболее близок к таковому в водоеме В-11.

Анализ содержания радионуклидов в пробах воды и фитопланктона проводился Отделом Внешней среды ФГУН УНПЦ РМ. Концентрация ^{137}Cs определялась гамма-спектрометрическим методом (Методика..., 1984), а концентрация ^{90}Sr в пробах определялась посредством радиохимического выделения дочернего ^{90}Y (Методические рекомендации..., 1980).

Для количественного анализа фитопланктона средневзвешенные пробы воды отбирали с помощью батометра Паталаса. При величине прозрачности (по диску Секки) равной S и глубине равной L , пробы отбирали с 6 горизонтов: $0\ S$; $0.5\ S$; $1\ S$; $2\ S$; $(2s+L)/2$; L и смешивали в одной емкости. Пробы консервировали на месте фиксатором на основе раствора Люголя и затем концентрировали фильтрационным методом (Методика..., 1984). Кроме того, для учета редких видов отбирали качественные поверхностные пробы сачком для фитопланктона из мельничного газа №160.

Численность фитопланктона оценивали в камере Горяева с использованием соответствующих определителей (Определитель..., 1953; Определитель..., 1951-1986).

Численность фитопланктона в водоеме В-11 летом 2007 г. в среднем по акватории изменялась в пределах 45-135 млн.кл/л и была максимальной в августе (таблица 1).

Таблица 1. Сезонная динамика общей численности фитопланктона (млн.кл./л) в водоеме В-11.

Станция отбора проб	Июль	Август	Сентябрь
B11/1	49	143	50
B11/2	98	101	21
B11/3	58	126	57
B11/4	83	151	30
B11/5	40	152	70
Средняя по акватории	65	135	46

Распределение фитопланктона по акватории обоих водоемов характеризовалось значительной неравномерностью (различия в 50-100 млн.кл/л между станциями), причем эти отличия менялись в разные месяцы.

В июле наибольшая численность фитопланктона наблюдалась на прибрежных станциях B11/2 и B11/4, в открытой пелагиали водоема она была примерно в 2 раза ниже. В августе численность фитопланктона в прибрежной станции B11/2 осталась почти на уровне июльской, в остальных точках она увеличилась по сравнению с июлем в несколько раз, наибольшая численность фитопланктона отмечалась в приплотинных участках пелагиали B11/1 и B11/5, а также в прибрежной B11/4, расположенной в небольшом заливе. В сентябре численность фитопланктона резко снизилась, больше всего фитопланктона сохранилось в низовье водохранилища, на станции B11/5 перед плотиной П11, меньше всего в прибрежных B11/2 и B11/4.

Содержание основных радионуклидов в воде водоема В-11 характеризовалось относительно равномерным пространственным распределением: диапазон удельной активности ^{90}Sr составлял 1215 – 1666 Бк/л, а ^{137}Cs составлял 0.58 – 1,31 Бк/л. Очевидно, причиной колебания численности

фитопланктона в данном случае являются, прежде всего, метеорологические факторы (в частности направление ветра), нежели создание специфических условий в конкретном биотопе.

Количественные и качественные характеристики фитопланктона водоема В-11 сравнивали с показателями фитопланктона из глубокой малопроточной части Шершневого водохранилища. Развитие фитопланктона в Шершневском водохранилище достигало близких величин: численность нарастала с июля по сентябрь, от 96 до 148 млн.кл./л. (таблица 2).

Таблица 2. Сезонная динамика общей численности фитопланктона (млн. кл./л) в Шершневском водохранилище

Станция отбора проб	июль	август	сентябрь
ШВ3	72	201	107
ШВ4	148	63	190
ШВ5	70	130	149
Средняя по акватории	97	131	149

Как видно из результатов, в малопроточной части Шершневого водохранилища сложилась такая же ситуация с пространственным распределением численности фитопланктона, как в акватории В-11.

Видовой состав фитопланктона водоема В-11 довольно богат и отличается пространственными вариациями в разных биотопах водоема. Общая численность видов, обнаруженных нами в водоеме В-11 (62 вида), очень близка к таковой в водоеме сравнения (61 вид), причем 53 из них оказались общими для двух водоемов (таблица 3).

Для сравнения степени сходства между двумя водоемами по видовому составу фитопланктона рассчитали коэффициент флористического сходства Жаккара. Он оказался равен 75.7%, что указывает на достаточно высокую степень сходства состава альгоценоза двух водоемов.

Таблица 3. Сравнение видового состава альгоценоза водоема В-11 и Шершневого водохранилища летом 2007 г.

Вид организма	В-11	ШВ
Cyanobacteria	13	10
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (L.) Ralfs.	+	+
<i>Aphanocapsa conferta</i> (W.et G.S.West) Kom.-Legn. Et Cronb.	+	-
<i>Anabaena spiroides</i> Kleb.	+	-
<i>Anabaena flos-aquae</i> (L.) Ralfs.	+	+
<i>Anabaena shermantsevi</i> Elenk.	-	+
<i>Gomphosphaeria lacustris</i> Chod.	+	+
<i>Lyngbya limnetica</i> Lemm.	+	-
<i>Merismopedia minima</i> G. Beck.	+	+
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz. emend Elenk.	+	+
<i>Microcystis wesenbergii</i> (Kom.) Kom. in Kondratieva	+	+
<i>Oscillatoria agardhii</i> Gom.	+	+
<i>Oscillatoria lacustris</i> (Kleb.) Geitl.	+	-
<i>Snowella rosea</i> (Snow) Elenk.	+	+
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauv.	+	+
Bacillariophyta	11	10
<i>Amphora ovalis</i> (Kütz.) Kütz.	+	+
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehr.) Simons.	+	+
<i>Asterionella formosa</i> Hass.	+	+
<i>Diatoma elongatum</i> (Lyngb.) Ag.	+	+
<i>Epithemia sorex</i> Kütz.	+	+
<i>Epithemia turgida</i> (Ehr.) Kütz.	+	-
<i>Fragillaria crotonensis</i> Kitt.	+	+
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kütz.) Rabenh.	+	+
<i>Rhoicosphenia curvata</i> (Kütz.) Grun.	+	+
<i>Stephanodiscus hantzschii</i> Grun. in Cl. et Grun.	+	+
<i>Synedra ulna</i> (Nitsch.) Ehr.	+	+

Вид организма	В-11	ШВ
Chlorophyta	33	37
<i>Aktinastrum hantschii</i> Lagerh.	+	+
<i>Ankistrodesmus fusiformis</i> Corda ex Corsch.	+	+
<i>Binuclearia lauterbornii</i> (Schmidle) Pr.-Lavrenko	+	-
<i>Botryococcus braunii</i> Кьтз.	+	+
<i>Closterium gracile f. elongatum</i> (W. et G. West) Kossinsk.	+	+
<i>Closterium exyguum</i> W. et G. S. West	+	+
<i>Closterium parvulum</i> Ндгели.	+	+
<i>Coelastrum microporum</i> Ндгели.	+	+
<i>Cosmarium retusifforme</i> (Wille) Gutw.	+	-
<i>Cosmarium undulatum</i> Corda	+	+
<i>Crucigenia fenestrata</i> Schmidle.	+	+
<i>Crucigenia quadrata</i> Morren.	+	+
<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchn.) W. et W.	+	+
<i>Crucigeniella rectangularis</i> (Ндг.) Ком.	+	+
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i> Ндг.	+	+
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> H. Wood	+	+
<i>Eudorina elegans</i> Ehr.	+	+
<i>Kirchneriella obesa</i> (W. West) Schmidle	+	+
<i>Lagerheimia genevensis</i> (Chod.) Chod.	-	+
Вид организма	В-11	ШВ
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korsch.) Hind.	-	+
<i>Monoraphidium irregulare</i> (G.M. Smith) Kom.-Legn.	+	+
<i>Monoraphidium minutum</i> (Ндг.) Ком.-Legn.	+	+
<i>Pandorina morum</i> (O.F. Мьлл.) Bory.	+	+
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen	+	+
<i>Pediastrum boryanum</i> Turp. Menegh.	+	+
<i>Pediastrum tetras</i> (Ehrenb.) Ralfs.	-	+
<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerh.) Chodat.	-	+
<i>Scenedesmus arcuatus</i> Lemm. (Lemm.)	+	+
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Bräbisson	+	+
<i>Scenedesmus ellipticus</i> Corda.	+	+
<i>Schroederia robusta</i> Korsch.	+	+
<i>Schroederia setigera</i> (Schrud.) Lemm.	+	+
<i>Sphaerocystis schroeteri</i> Chodat.	+	+
<i>Staurodesmus cuspidatus</i> (Breb.) Teiling	+	+
<i>Staurastrum gracile</i> Ralfs.	+	+
<i>Staurastrum paradoxum</i> Meyen	+	+
<i>Staurastrum tetracerum</i> Ralfs.	+	+
<i>Tetraedron caudatum</i> (Corda) Hansgirg	-	+
<i>Tetraedron minimum</i> (A. Br.) Hansgirg	-	+
Chrysophyta	1	2
<i>Chrysococcus rufescens</i> Klebs.	+	+
<i>Pseudokephyrion entzii</i> Corn.	-	+
Dynophyta	2	1
<i>Ceratium hirundinella f. furcoides</i> (Lev.) Schrud.	+	-
<i>Ceratium hirundinella</i> (O. F. M.) Bergh. f. <i>hirundinella</i>	+	+
Euglenophyta	1	0
<i>Euglena oxyuris</i> Schmarda	+	-
Xanthophyta	1	1
<i>Pseudostaurastrum hastatum</i> (Reinsch.) Chod.	+	+

Пространственная и сезонная динамика численности видов фитопланктона в водоеме В-11 и в Шершневском водохранилище представлены в таблицах 4 и 5.

Из данных, приведенных в таблицах, видно, что наибольшее видовое разнообразие фитопланктона в обоих водоемах отмечалось в августе. Разнообразие фитопланктона на каждой конкретной станции водоема В-11 было немного выше, чем в Шершневском водохранилище. При этом набор видов в каждой точке наблюдения из разных участков водоема был более однородным, чем в Шершневском водохранилище. Это свидетельствует о более равномерном распределении видов фитопланктона в водоеме В-11, что, очевидно, связано с гораздо меньшей проточностью и более однородными условиями в его пелагиали.

Таблица 4. Пространственная и сезонная динамика числа видов фитопланктона в водоеме В-11

Станция отбора проб	июль	август	сентябрь	среднее по станции
В11/1	30	32	34	32
В11/2	40	38	27	35
В11/3	28	36	36	33
В11/4	34	36	35	35
В11/5	26	32	29	29

Таблица 5. Пространственная и сезонная динамика числа видов фитопланктона в Шершневском водохранилище

Станция отбора проб	июль	август	сентябрь	среднее по станции
ШВ3	23	24	21	23
ШВ4	24	30	29	28
ШВ5	24	26	21	24

Достаточно высокое видовое разнообразие фитопланктона в каждой точке наблюдения (в среднем 33 вида) сочеталось с очень низким количественным развитием всех видов, за исключением *Oscillatoria agardhii*.

Следует отметить, что доминантами в сообществе в течение лета в обоих водоемах являлись цианобактерии, которые представлены практически одними и теми же видами (*Oscillatoria agardhii*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae*, *Gomphosphaeria lacustris*, *Microcystis aeruginosa* и *Microcystis wesenbergii*). Менялось лишь процентное соотношение численности разных видов. Безусловным доминантом в фитопланктонном сообществе водоема В-11 в период с июля по сентябрь 2007 г. являлись цианобактерии вида *Oscillatoria agardhii*., развивающие максимальную численность более 100 млн.кл./л в августе. В доминирующий комплекс также входили цианобактерии *Lyngbya limnetica* и *Aphanizomenon flos-aquae*. Численность их отличалась пространственными вариациями в разных точках акватории водоема (7-32 млн.кл./л). Зеленые водоросли *Binuclearia lauterbornii*, диатомовые *Aulacoseira spp.*, *Fragillaria crotonensis*. по всей акватории развивали численность в пределах 2-10 млн.кл./л. В сезонной динамике мы наблюдали постепенное обеднение комплекса видов-субдоминантов фитопланктона водоема В-11 с июля по сентябрь 2007 г. К концу сентября фитопланктонное сообщество находилось в состоянии близком к монокультуре *Oscillatoria agardhii* с небольшой примесью других видов.

Состав доминирующего комплекса фитопланктона в водоеме сравнения также характеризовался преобладанием цианобактерий. Однако сезонная сукцессия видов фитопланктона протекала несколько иначе. В Шершневском водохранилище происходила последовательная смена видов-доминантов цианобактерий: от *Anabaena flos-aquae* (в июне) через *Aphanizomenon flos-aquae* (в июле) к *Oscillatoria agardhii* (в конце августа и сентябре). Субдоминантами в течение лета являлись *Aulacoseira spp.* и *Anabaena flos-aquae*, в августе добавились *Gomphosphaeria lacustris* и *Microcystis aeruginosa*. В сентябре на позиции субдоминанта остался только *Microcystis aeruginosa*.

Таким образом, отличаясь по доминирующему комплексу в течение лета, к концу сентября 2007 г. экосистемы двух водоемов пришли к похожему состоянию с очень высокой степенью доминирования *Oscillatoria agardhii*.

Проведенная биологическая оценка состояния фитопланктонного сообщества водоема В-11 позволяет заключить, что видовая и пространственная структура альгоценоза типична для равнинных речных водохранилищ. При сопоставлении с фитопланктонным сообществом водоема сравнения – Шершневского водохранилища отмечено сходство видового состава и структуры альгоценоза.

Авторы работы выражают глубокую благодарность за помощь в организации и проведении экспедиций на водоем В-11 Ровному С.И., Мокрову Ю.Г., Рерих В.И., Медведеву А.Г., Гаврилову А.В.

Список литературы

- Методика массового гамма-спектрометрического анализа проб природной. Л.: Гидрометеиздат, 1984. 64 с.
- Методические рекомендации по санитарному контролю за содержанием радиоактивных веществ в объектах внешней среды. М., 1980. - 336 с.
- Определитель низших растений: В пяти томах. Л.И. Курсанова Том 1. Водоросли. М.: Сов.наука, 1953. 394 с.
- Определитель пресноводных водорослей СССР: Т. 1-14. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1951-1986 гг.

ФИТОПЛАНКТОН НИЖНЕЙ ОБИ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Л.А. Семенова

ФГУП Госрыбцентр

625023, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 33, Россия, g-r-c@mail.ru

Состояние Обско-Тазовской устьевой области во многом зависит от экологического благополучия основной артерии Западной Сибири – реки Оби. В эстуарий Оби через замыкающий створ, мыс Ангальский, проходит вынос загрязненных стоков среднего Приобья, нефтепродуктов из акватории г. Салехард и нефтебаз по р. Полуй.

Фитопланктон один из важнейших биологических компонентов водной среды, отражает трофический статус водных экосистем и используется для оценки качества воды (Семенова, 1991).

В данном сообщении сделана попытка многолетнего анализа альгофлоры Нижней Оби в пределах Ямало-Ненецкого автономного округа в периоды разного антропогенного воздействия (30-е г., 60-е г., конец 70-х гг., 80-е г.; 90-е г., начало 2000 г.).

В настоящее время с учетом прошлых лет исследований (Киселев, 1970; Солоневская, 1966, 1972; Куксн и др., 1972; Науменко, 1995) в планктоне Нижней Оби зарегистрировано 706 таксонов водорослей видового и внутривидового ранга из 8 отделов (Семенова, Науменко, 2001). Видовой состав расширился на 122 таксона по сравнению с последней сводкой (Науменко, 1995), из них 67 впервые обнаружены в планктоне нижнего течения р. Обь.

Наибольшее значение в планктоне имеет группа диатомовых водорослей (48 % от общего состава). Обильны диатомеи весной и осенью. В структурообразующий комплекс входят виды рода *Aulacosira*, весной их дополняют виды родов *Asterionella*, *Stephanodiscus*, *Cyclotella*, поздней осенью иногда – *Diatoma elongatum*. Развитие диатомовых сопровождается зелеными водорослями (34 %), разнообразия и обилия они достигают в конце сезона, за счет хлорококковых. Постоянными спутниками диатомовых и зеленых в толще воды являются синезеленые водоросли (10 %), доля их заметно возрастает летом - в начале осени за счет *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Anabaena*. Разнообразие золотистых, желтозеленых, криптофитовых, динофитовых, эвгленовых невелико (8 %). Виды, входящие в состав фитопланктонного сообщества, характеризуются различной частотой встречаемости. Наиболее распространены виды родов: *Aulacosira*, *Scenedesmus*, *Tetrastrum*, *Ankistrodesmus*, *Dictyosphaerium*. Количественные характеристики фитопланктона, относительная для доминирующих групп и индексы сапробности представлены в таблице.

Средняя численность и биомасса растительного планктона в конце 70-х годов достигла 6,0 млн.кл./л и 2.7 мг/л соответственно. Средний коэффициент пропорциональности между численностью и биомассой (N/B) составил 2.2.

В 80-е годы средняя плотность водорослей в период открытой воды находилась в пределах 3.3-12.3 млн.кл./л, фитомасса – 1.6-3.6 мг/л. Максимальные показатели отмечены в 1983 г. (биомасса) и в 1987 г. (численность). Наблюдалось уменьшение размеров клеток в конце 80-х годов. Минимальный средний коэффициент N/B отмечен в 1981 г. (1.8), максимальный – в 1989 г. (3.9).

90-е годы характеризуются повышением продуктивности фитопланктона (в среднем от 7.7 до 40.1 млн.кл./л и от 2.2 до 11.6 мг/л), с максимумом в районе пос. Казым Мыс (до 113.1 млн.кл./л и до 28.6 мг/л, 1995 г.) и достаточно высокими коэффициентами N/B (2.9-3.9). В 1964 г. средний коэффициент составил 2.7. Отмечена пышная вегетация в конце лета – начале осени мелкоклеточных синезеленых (до 46-82 % численности) и зеленых (до 28 % численности и до 17 % биомассы) водорослей, что отразилось на коэффициенте пропорциональности между численностью и биомассой. Наибольшее соотношение между численностью и биомассой (N/B)

отмечено в августе 1995 г. в районе пос. Ямбура (9.9) и в августе 1997 г. – в районе мыс Ангальский (11.1).

Таблица. Некоторые показатели фитопланктона Нижней Оби, 1979-2007 гг.

Год	Разрез	Месяц	N	B	N/B	S	Доминанты (% от N; % от B)
1964	ОА	06-09	3.7-8.3 6.5	1.6-3.0 2.4	1.6-3.1 2.7	-	Диатомеи 48-97 % N и 80-94 % B, синезеленые до 50 % N (09) и до 14 % B (08)
1979	ОВ	06-09	1.2-12.4 6.0	0.6-5.4 2.7	2.0-2.3 2.2	-	диатомеи 67-92% N и 86-96% B, зеленые до 32% N (08) и до 12% B (08)
1980	ОА	07-09	1.2-6.3 4.1	0.6-2.4 1.6	2.1-2.7 2.6	-	диатомеи 55-75% N и 80-91% B, синезеленые до 29% N (08), зеленые до 26% N (07) и до 13% B (08)
1981	ОА	06-08, 10	1.8-7.5 4.4	0.7-4.4 2.5	1.6-3.2 1.8	-	диатомеи 31-90% N и 74-97% B, синезеленые до 22% N (08), зеленые до 46% N (08) и до 20% B (08)
1981	ОС	06-07	2.6-3.7 3.1	1.0-1.7 1.4	2.2-2.5 2.3	-	диатомеи 73-89% N и 89-94% B
1982	ОА	05-10	1.1-7.3 3.3	0.4-4.1 1.7	1.4-3.2 2.0	-	диатомеи 29-73% N и 76-97% B, синезеленые до 44% N (08) и до 20% B (08), зеленые до 30-46% N (08-09)
1983	ОА	06-10	3.1-22.4 7.4	0.9-10.5 3.6	1.5-3.6 2.1	-	диатомеи 36-94% N и 90-99% B, синезеленые до 37% N (07), зеленые до 27% N (07)
1986	ОА	06-09	2.6-3.9 3.3	0.9-1.7 1.3	2.1-3.6 2.5	-	диатомеи 69-93% N и 93-99% B, синезеленые до 18% N (09), зеленые до 22% N (08)
1987	ОА	06-09	3.2-27.3 9.3	1.3-6.4 2.8	2.1-4.3 3.4	-	диатомеи 66-80% N и 95-98% B, синезеленые до 25% N (09), зеленые до 13% N (08)
1987	ОВ	06-09	3.1-13.9 7.2	1.6-5.3 2.6	1.9-3.7 2.7	-	диатомеи 69-87% N и 83-99% B, синезеленые до 19% N (08), зеленые до 11% N (08)
1989	ОА	06-10	4.8-24.1 12.3	1.4-5.0 3.1	2.9-5.6 3.9	-	диатомеи 24-87% N и 88-99% B, синезеленые до 59-66% N (08, 09)
1990	ОА	06-10	2.1-10.8 8.1	0.7-3.0 2.5	2.4-3.7 3.3	1.54-1.68	диатомеи 49-76% N и 89-96% B, синезеленые до 31-46% N (08,10), зеленые до 28% N (07)
1991	ОА	06-10	1.3-16.3 11.0	0.4-4.2 2.8	2.0-6.6 3.9	1.38-1.66	диатомеи 27-90% N и 86-97% B, синезеленые до 69% N (08)
1995	ОА	06-08	16.2-19.5 17.6	4.1-8.9 5.4	2.0-3.9 2.9	1.57-1.64	диатомеи 22-74% N и 83-92% B, синезеленые до 71% N (08), зеленые до 13% N (06)
1995	ОК	06, 08- 10	4.5-113.1 40.1	2.2-28.6 11.6	1.7-6.0 3.4	1.55-1.69	диатомеи 18-95% N и 66-98% B, синезеленые до 59% N (09), зеленые до 23% N (09) и до 17% B (09)
1995	ОЯ	05, 07, 08, 10	6.7-31.3 14.3	0.7-10.0 4.5	2.6-9.9 3.2	1.52-1.66	диатомеи 9-78% N и 68-98% B, синезеленые до 77% N (08), зеленые до 49% N (10)
1996	ОА	06, 07, 09, 10	3.1-30.0 12.8	1.6-9.5 4.3	1.9-4.9 3.0	1.67-1.77	диатомеи 39-98% N и 85-98% B, синезеленые до 47-56% N (07, 09), зеленые до 14% N (09)
1997	ОА	06, 08- 10	5.0-13.7 7.7	1.2-3.0 2.2	1.7-11.1 3.5	1.42-1.88	диатомовые 15-83% N и 66-97% B, синезеленые до 42-82% N (08, 09), зеленые 18% N (10)
1999	ОА	06, 08, 09	4.5-8.2 6.8	1.8-4.3 3.3	1.9-2.7 2.0	1.05-1.52	диатомеи 75-91 % N и 85-95 % B
2000	ОА	05-08	3.0-14.7 8.0	1.0-5.8 3.9	1.3-3.0 2.0	1.57-1.72	диатомеи 57-95% N и 90-99% B, зеленые до 39% N (08)
2001	ОА	08	2.5-4.0 3.0	0.8-1.3 1.0	3.0-3.1 3.1	1.35	диатомеи 75-90% N и 93-95% B, зеленые до 18% N
2001	ОС	08	1.0-2.6 2.0	0.5-1.0 0.8	2.1-2.7 2.4	1.34	диатомеи 74-97% N и 77-97% B, зеленые до 26% N
2002	ОА	07, 10	2.7-8.7 5.8	1.0-2.8 2.0	2.0-3.2 2.9	1.48-1.69	диатомеи 56-81% N и 88-90% B. синезеленые до 24% N (07). зеленые до 16% N (07)
2007	ОК	08, 10	1.9-12.2 7.1	1.2-3.0 2.1	1.6-4.0 3.3	1.62-1.72	диатомеи 35-45% N и 81-82% B. синезеленые до 55% N (09). зеленые до 28% N (08). криптонады до 13% N (08) и до 11% B (08)
2007	ОА	08-10	4.0-7.4 4.7	1.9-2.4 2.2	1.7-3.6 2.2	1.47-1.70	диатомеи 37-73% N и 76-90% B. синезеленые до 48% N (09). зеленые до 18% N (08). криптонады до 14% B (07)
2007	ОЯ	06,09	3.3-4.3 3.8	1.6-2.2 1.9	2.0-2.0 2.0	1.54-1.59	диатомеи 72-82% N и 88-94% B; зеленые до 12-13% N

Примечания: ОВ – р. Обь – пос. Вандиязы. ОА – р. Обь – мыс Ангальский. ОС – р. Обь – пос. Салемал. ОК – р. Обь – пос. Казым-Мыс. ОЯ – р. Обь – пос. Ямбура; над чертой – пределы показаний; под чертой – среднее значение; N – численность (млн.кл./л); B – биомасса (мг/л); S – индекс сапробности

После 2000 г. наблюдается понижение вегетации растительного планктона и коэффициента пропорциональности между численностью и биомассой (N/B), возможно обусловленное нерегулярностью отбора проб. Средняя численность не превышала 8,0 млн.кл./л, биомасса – 3,9 мг/л. Коэффициент N/B находился в пределах 2,0-3,3.

Наибольшую информационную значимость несут структурные перестройки в доминирующем комплексе для оценки экологического состояния биоты. Как следует из таблицы основной структурообразующей группой в 1964, 1979, 80-х, 90-х годах и начале 2000-х годов являются диатомовые водоросли за счет крупноклеточных видов рода *Aulacosira*. С началом выхода воды из соровой системы увеличивается разнообразие и обилие в речных водах мелкоклеточных синезеленых и зеленых водорослей, отмечается рост соотношения между численностью и биомассой (N/B).

В 1979 году в доминирующем комплексе весной встречался представитель чистых вод *Asterionella gracillima*, обитавшая широко в реке в 30-х – 60-х годах (Киселев, 1970; Солоневская, 1972; Куксн и др., 1972). В последующие годы исследований она выпадает из числа доминантов (Семенова и др., 2000).

Период открытой воды 2007 г. характеризуется затянувшимся половодьем, выносом большого количества гуминовых веществ с поймы. Впервые в группу структурообразующих видов попадают жгутиковые криптомонады (до 13 % численности и до 14 % биомассы) выносящие повышенные концентрации легкоусвояемого органического вещества (рис. 1, 2). Наибольшая плотность их (виды родов *Cryptomonas*, *Croomonas*) отмечены со стороны расположения пос. Казым Мыс (Семенова, 2008). В 60-е годы в речных водах они не регистрировались (Солоневская, 1966; Куксн и др., 1972).

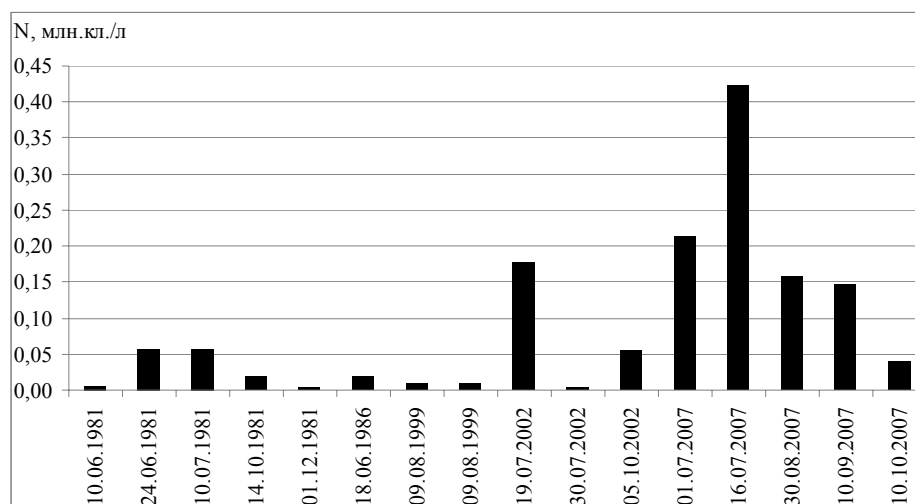


Рис. 1. Динамика численности (N) криптомонад, р. Обь – мыс Ангальский.

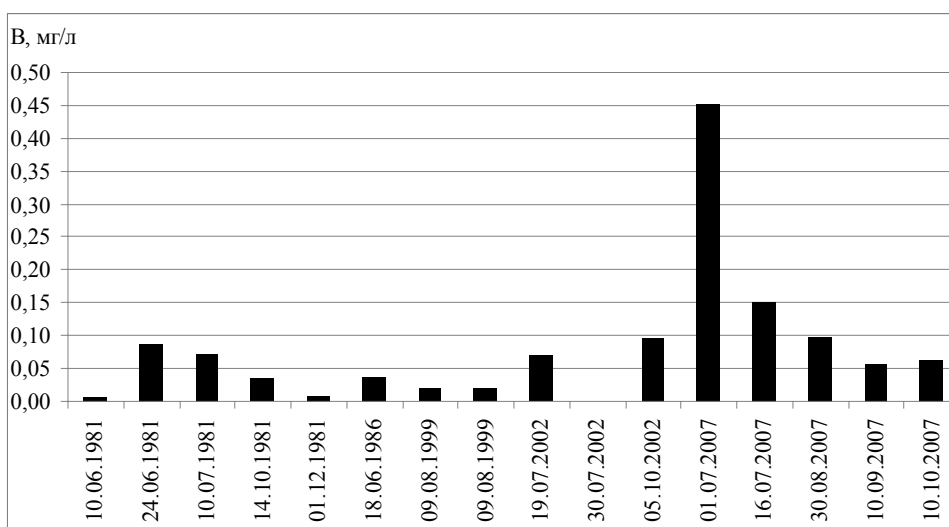


Рис. 2. Динамика биомассы (B) криптомонад, р. Обь – мыс Ангальский.

Проведена ориентировочная оценка качества вод р. Обь по составу индикаторных видов фитопланктона 90-х и после 2000-го гг. По степени сапробности водоросли варьируют в довольно широких пределах от ксеносапробных до поли-альфа-мезосапробных. Формы, приуроченные к полисапробной зоны, не отмечены. Большинство показательных водорослей относится к индикаторам бета-мезосапробных условий в водоеме.

Рассчитанные по фитопланктону за ряд лет индексы сапробности для нижнего участка Оби характеризуют воды как умеренно загрязненные с незначительным отклонением летом, иногда осенью в сторону чистых вод. Уменьшение индекса сапробности в летне-осенний период обусловлено происходящими в водоеме процессами самоочищения.

Известно, что самоочищающаяся способность в реках намного выше, чем в стоячих водоемах. Это связано со скоростями течения, перемешиванием водных масс, их разбавлением. Воды Оби в нижнем ее участке в рассматриваемый период, как показали результаты исследований, пока справляются с поступающим загрязнением, о чем свидетельствуют разнообразие альгофлоры, относительно стабильная на протяжении многих лет структура фитопланктонного сообщества и сравнительно низкие величины индексов сапробности.

Об удовлетворительном состоянии эстуария Оби свидетельствует сохранившийся комплекс гляциально-морских реликтов эстуария Оби, который включает 4 вида высших раков (*Pontoporeia affinis* Lindström, *Gammaracanthus lacustris* Sars, *Mysis relicta* Loven, *Mesidotea entomon* L.) и представителя зоопланктона *Limnocalanus macrurus* Sars (Степанова, 2003), то есть почти весь комплекс реликтовых ракообразных по С. Ловену (цит. по Сушеня и др., 1986).

Несмотря в целом на благополучную картину экологического состояния нижнего участка р. Обь, отмечаются отдельные негативные процессы, обусловленные как климатическим фактором, так и возможно связанные с наличием загрязняющих веществ в воде. В частности отмечено выпадение в 1979 г. из доминирующего комплекса *Asterionella gracillima* представителя чистых вод и появление в 2007 г. в группе структурообразующих видов жгутиковых криптоноад, выносящих повышенное загрязнение. Это вызывает беспокойство о возможных нежелательных последствиях, поскольку в дальнейшем нагрузка на водную экосистему Обского Севера будет только возрастать.

Список литературы

- Киселев И.А. О флоре водорослей Обской губы с приложением некоторых данных о водорослях Нижней Оби и Иртыша // В сб.: Водоросли и грибы Западной Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск. СО АН СССР. 1970. Ч. 1 (3). С. 41-54.
- Куксн М.С., Левадная Г.Д., Попова Т.Г., Сафонова Т.А. Водоросли Оби и ее поймы // В сб.: Водоросли и грибы Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск. СО АН СССР. 1972. Ч. 2(4). С. 3-44.
- Науменко Ю.В. Водоросли фитопланктона реки Оби. Новосибирск. ЦСБС СО РАН. 1995. 55с.
- Семенова Л.А. Альгофлора Нижней Оби в условиях антропогенного воздействия // II Всесоюз. конференция по рыбохозяйственной токсикологии. С-Петербург. 1991. Т. 1. С. 154-155.
- Семенова Л.А., Князева Н.С., Степанова В.Б., Дергач С.М., Алексюк В.А. Среда обитания рыб в низовьях р. Оби и ее эстуариях // В сб.: Биологические ресурсы побережья Российской Арктики. М. ВНИРО. 2000. С. 133-136.
- Семенова Л.А., Науменко Ю.В. Новые данные к альгофлоре Нижней Оби и ее эстуария // Вестник экологии лесоведения и ландшафтоведения. Тюмень. ИПОС СО РАН. 2001. Вып. 1. С. 131-137.
- Семенова Л.А. Современное состояние фитопланктона Нижней Оби // Тезисы докладов международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов». Новосибирск. 2008. С. 347-353.
- Солоневская А.В. Сток фитопланктона Нижней Оби // В сб.: Гидростроительство и рыбное хозяйство в Нижней Оби. Тюмень. СибНИИРХ. 1966. С. 77-91.
- Солоневская А.В. Продуктивность фитопланктона южной части Обской губы и низовий Оби // В сб.: Водоросли и грибы Западной Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск. СО АН СССР. 1972. Ч. 2 (4). Вып. 2. С. 131-137.
- Степанова В.Б. Фауна реликтовых ракообразных (*Malacostraca*) Обской губы // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. Тюмень. ИПОС СО РАН. 2003. Вып. 4. С. 97-105.
- Сушеня Л.М., Семенченко В.П., Вежновец В.В. Биология и продукция ледниковых реликтовых ракообразных. Минск. Наука и техника. 1986. 160 с.

ВОЗДЕЙСТВИЕ СБРОСНЫХ ВОД МИНСКОЙ ТЭЦ-5 НА ЭКОСИСТЕМУ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ

В.Д Сенникова

РУП Институт рыбного хозяйства

*РУП Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству
220024, Минск, Стебенева, 22, Беларусь, borya_mail@mail.ru*

Работа тепловых электростанций (ТЭЦ) связана с использованием для охлаждения конденсаторов огромного количества воды из рек или стоячих водоемов. Обратный сброс в водоемы подогретых вод приводит к изменению термического режима, в результате чего происходят глубокие изменения в жизни водоема. Изучение изменений фауны и флоры под воздействием тепловых электростанций очень важно особенно в водоемах комплексного использования.

Исследования фито- и зоопланктона проводились в рамках темы по изучению влияния теплового и химического загрязнения на экосистему водоема-охладителя Минской ТЭЦ-5. Целью работ было выяснение причин массового «цветения» водохранилища для поиска путей улучшения экологического состояния водоема.

За период с конца декабря по октябрь в фитопланктоне водоема-охладителя ТЭЦ-5 обнаружено 69 таксонов водорослей, большинство из которых относятся к зеленым протококковым - 40 таксонов, диатомовых - 13, сине-зеленых - 10, золотистых - 2, пирифитовых - 2, эвгленовых - 2. Общий уровень развития планктонных водорослей в водохранилище был высоким, что характерно для подогреваемых водоемов (Виноградская, 1971; Гринь, Виноградская, 1968; Пидгайко, 1972; Шаларь, Яловицкая, 1971; Шиманский, 1968). Средняя за сезон численность фитопланктона составила 9.4 млн.экз./л, биомасса – 25.89 мг/л, изменяясь в пределах 6.09-14.05 млн.экз./л и 17.31-35.81 мг/л (таблица 1). Основу фитопланктонного сообщества формировали зеленые водоросли, составляя 77.01-89.59 % среднесезонной численности и 84.17-91.65% биомассы.

Как видно из таблицы 1 и рисунка 1, максимум в развитии фитопланктона наблюдался в районе забора воды для охлаждения, а минимальное значение биомассы имело место на водосбросе. Исследования сезонного развития фитопланктона показали, что в зимний период обилие водорослей было несколько ниже, чем в весенне-летне-осенний периоды, однако в сравнении с неподогреваемыми водоемами уровень численности и биомассы был достаточно высоким. Средняя численность и биомасса фитопланктона в холодное время года на разных участках водохранилища колебалось от 2.37 до 9.82 млн.экз./л, биомасса - от 0.80 до 3.99 мг/л.

Таблица 1. Средняя за сезон численность (N, млн.экз./л) и биомасса (B, мг/л) фитопланктона на разных участках водоема-охладителя Минской ТЭЦ-5

Отделы водорослей	Водозабор		Центр		Земснаряд		Водосброс		Средняя	
	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B
Зеленые	10.90	30.74	4.69	24.7	8.56	20.99	5.94	14.57	7.52	22.75
Сине-зеленые	1.08	1.47	0.56	1.13	0.17	0.21	0.16	0.53	0.49	0.83
Диатомовые	1.92	2.01	0.79	1.01	1.77	2.22	0.78	0.99	1.31	1.71
Пирифитовые	0.09	0.81	0.01	0.11	-	-	0.15	1.22	0.06	0.53
Эвгленовые	0.06	0.18	-	-	-	-	-	-	0.01	0.04
Золотистые	-	-	0.04	0.11	-	-	-	-	0.01	0.03
Итого:	14.05	35.81	6.09	26.95	10.50	23.42	6.63	17.31	9.40	25.89

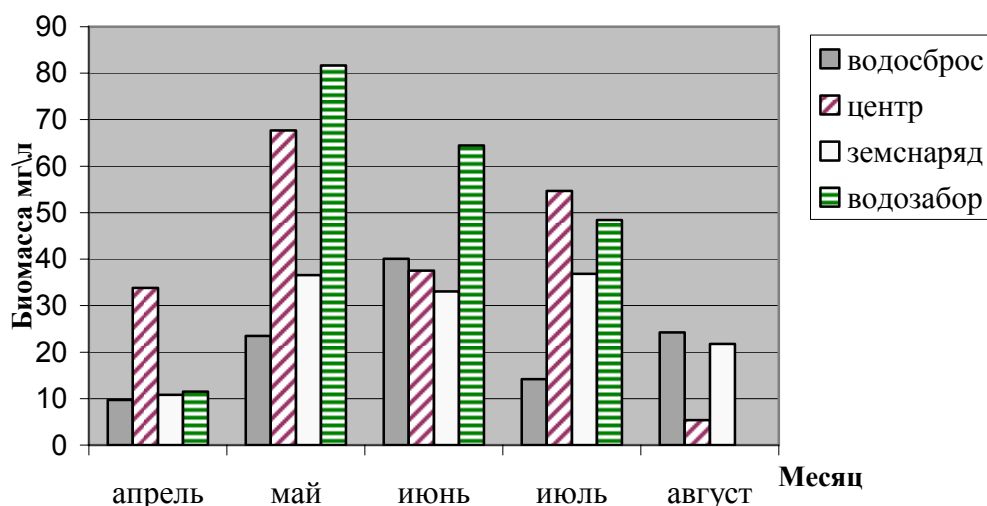


Рисунок 1.-Динамика средних биомасс фитопланктона на разных участках водоема-охлпдителя Минской ТЭЦ-5

Общая численность фитопланктона зимой на разных горизонтах была в пределах 0.16-5.88 млн.экз./л, а биомасса – 0.58-21.71 мг/л. Максимум численности и биомассы фитопланктона отмечен 15 января у земснаряда на глубине 5 м. Высокий уровень развития планктонных водорослей наблюдался также в декабре на глубине 4 м и соответствовал по биомассе 17.02 мг/л, а по численности – 5.01 млн.экз./л. Основу фитопланктона на глубине в данный период времени формировали зеленые водоросли, образуя 68.0 и 59.0% биомассы и 85.7 и 74.8 % численности, соответственно, в январе и декабре. При этом у поверхности фитопланктон был в незначительном количестве, не превышая по биомассе 2.76 мг/л, а по численности 3.0 млн.экз./л. В дальнейшем, вплоть до конца февраля, в водоеме-охладителе ТЭЦ-5 развитие фитопланктона происходило на более низком уровне при равномерном горизонтальном распределении организмов фитопланктона, биомасса не превышала 6.36 мг/л, численность – 1.72 млн.экз./л. Основу фитопланктона формировали более устойчивые к загрязнению зеленые протококковые водоросли рода *Scenedesmus*. Они составляли до 83.8% общей биомассы водорослей и до 64.1% их численности. Но уже в третьей декаде февраля важную роль в фитопланктоне стали играть теплолюбивые виды диатомовых водорослей рода *Melosira* (*M. granulata*), обычно встречающиеся в массе в подогреваемых водоемах, что, вероятно, обусловлено повышением температуры воды. Их доля в общей численности и биомассе в отдельных местах была равной таковой зеленых водорослей. Так, на глубине 2 м у земснаряда 24 февраля они формировали 51.2% общей численности и 33.7% биомассы планктонных водорослей.

В весенний и ранне-летний периоды повышение температуры воды (в апреле -15.9-17.0°, в мае – 18.8-20.2°C и в июне – 25.6-26.2°C) способствовало росту биомассы и численности фитопланктона. При этом уровень развития фитопланктона в водоеме-охладителе по-прежнему был характерным для подогреваемых водоемов. Средняя численность водорослей была достаточно высокой, находясь в пределах 3.3-6.8 млн.экз./л (апрель), 8.0-37.5 млн.экз./л (май), достигнув своего максимума в июне -26.1-47.5 млн.экз./л. Биомасса, соответственно, находилась на уровне 9.71-33.76 мг/л (апрель), 23.45-81.67 мг/л (май) и 33.05-64.45 мг/л (июнь). Весной максимальное скопление фитопланктона отмечено в центральной части водоема, когда численность в среднем составила 6.79 млн.экз./л, а биомасса – 33.79 мг/л. Пик численности (10.25 млн.экз./л) и биомассы (72.66 мг/л) зеленых водорослей наблюдался на глубине 2 м. На остальных участках водохранилища уровень развития фитопланктона в апреле различался незначительно, при этом средняя численность водорослей планктона была в пределах 3.3-5.54 млн.экз./л, биомасса – 9.71-33.79 мг/л. В мае уровень развития фитопланктонного сообщества повысился значительно, составив по численности в среднем 8.0-37.5 млн.экз./л, по биомассе – 23.45-81.67 мг/л. Наибольшее сосредоточение организмов фитопланктона в данный период времени наблюдалось в районе водозабора и центральной части. При этом численность достигла 23.5 и 25.5 млн.экз./л, и биомасса -61.72 и 69.85 мг/л. Доминирующее положение по-прежнему занимали протококковые водоросли *Scenedesmus quadricauda* (89.7% биомассы). Развитие протококкового сценедесмусово-ооцистисового фитопланктона в водоеме-охладителе обусловлено создавшимися для него благоприятными условиями, нормативным содержанием в воде элементов минерального питания и, прежде всего, аммонийного азота в пределах 0.2-0.5 мг/л (апрель: 0.3-0.65 мг/л, май: 0.3-0.56 мг/л). В июне произошло падение концентрации данного компонента ниже нормы, до 0.1-0.4 мг/л, что повлекло за собой смену доминирующего комплекса на другой менее требовательный еще и к

нитратному азоту род *Oocystis*, так как виды рода *Scenedesmus* предпочитают, в основном, для своего минерального питания нитратный азот, содержание которого в апреле-мае было максимально (0.16-0.64 мг/л), а в июне имело место значительное снижение содержания нитратного азота в воде до 0.29-0.35 мг/л. В июне произошло дальнейшее увеличение численности планктонных водорослей в среднем до 26.5-47.5 млн.экз./л, хотя роста общей биомассы не наблюдалось (она составила в среднем 33.05-64.45 мг/л) из-за смены доминанта на более мелкую форму протококковых водорослей. Массовое развитие фитопланктона до стадии «цветения» наблюдалось по всей акватории водоема в поверхностных и глубинных слоях, при этом численность зеленых водорослей изменялась в пределах 14.0-39.0 млн.экз./л при общей – 17.78-62.0 млн.экз./л; биомасса, соответственно, от 27.1 до 53.55 мг/л и от 32.01 до 75.35 мг/л. Максимум численности и биомассы имел место в поверхностных слоях в районе водозабора.

Во второй половине сезона вегетации в водоеме-охладителе сохранился высокий уровень развития планктонных водорослей. На разных участках водохранилища в первой декаде июля численность фитопланктона составляла 4.5-18.5 млн.экз./л, а биомасса – 16.36-89.52 мг/л. К концу месяца произошло некоторое снижение вегетации фитопланктона до 0.87-7.37 млн.экз./л по численности и 2.17-46.48 мг/л по биомассе. Основу фитопланктонного сообщества, по-прежнему, формировали зеленые протококковые водоросли (85.0-93.8%), но доминирующее положение занимали, как и в весенний период, виды рода *Scenedesmus*, а не рода *Oocystis*.

Самый низкий уровень развития фитопланктона имел место, как и в предыдущий период времени, на водосбросе, где проводится охлаждение воды путем разбрызгивания. К снижению развития фитопланктона приводит также нагрев циркуляционной воды на 10-15°C в конденсаторе турбины, при охлаждении маслоохладителей и других теплообменников энергоблока, а также резкое охлаждение её на 10-12°C в брызгальных установках. Кроме того, здесь водорослевые клетки подвергаются механическому травмированию, что не способствует обильному «цветению» воды. При этом численность водорослей планктона не превышала 4.5 млн.экз./л, а биомасса 16.36 мг/л.

Пик численности водорослей планктона в июле (14.0 млн.экз./л) наблюдался в центральной части водоёма и был обусловлен развитием зеленых водорослей (до 95.7%). Значительное скопление водорослей также наблюдалось в районе водозабора на поверхности, где отмечена их максимальная биомасса -89.52 мг/л. Сосредоточение организмов фитопланктона в центральной части и районе водозабора является характерным для данного водоема. В августе и сентябре наблюдалось дальнейшее снижение уровня развития планктонных водорослей, вызванное, прежде всего, резким возрастанием температуры сбрасываемой воды в конце июля до 40°C. При этом средняя численность фитопланктона изменялась в пределах 1.87-4.99 млн.экз./л и 1.62-6.12 млн.экз./л, а биомасса 5.4-24.21 мг/л и 4.70-16.97 мг/л, соответственно. Высокая температура воды в водохранилище в сочетании с механическим травмированием клеток водорослей привели к снижению численности (до 1.87 и 1.62 млн.экз./л) и биомассы (до 5.4 и 4.7 мг/л) фитопланктона в центральной части водоёма, где по-прежнему, доминировали зеленые водоросли (64.0-89.26% биомассы), сине-зеленые водоросли были отмечены только в районе водозабора.

Снижение численности и биомассы фитопланктона в водоеме-охладителе в августе-сентябре, вызванное максимальным повышением температуры сбрасываемой воды, объясняется еще и постепенным перемещением более богатых фитопланктоном масс воды по водоподводящему каналу на ЦНС (центральная насосная станция), в то время, как обеднённые фитопланктоном массы из брызгального бассейна перемещаются к центру водоёма и далее.

В осенний период с понижением температуры воды до 16.2-16.9°C в фитопланктоне водоема-охладителя произошла смена доминирующего комплекса и господствующее положение заняли представители диатомового планктона - *Cyclotella comta*, формируя высокую численность в пределах 7.0 млн.экз./л, биомасса составляла 4.00-7.22 мг/л. Наибольшее обилие фитопланктона в октябре наблюдалось в районе водозабора, где общая биомасса и биомасса диатомовых водорослей были максимальными (15.96 мг/л и 7.27 мг/л соответственно). Роль зеленых протококковых водорослей (*Scenedesmus quadricauda*) в структуре водорослевого планктона по-прежнему была значительной на всех участках водохранилища, где они формировали наряду с диатомовыми основу общей биомассы (42.0-74.2% и 52.5-87.4% соответственно).

Как видно из рисунка 2, зоопланктон в водоеме-охладителе Минской ТЭЦ-5 отличался невысоким уровнем развития на протяжении всего периода наблюдений, биомасса была в пределах 0.01-4.56 г/м³, только в апреле имел место незначительный ее подъем до 2.88-6.85 г/м³. Зоопланктон в зимний период был очень малочислен, что обусловлено низкими температурами воды и слабым развитием для него кормовой базы, прослеживается незначительное увеличение его количественных характеристик к концу февраля и отмечены несколько большие биомассы на станции у земснаряда. В декабре на центральной станции водоема были обнаружены на глубине 10-20 см два вида коловраток

- *Keratella cochlearis* и *Brachionus calyciflorus*, их общая биомасса составляла 0.005 мг/л при численности 3 экз./л. В январе на станции у земснаряда на глубине 10-20 см встречались циклопы и ветвистоусые ракообразные - *Bosmina longirostris* и *Ceriodaphnia quadrangula*.

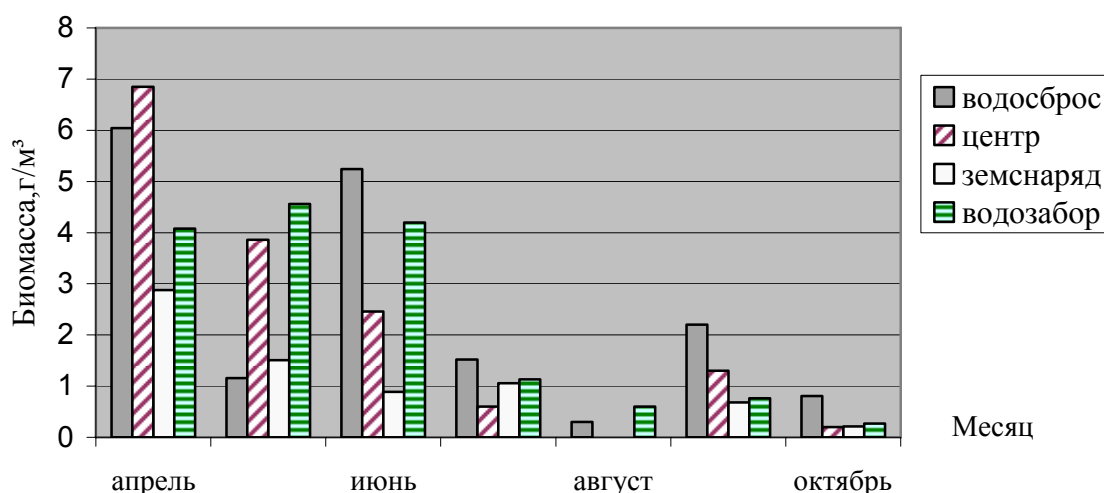


Рисунок 2. Динамика средних биомасс зоопланктона на разных участках водоема-охладителя Минской ТЭЦ-5

Общая биомасса составляла 0.24-0.094 мг/л, численность -2-4 экз./л. В декабре-январе на глубине 2-4 м организмы зоопланктона не были обнаружены. В феврале наблюдалось незначительное увеличение численности зоопланктона на всех станциях и глубинах до 5-100 экз./л. В этот период в планктоне встречались *Bosmina longirostris*, *Cyclops sp.*, *Brachionus angularis*, *Asplanchna priodonta*. Биомассы находились на уровне 0.060-0.214 мг/л и были выше на станции у земснаряда и на глубине до 2 м. На глубине свыше 2 м биомассы зоопланктона составляли 0.007-0.043 мг/л. В теплый период года зоопланктон в водоеме-охладителе ТЭЦ-5 был представлен 17 видами и родами организмов. Из них 9 - ветвистоусых, 1 - веслоногих и 1 - ракушковых ракообразных, 7 - коловраток. На протяжении весеннего периода исследования биомассы зоопланктона имели очень низкие значения и колебались от 0 до 8.44 г/м³ при численности от 0 до 714 экз./л. На этом фоне наилучшее развитие зоопланктона, также как и фитопланктона наблюдалось в центральной части водохранилища на всех горизонтах. Основу биомассы в середине апреля составляли на всех уровнях этой станции *Bosmina longirostris*, *Daphnia cucullata* и *Cyclops sp.* На остальных участках водоема в этот период развитие получили *Bosmina longirostris*, и *Cyclops sp.* В мае в районе водосброса, земснаряда и в центре биомасса зоопланктона едва достигала 0.5-1.9 г/м³ при доминировании коловратки *Brachionus calyciflorus*. В летний период на водосбросе в поверхностном слое и на водозаборе на двухметровой глубине, благодаря развитию *Daphnia cucullata*, биомасса достигла 5.24 и 7.30 г/м³, соответственно. На остальных станциях зоопланктон был представлен циклопами. В июле биомассы опять снизились до 2 г/м³ и ниже, но на двухметровой глубине в районе земснаряда и водозабора появилась *Moina brachiata*, благодаря чему, биомассы выросли до 3.20 и 3.94 г/м³, соответственно. В конце июля и середине августа на поверхности и в толще воды доминировали ветвистоусые ракообразные - *Bosmina longirostris*, *Moina brachiata*, *Polyphemus pediculus*, *Ceriodaphnia quadrangula* и *Ostrocoda*, биомассы в этот период не достигали даже 2 г/м³. На всех станциях по мере увеличения глубины отбора проб биомассы зоопланктона снижались. В сентябре-октябре зоопланктон в водоеме-охладителе ТЭЦ-5 был развит слабо, его биомассы соответственно, находились на уровне 0.31-2.20 г/м³ и 0.13-1.49 г/м³. Наибольшее обилие зоопланктона, как и прежде, наблюдалось в поверхностных слоях.

Проведенные исследования показали, что фитопланктон в водоеме-охладителе развивался интенсивно и был характерным для подогреваемых водоемов. При этом имели место некоторые характерные закономерности: механическое травмирование и резкие изменения (на 10-15°) температуры воды с её подъемом выше уровня резистентности водорослей обусловили невысокий уровень развития фитопланктона на водосбросе, в то же время в центральной части и на водозаборе сохранялись благоприятные условия для вегетации планктонных водорослей, а именно, зеленых

протококковых до стадии «цветения» при биомассах до 86.01 мг/л и с превышением допустимых рыбохозяйственных нормативов (30 мг/л). Зоопланктон же в водоеме-охладителе ТЭЦ-5 был развит слабо, малое видовое разнообразие и низкие биомассы являются следствием теплового загрязнения водоема и большого водообмена при работе энергоблока ТЭЦ. В целом, согласно критериям качества воды, водоем-охладитель Минской ТЭЦ-5 в разные сезоны исследований по развитию фитопланктона можно отнести к классам 4б и 5а - сильно загрязненным и весьма загрязненным (биомасса фитопланктона 10.1-50.0 мг/л и 50.1-100.0 мг/л). Высокие количественные показатели фитопланктона и его качественный состав - доминирование зеленых протококковых водорослей - прекрасного корма для белого толстолобика, указывают на возможность его выращивания в водоеме. По предварительным данным продукция белого толстолобика будет 300-400 кг/га. Кроме того, значительно снизится загрязнение воды фитопланктоном - за сезон толстолобика потребуют 4500-8000 кг/га фитопланктона. По литературным данным экскременты белого толстолобика минерализуются бактериопланктоном быстрее и полнее, чем других видов рыб, и значительно быстрее, чем отмерший фитопланктон. Таким образом, выращивание белого толстолобика в водоеме-охладителе Минской ТЭЦ-5 будет способствовать значительному самоочищению воды.

Список литературы

- Виноградская Т.А. Влияние подогрева на развитие фитопланктона водохранилища-охладителя Кураковской ГРЭС. Гидрохимия и гидробиология водоемов-охладителей тепловых электростанций СССР. Киев: «Наукова думка», 1971. С.136-154.
- Гринь В. Г., Виноградская Т.А. Перегретые воды как фактор формирования фитопланктона в водоемах-охладителях // Цветение воды. Киев: «Наукова думка», 1968. С.150-157.
- Пидгайко М.Л., Гринь В.Г. Гидробиологический режим водоемов – охладителей тепловых электростанций Украины. // Гидробиологический журнал, 1967. Т. 3, №5. С.12-17.
- Шаларь В.М., Яловицкая Н.И. Развитие фитопланктона в Кучурганском лимане - охладителе Молдавской ГРЭС // Гидрохимия и гидробиология водоемов-охладителей тепловых электростанций СССР. Киев: «Наукова думка», 1971. С.117-135.
- Шиманский Б.А. Биологические помехи в эксплуатации систем технического водоснабжения тепловых электростанций и методы борьбы с ними. // Гидробиологический журнал, 1968. Т. 4, №2. С.2-4.

ВЫСШАЯ ВОДНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ И ЗООПЕРИФИТОН МАКРОФИТОВ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АЭС (САРАТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Е.Э. Сони́на

*Саратовское отделение ФГНУ ГосНИОРХ
г. Саратов, ул. Чернышевского, 152, Россия, eesonina@rambler.ru*

Управление процессами зарастания водоемов-охладителей атомных и тепловых электростанций высшей водной растительностью (ВВР), регулирование видового состава и количественного развития макрофитов является необходимым условием обеспечения безопасности производства электроэнергии. Чрезмерное развитие ВВР может привести к нарушениям нормального водоснабжения АЭС, уменьшению площади активной зоны, необходимой для охлаждения воды. С другой стороны, растительность играет огромную роль в процессах самоочищения водоемов, задерживая поверхностный сток загрязненных вод, накапливая и осаждая токсиканты из толщи воды. Подогретые воды атомных и тепловых электростанций, спускаемые в пруды-охладители, увеличивают прогрев нижних слоев воды и грунтов по сравнению с природными водоемами и оказывают на ВВР многогранное и неоднозначное действие: ускоряют разложение органических веществ, стимулируют потребление биогенов, что приводит к удлинению вегетационного периода и, соответственно, к более раннему весеннему развитию и наступлению фенологических фаз, вплоть до отмирания (Катанская, 1979).

Изучение ВВР водоема-охладителя Балаковской атомной электростанции (БАЭС) проводилось в течение вегетационного сезона 2007 г. – на р. Березовке, в месте расположения насосной станции подпитки, и трех типовых мелководных водоема-охладителя БАЭС, различающихся по температурному режиму: мелководные зоны максимальных температур (ЗМТ) (26-38°C), средних температур (ЗСТ) (22-23°C) и низких температур (ЗНТ) (18-20°C).

Исследования растительности проводили по методике В.М.Катанской (Катанская, 1956, 1981) с некоторыми изменениями. Для изучения фитомассы использовали метод пробных площадок, укусы отбирали с 0,25 м² в двукратной повторности. Для определения интенсивности зарастания

рассчитывали показатель степени зарастания водоема: отношение площади зарослей к общей площади акватории, выраженное в процентах (Папченков, 2001). Расчет площади зарослей производили по картам космосьемки с привлечением натурных исследований.

Параллельно с описанием ВВР изучали беспозвоночных зооперифитона макрофитов. Пробы отбирали по общепринятым методикам с некоторыми изменениями (Методика изучения..., 1975). При отборе проб с прибрежноводной растительности осторожно удаляли надводную часть стеблей и листьев. Подводную часть срезали ножницами на глубине 40-60 сантиметров и переносили в склянки. Короткие побеги погруженной растительности отбирали целиком, длинные побеги обрезали ножницами до длины 30-40 см и помещали в стеклянные емкости объемом 250 мл. Пробы фиксировались 4% раствором формалина. В лаборатории растения тщательно очищали от оброста, просматривали под биноклем и после обсушивания на фильтровальной бумаге взвешивали на весах CAS MV-150T с точностью измерения до 0,005 г. Средний размер навески макрофитов составлял 15-30 г воздушно-сухого веса. Содержимое пробы концентрировали путем фильтрации, затем помещали в чашку Петри и просматривали под биноклем. Биомассу макрозооперифитонных организмов определяли на торзионных весах после обсушивания на фильтровальной бумаге до исчезновения следов влаги, микрозооперифитонных организмов - расчетным методом с использованием литературных значений средних весов. Определяли видовой состав макрофауны обрастателей. Расчет количественных показателей развития зооперифитона производили на килограмм воздушно-сухой фитомассы макрофитов (Зимбалева, 1981).

Для сравнения сообществ обрастателей разных мест обитания рассчитывали индекс видового сходства (показатель Серенсена), представляющий собой отношение удвоенного числа общих для обоих биоценозов видов к сумме видов, встречающихся в каждом из сообществ (Константинов, 1986).

Вдоль всей береговой линии водоема заросли прибрежноводной ВВР образуют сплошную полосу шириной от 5 до 300 м. Наибольшие площади (табл.1) растительность занимает на мелководных прибрежных участках, удаленных от основного потока выпускаемой горячей воды, в так называемой «мертвой» зоне водоема. Значительная часть зарослей ВВР сосредоточена вдоль разделительной струенаправительной дамбы со стороны смещения потоков (ширина зарослей до 200 м), а также на островах, расположенных в центральной части водоема. На островных мелководьях ЗСТ образуются сплавины.

Таблица 1. Площадь зарослей прибрежной растительности на различных участках водоема-охладителя БАЭС

Местоположение зарослей в водоеме-охладителе	Площадь, км ²
вдоль берегов	1.7
вдоль струенаправительной дамбы	0.5
островные заросли	0.25
Всего	2.45

Показатель степени зарастания водоема составляет 10-12%, что позволяет классифицировать водоем-охладитель БАЭС как слабо или умеренно заросший (Папченков, 2001).

Границы распространения погруженных растений тесно связаны с глубиной, на которой процессы фотосинтеза и дыхания по интенсивности уравниваются друг друга - «компенсационной глубиной». На ее смещение (при одинаковой освещенности) влияют температура и прозрачность воды (Биоцино, 1985). Обычно, глубинная граница зарастания водоемов-охладителей превышает величину прозрачности по диску Секки приблизительно в 1.3 раза (Катанская, 1979). Прозрачность воды в водоеме-охладителе БАЭС колебалась от 0.2 м на мелководьях ЗМТ до 1.5 м на р. Березовке и мелководьях ЗНТ, поэтому максимальные расчетные глубины распространения водной растительности не должны превышать 2 м, что и соответствовало результатам натурных исследований.

По нашим наблюдениям повышенные температуры (благодаря низкой прозрачности воды) не оказывают явного стимулирующего действия на зарастаемость водоема-охладителя ВВР по сравнению с природными водоемами аналогичного типа в степной климатической зоне. Возможно, это связано с тем, что в поверхностных слоях, где освещенность достаточна, повышение температуры интенсифицирует и фотосинтез, и дыхание, повышая общий уровень метаболизма. В нижних горизонтах, при слабой освещенности, повышенная температура увеличивает интенсивность дыхания, практически не влияя на фотосинтез, что приводит к постоянному сдвигу «компенсационной глубины» в сторону уменьшения, в конечном итоге сокращая предел глубинного распространения растений в подогретых водах. Таким образом, зарастание водоемов-охладителей погруженной растительностью по глубине не достигает тех пределов, которых оно достигло бы при естественном температурном режиме (Биоцино, 1985).

Доминирующий вид прибрежноводной растительности в водоеме-охладителе БАЭС – *Phragmites communis* (Cav.) Trin ex Steud, образующий сплошные моновидовые заросли с проективным покрытием (ПП) 100% на всех мелководьях водоема. Тростник накапливает в течение вегетационного сезона значительную фитомассу: сырой вес достигает 6 кг/м², абсолютно-сухой – 2.9 кг/м². На островных мелководьях ЗСТ отмечены куртины *Typha angustifolia* L.

Potamogeton perfoliatus L. – доминирующий вид погруженной растительности, образующий как чистые моновидовые заросли, так и смешанные сообщества с *Myriophyllum spicatum* L., с единичными вкраплениями *Ranunculus circinatus* Sibth. и *Urticularia*, ОПП – 40%. Рдест отличается высокой поглотительной способностью и для образования единицы фитомассы поглощает больше минеральных элементов (калия, кальция, натрия, магния, марганца и хлора), чем тростник (Якубовский, Мережко, 1982).

Однако после отмирания и разложения тростника и рдеста в воду поступают самые различные соединения: растворимые формы азота, лигнин, гуминовые вещества. Некоторая часть веществ, образующихся при разложении ВВР, оседает на дно и входит в состав донных отложений, обогащая их лигнином, клетчаткой, гемицеллюлозой. Поэтому, отмирание и разложение ВВР может привести к накоплению органических и биогенных веществ, ухудшению кислородного режима и вторичному загрязнению воды.

Все изменения, происходящие с водной растительностью, в первую очередь отражаются на организмах зооперифитона, ассоциированных с макрофитами. В пробах зооперифитона всего нами было определено 38 видов беспозвоночных, из них наиболее обычными были: раковинные амёбы *Arcella discoides* Ehrenberg, 1872, олигохеты *Stylaria lacustris* (Linnaeus, 1767), *Chaetogaster diaphanus* (Gruith., 1828), личинки хирономид *Cricotopus (I.) gr. silvestris* (Fabricius, 1794), нематоды, молодь двустворчатых моллюсков р. *Dreissena*. На стеблях тростника, произрастающего на «холодном» мелководье, обнаружен солоноватоводный колониальный полип *Cordylophora caspia* (Pallas, 1771), не встреченный ранее в водоемах Саратовской области.

Количество видов-обрастателей на макрофитах в р. Березовке (20) меньше, чем на «холодных» мелководьях водоема-охладителя (28). Расчет индекса видового сходства Серенсена (табл.2) подтверждает, что сообщества зооперифитона тростника из разных мест обитания водоема-охладителя и р. Березовки близки по видовому составу, значение индекса высокое – 0.438-0.550. Сильнее различаются сообщества беспозвоночных, ассоциированных с прибрежноводной и погруженной растительностью (0.308-0.412), что объясняется естественными причинами, не связанными с влиянием антропогенного фактора: различием в глубинах произрастания, структуре и плотности зарослей, морфологии листовых пластинок, биохимическом составе макрофитов и т.д. (Сонина, 2003; Малинина, Сонина, Шашуловский, 2003).

Таблица 2. Показатель видового сходства Серенсена зооперифитонных сообществ макрофитов р.Березовки и водоема-охладителя БАЭС.

Зона	р.Березовка тростник	ЗМТ тростник	ЗНТ тростник	ЗНТ уруть
р.Березовка тростник	-	0.438	0.550	0.412
ЗМТ тростник	0.438	-	0.500	0.308
ЗНТ тростник	0.550	0.500	-	0.353
ЗНТ уруть	0.412	0.308	0.353	-

В зоне выпуска горячих вод в пробах не обнаруживались кишечнополостные, коловратки, гаммариды, многие виды хирономид, брюхоногие моллюски. В водоеме-охладителе по сравнению с р.Березовкой резко возросла численность организмов, показателей высокой трофности: нематод, олигохет. Значительной численности достигают мшанки – до 700 экз/кг, молодь дрейссены – до 360 экз/кг. Количественные показатели развития зооперифитона представлены в таблице 3.

Таблица 3. Количественные показатели развития зооперифитона

Зона	Численность, тыс.экз/кг	Биомасса, г/кг
р.Березовка тростник	16.3	1.82
ЗМТ тростник	18.6	0.80
ЗНТ тростник	68.1	2.84
ЗНТ уруть	41.1	1.57

По литературным данным (Жгарева, Мордухай-Болтовской, 1979; Кафтанникова, Протасов, 1980; Протасов, Стародуб, Афанасьев, 1983) и нашим исследованиям, повышенная температура

оказывала влияние не столько на качественный состав сообществ, сколько на количественные характеристики: обилие организмов, перераспределение доминантов, а также на процессы размножения и роста. Результатом воздействия подогрева воды на зооперифитонные биоценозы является некоторое повышение обилия весной и осенью, заметное угнетение летом, особенно в самое жаркое время и существенное понижение средней биомассы.

Таким образом, за исследуемый период в техногенном водоеме-охладителе БАЭС не выявлено явного стимулирующего или угнетающего действия повышенных температур на ВВР и отмечено преимущественное воздействие на количественные показатели развития зооперифитона. Однако уменьшение полезной площади водоема-охладителя за счет зарастания мелководий ВВР может существенно снизить экологическую безопасность АЭС при введении в действие новых энергоблоков.

Список литературы

- Биоцино А.А. Действие подогретых вод ГРЭС на высшую водную растительность / Водные сообщества и биология гидробионтов. Л.: Наука, 1985. С. 3-12.
- Жгарева Н.Н., Мордохай-Болтовской Ф.Д. Влияние подогретых вод Конаковской ГРЭС на фитофильную фауну рдестов Иваньковского водохранилища // Гидробиологический журнал, 1979. №6. Т.XV. С. 40-45.
- Зимбальская Л.Н. Фитофильные беспозвоночные равнинных рек и водохранилищ. Киев: Наукова думка, 1981. 215 с.
- Катанская В.М. Методика исследования высшей водной растительности // Жизнь пресных вод СССР. М.-Л. Т.4. Ч.1. 1956. С. 160-182.
- Катанская В.М. Растительность водохранилищ-охладителей тепловых электростанций Советского Союза. Л.: «Наука», 1979. 279 с.
- Катанская В.М. Высшая водная растительность континентальных водоёмов СССР: Методы изучения. Л.: Наука, 1981. 187 с.
- Кафтанникова О.Г., Протасов А.А. Влияние подогретых сбросных вод тепловой электростанции на развитие зооперифитона // Гидробиологический журнал, 1980. №4. Т.XVI. С. 118-119.
- Константинов А.С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа, 1986. 472 с.
- Малинина Ю.А., Сонина Е.Э., Шаиуловский В.А. Зоофильные сообщества мелководной зоны Волгоградского водохранилища // Тез. докл. II Междун. научн. конф. «Биоразнообразие и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах» 28-31 октября 2003 г., Днепропетровск. Днепропетровск, ДНУ, 2003. С. 269-271.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М., «Наука», 1975. 240 с.
- Папченко В.Г. Растительный покров водоемов и водотоков Среднего Поволжья. Ярославль: ЦМП МУБиНТ, 2001. 200 с.
- Протасов А.А., Стародуб К.Д., Афанасьев С.А. Видовой состав зооперифитона водоема-охладителя Чернобыльской АЭС // Гидробиологический журнал, 1983. №2. Т.XIX. С. 51-55.
- Сонина Е.Э. Зооперифитон макрофитов двух пойм Волгоградского водохранилища // Матер. докл. X молодежной научн. конф. «Актуальные проблемы биологии и экологии» 15-17 апреля 2003 г. Сыктывкар, Республика Коми, Россия. Сыктывкар, 2003. С. 204-205.
- Якубовский К.Б., Мережко А.И. Самоочищение вод в зависимости от физиологических особенностей высших водных растений // Гидробиологический журнал, 1982. Т.XVIII. №2. С. 62-68.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ САПРОБНОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД

Н.Е. Суппес

*Ишимский государственный педагогический институт им. П.П.Ершова
Тюменская обл., г. Ишим, ул.Ленина 1, Россия, natalya-suppes@yandex.ru*

Все существующие установки для очистки сточных вод основаны на биологическом самоочищении, протекающем в природных водоемах. Этот процесс происходит непрерывно в окружающей среде и является частью общего процесса круговорота веществ и превращения энергии, без которых жизнь на земле была бы невозможна.

Люди, издавна селившиеся на побережьях водоемов, особенно рек, заметили, что при сбросе в воду загрязнений – продуктов их деятельности – реки быстро восстанавливают свои первоначальные свойства. Это явление и называется естественным, или биологическим, самоочищением, которое человечество использовало чисто практически, сбрасывая в воду все отходы. Водоемы легко справлялись с таким загрязнением, восстанавливая свои свойства пока численность населения была не большой, а отходы были представлены естественным органическим веществом, поддающимся

полной или почти полной минерализации. Однако, рост населения, развитие процесса урбанизации и промышленности привели к тому, что реки перестали справляться с поступающими загрязнениями, а вода стала непригодной ни к питьевому, ни даже к промышленному использованию. Было нарушено равновесие между количеством поступающих в водоем загрязнений и его способностью к биологическому самоочищению.

Таким образом, биологическое самоочищение водоемов – это сложный комплексный процесс, в котором главную роль играют живые организмы, а также химические и физические факторы среды. Суть его заключается в постепенной минерализации поступающего органического вещества до стабильных элементарных соединений.

Различают естественное и искусственное загрязнение водоемов. Под **естественным**, или **автохтонным**, загрязнением называют поступление в водоем органических веществ: продуктов жизнедеятельности населяющих его организмов и постепенного распада их трупов. В результате минерализации органических веществ составляющие их биогенные элементы снова входят в круговорот веществ данного водоема и служат для построения тел новых, живых организмов.

Искусственным, или **аллохтонным**, загрязнением называют поступление в водоем посторонних для него веществ (не только органических), сбрасываемых в результате хозяйственной и производственной деятельности человека. Эти сточные воды соответственно разделяют на бытовые и промышленные.

Бытовые сточные воды по своему составу близки к продуктам естественного загрязнения и поэтому легко подвергаются распаду как в водоемах, так и на искусственных биологических очистных сооружениях, на которых используется процесс естественного самоочищения.

В процессе самоочищения наряду с биологическими большую роль играют физические и химические факторы. К физическим факторам можно отнести: осаждение взвешенных веществ, перемешивание или турбулентность, температуру, свет и другие.

Из химических факторов главную роль играет несомненно кислород, обуславливающий не только развитие организмов, но и непосредственно участвующий в процессе окисления веществ. При минерализации органических веществ и при дыхании живых организмов образуется углекислота (CO_2), необходимая для зеленых растений. Другими токсическими газообразными продуктами распада являются сероводород (H_2S), метан (CH_4) и другие вещества. Каждой ступени биологического самоочищения свойственен свой комплекс живых организмов в сочетании с определенными физико-химическими условиями, по которым можно судить о степени чистоты воды и пригодности ее для использования человеком. На этом построен принцип биологической оценки вод и контроля за работой очистных сооружений.

В современных условиях растущего загрязнения окружающей среды большое значение приобретает изучение биоиндикаторных способностей живых организмов. Контроль за состоянием качества поверхностных вод в первую очередь важен для разработки эффективных мер по их использованию и для принятия управленческих решений относительно водных ресурсов. Эти решения должны основываться на научно обоснованной оценке текущего состояния и основных тенденций в изменении качества водных ресурсов.

Гидробиологические показатели являются важнейшим элементом системы контроля загрязнения водной среды. Контроль окружающей природной среды по гидробиологическим показателям является высоко приоритетным с точки зрения обеспечения возможности прямой оценки состояния водных экологических систем, испытывающих вредное влияние антропогенных факторов (Израэль, Абакумов и др., 1981).

В системе гидробиологической службы наблюдений и контроля поверхностных вод используются в качестве индикаторов качества вод: бактерии, простейшие, водоросли, макробеспозвоночные и рыбы. Каждая группа этих организмов в качестве биоиндикатора имеет свои преимущества и недостатки, которые определяют границы ее применения при решении тех или иных задач биоиндикации (Абакумов, Качалова, 1981).

В настоящее время определено, что инфузории служат хорошими индикаторами степени загрязнения водоемов. Исследования показывают, что они первыми реагируют на всякое изменение в водной среде, эта способность простейших находит признание у специалистов гидробиологов.

Система сапробности, разработанная Р. Кольквитцем и М. Марссоном (Kolkwitz, Marsson, 1909), претендует на быструю и емкую оценку типа водоема в зависимости от соотношения обилий отдельных видов индикаторных организмов. Их принцип деления водоемов на олигосапробные, альфа-сапробные, бета-сапробные, полисапробные нашел широкое применение в европейских странах. Система сапробности учитывает нетоксические органические загрязнения, которые влияют на организмы через изменение кислородного режима. Списки организмов-индикаторов сапробного состояния постепенно пополняются, уточняется принадлежность отдельных видов к тому или иному

разряду сапробности. Для оценки качества вод по сапробности гидробионтов используют метод Пантле и Бука (Pantle, Buck, 1955).

В период с 2005г. по 2007г. проводились исследования водоемов Ишимского и Казанского районов с целью определения степени сапробности с помощью инфузорий-индикаторов сапробного состояния вод. По количеству видов доминирующим явилось семейство *Vorticellidae*, а наибольшей численностью в изучаемых пробах, характеризуются такие виды как: *Vorticella picta*, *V. convallaria*, *Holophrya nigricans*, *Paramecium caudatum* (полисапроб и альфа-мезосапробы). Расчеты показали, что исследуемые водоемы характеризуются индексами сапробности в пределах от 2,6 до 3,6, что свойственно для альфа-мезосапробной (озеро Аникино-3,3; река Мergenья-3,3; река Ишим (заводь)-2,6; озеро Б.Яровское-3,2; озеро М.Яровское-3,4; озеро Кабанье-2,75; озеро Полковниково-3,5) и бета-мезосапробной зоны (река Карасулька- 2,5; река Ишим (участок с сильным течением)- 2,2; озеро Песчаное-2). По шкале разработанной Пантле и Буком, водоемы относятся к категории умеренно и к водоемам сильно загрязненным органическим веществом с недостатком кислорода. Большое количество видов альфа-мезосапробов и полисапробов может быть следствием: во-первых, хозяйственной деятельности человека (население проживает в непосредственной близости рек и озера Аникино), а во-вторых некоторые водоемы значительно обмелели за последние года и наблюдается интенсивное их зарастание водной растительностью. Кроме того, большая часть проб была взята в осенний период, когда многие гидробионты уже отмирают и вода насыщается органикой. Что касается реки Ишим (ее проточной части) и реки Карасулька, то здесь индекс сапробности значительно меньше – 2,2 и 2,5 соответственно, согласно предварительным исследованием, решающим фактором здесь явилась несколько большая скорость течения воды.

Качество вод можно оценивать не только по количественной и качественной структуре ценозов индикаторов, но и по изменениям физиологических и биохимических реакций гидробионтов. Исследования внутривидовой морфо-физиологической изменчивости инфузорий рода *Vorticella* показали, что эти инфузории обладают высокой пластичностью. Такие показатели условий среды как: БПК₅, pH, температура и содержание растворенного в воде кислорода оказывают влияние на морфо-физиологическую изменчивость – изменение темпов деления, угнетение фагоцитоза, нарушение осморегуляционных процессов, изменение конфигурации клеток. В частности, уменьшение органического загрязнения в среде сопровождается уменьшением размеров тела и увеличением относительной ширины перистомы. При хроническом недостатке кислорода, либо в случае попадания токсических веществ в водоем у сувойки отпадает ножка, которой она крепится к субстрату, на заднем конце тела отрастает венчик – образуется «бродяжка», которая отправляется искать более благоприятное место.

Список литературы

- Абакумов В.А., Качалова О.Л. Зообентос в системе контроля качества воды - В кн.: научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям. Труды Всесоюзной конференции. Л.: Гидрометеиздат. 1981. С.81-116.
- Израэль Ю.А., Абакумов В.А. Об экологическом состоянии поверхностных вод СССР и критериях экологического нормирования // Экологические модификации и критерии экологического нормирования. Л.: Гидрометеиздат, 1981. С. 7-18.
- Kolkwitz R., Marsson M. Ökologie der tierischen Saprobien. Intern. Rev. Ges. Hydrobiol. U. Hydrogr., 1909, Bd 2, S.152.
- Pantle R., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse.-Gas-und Wasserfach, 1955, Bd 96, N 18. S.604.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МОДЕЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМ В ФАЗОВОМ ПРОСТРАНСТВЕ «ПРОДУКЦИЯ-ДЕСТРУКЦИЯ» В НАТУРНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.М. Трофимчук

Гидрохимический институт

344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 198, Россия, ghi5@aanet.ru

Непрерывно возрастающее количество загрязняющих веществ, производимых промышленностью, трансформации которых при попадании в водные объекты, а, следовательно, и негативные последствия невозможно предсказать, с одной стороны и ограниченность многочисленных систем биоиндикации, с другой стороны, побуждают к поиску обобщенных параметров, характеризующих состояние водных экосистем.

Процесс трансформации солнечной энергии экосистемой является естественным интегрированным процессом. Закономерно предположить, что характеристики этого процесса могут выступать в качестве параметров состояния экосистемы в целом.

«Экология, по сути дела, изучает связь между светом и экологическими системами и способы превращения энергии внутри системы» (Ю.Одум,1975). Характеристиками такой связи, согласно представлениям Одума, может быть выбрано отношение общего дыхания биологического сообщества к его суммарной биомассе, R/V , что тождественно отношению затрат энергии на поддержание жизнедеятельности системы к энергии, заключенной в структуре биосистемы (Одум Ю.1975). Это отношение можно рассматривать, как следствие, в качестве меры термодинамической упорядоченности экосистемы.

Мы использовали в качестве термодинамического критерия состояния экосистемы отношение продукции (P), а не биомассы, к деструкции (R) - P/R . Эти показатели, являясь индикаторами интегральных свойств водных экосистем, могут характеризовать экосистему в целом и рассматриваться уже как параметры экосистемы в случае холистического подхода (Ю.Одум,1975).

Используя эти параметры состояния, можно следить за направленностью процессов, происходящих в экосистемах, по траекториям, построенным в пространстве этих параметров: продукция P, деструкция R. Следовательно, фазовые портреты, построенные в этих координатах, могут характеризовать состояние экосистемы.

Для исследования внутриводоемных процессов с различными целями и при решении широкого круга вопросов используют метод натурного моделирования с применением искусственных водных экосистем – мезокосмов – один из эффективных методов наблюдения за внутриводоемными процессами, при изучении воздействия на эти экосистемы как антропогенных, так и природных факторов. Этот метод, позволяет организовать внутриводоемные процессы в идентичных экосистемах, с отличающимися начальными условиями, контролируемые условиями воздействия на экосистемы, но протекающие при одинаковых внешних условиях (Никаноров и др., 1988).

В июле-августе 2007 года в течение 22 суток на зимовальном рыбоводном пруду, заполняемом из р. Дон был проведен натурный эксперимент с мезокосмами для накопления информации о физико-химических и биологических показателях состояния водных экосистем при поступлении в эти экосистемы соединений металлов.

Было установлено 5 мезокосмов унифицированной конструкции, объемом 4 м^3 при глубине 1,5 м, позволяющих выделять объем воды от поверхности до дна. Изолирующим материалом служила полиэтиленовая пленка толщиной около 100 мкм. Основание из пластика углубляли в дно водного объекта, на поверхности пленка удерживалась пластиковым кольцом диаметром 2 м, закрепленным на шпалерах.

Антропогенное воздействие моделировали внесением соединения кадмия. Концентрации кадмия во всех мезокосмах значительно превосходили ПДК ($\text{ПДК}_{\text{р/хоз}}$ для Cd – 5 мкг/дм^3), и варьировали как по величине, так и по периодичности воздействия (табл.1).

Таблица 1. Условия нагрузки мезокосмов.

Номер мезокосма	Концентрации Cd^{2+} , мкг/дм^3	Количество $\text{ПДК}_{\text{р/хоз}}$	Режим и сроки внесения, сут.
1–контроль	не вносились	0	не вносились
2	250	$50+20+20+20+20=130$	В 1, 3, 6, 8, 10 сут.
3	500	100	однократно в 1-е сутки
4	750	150	однократно в 1-е сутки
5	500	100	однократно в 1-е сутки

Ежедневно измеряли концентрацию растворенного кислорода, температуру воды, прозрачность, определяли продукцию и деструкцию органического вещества, проводили спектрометрические измерения (измеряли спектры яркости восходящего от воды излучения), определяли концентрации металла в фильтрованных и нефилтрованных пробах воды. Один раз в пять дней отбирали пробы воды для определения видового состава, численности и биомассы фитопланктона и зоопланктона.

Продукцию и деструкцию органического вещества определяли по общеизвестной методике по изменению концентрации растворенного кислорода в замкнутых светлых и темных сосудах (Руководство..., 1992). Как правило, определение продукции и деструкции

проводят с использованием склянок объемом 150-250 см³. Процедура отбора пробы и заполнения склянок, их ограниченный объем зачастую приводят к ошибкам. Кроме этого, измерения, проводимые в склянках, не учитывают величину деструкционных процессов, протекающих в донных отложениях и придонном микрослое воды. Чтобы исключить эти недостатки традиционного варианта методики, в качестве сосудов для экспозиции были использованы пластиковые трубки, прозрачные и темные, диаметром 50 мм. Измерение концентрации растворенного кислорода проводили *in situ* в среднем горизонте на глубине 70-75 см, соответствующей величине фотического слоя воды в используемом водном объекте. Трубки нижним концом заглубляли в дно с таким расчетом, чтобы верхний конец сравнять с поверхностью воды, после чего герметично закрывали. Таким образом, для экспозиции вырезали столб воды от поверхности до дна объемом около 3 дм³ с включением донных отложений. Трубки экспонировали в течение суточного цикла, часовую продукцию рассчитывали после экспозиции светлых трубок в течение 8 часов с 9 до 17 часов, чтобы охватить максимум величины продукции в суточном цикле и в период практически линейного роста продукции фитопланктона. Величину часовой деструкции рассчитывали, исходя из суточной экспозиции темных трубок. Концентрацию растворенного кислорода измеряли с помощью анализатора растворенного кислорода «МАРК-302Э».

Кадмий определяли методом атомной адсорбции с электротермической атомизацией на приборе «Квант Z-эта». Чувствительность определения составляла 0,1 мкг/дм³.

Если принять продукцию и деструкцию в качестве параметров состояния экосистемы, то по данным о величинах продукции и деструкции возможно построить Р-Р пространство, где по осям отложены значения продукции и деструкции. Внутриводоемные процессы в пространстве «продукция-деструкция» изображают в виде фазовых траекторий, рис. Фактор времени отражается на этих диаграммах в виде последовательности точек.

На всех диаграммах рис. фазового Р-Р пространства отчетливо выделяются три области, в которых наблюдаются циклические изменения и Р и R показателей. Первая область формируется в первые пять суток эксперимента и характеризуется значительным превышением процессов продуцирования над деструкцией. Средние значения величины продукции составляют 0,4 – 0,6 мг О₂/дм³·час, при средних значениях величины деструкции 0,2 – 0,3 мг О₂/дм³·час. Вторая область, сформированная в 6-9 день, представляет собой резкое изменение наблюдаемых параметров. Затем, начиная с 10 суток, формируется третья область. Р-Р траектории областей имеют сходный характер для 3 и 5 мезо космов, в которые были внесены одинаковые количества токсиканта и 4, где расчетная концентрация была в 1,5 раза выше. Заметно отличается от них фазовая траектория 2 мезокосма. Очевидные отличия от всех загрязненных мезокосмов проявляются в контрольном мезокосме №1. Здесь нет такого значительного удаления третьей области от исходной; области частично перекрывают друг друга, что может свидетельствовать о том, что в отсутствие токсического воздействия возврат системы к состоянию близкому с исходным происходит быстрее. В фазовом пространстве материнской экосистемы также выявлено три области, однако, временные параметры их формирования отличны от экспериментальных экосистем.

Положение каждой области в пространстве «продукция – деструкция» может быть определено вектором, проведенным из начала координат в точку равновесия – точку, имеющую средние координаты точек формирования области. Этот Р–R-вектор можно предложить в качестве «интегральной» количественной характеристикой состояния экосистемы. Одна из характеристик вектора - тангенс угла наклона, α , определяется, как Р/В отношение: продукции к деструкции. Когда величины продукции и деструкции равны, достигается оптимальный баланс вещества и энергии в экосистеме и $tg\alpha$ становится равным 1. Близкие к единице величины годового баланса (с незначительным превышением продукции над деструкцией) рассчитанные в среднем для биосферы и крупных экосистем, не подверженных локальным антропогенным воздействиям могут быть приняты за «абсолютную» норму функционирования живых систем(Ю.Одум,1975; Бульон,1983). Отклонения от этой нормы могут быть вызваны естественными причинами и проявляться в виде суточных, сезонных, сукцессионных колебаний, а могут отражать негативное воздействие антропогенных факторов, что подтверждается результатами эксперимента (табл.2).

-

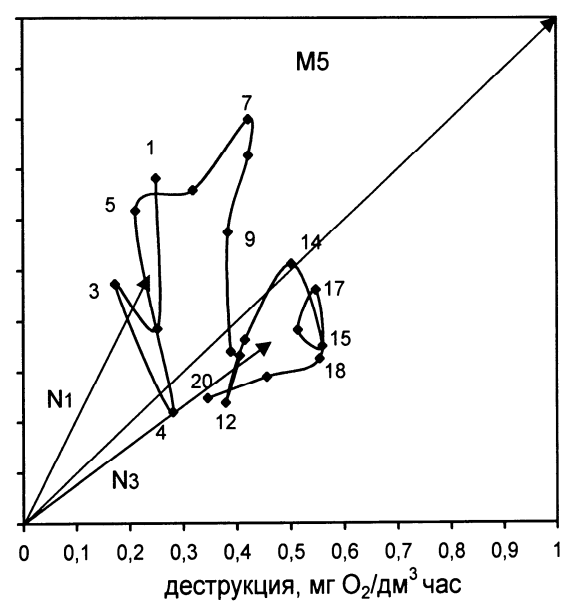
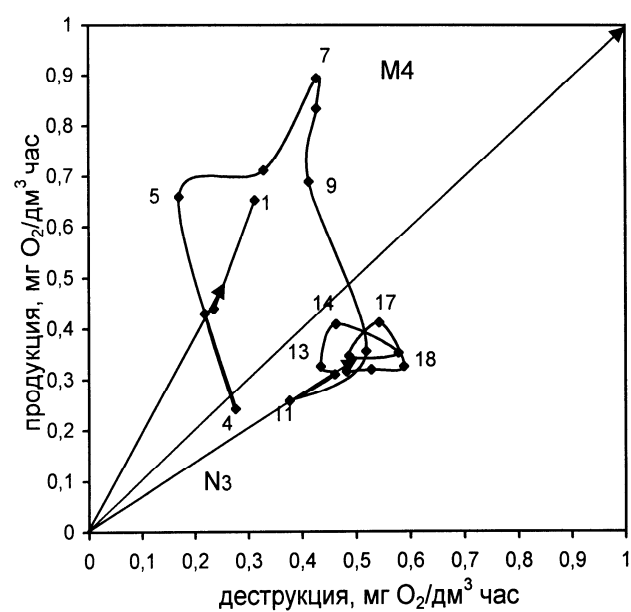
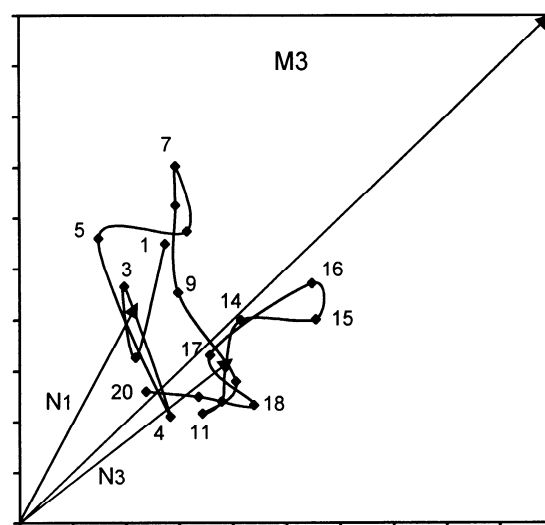
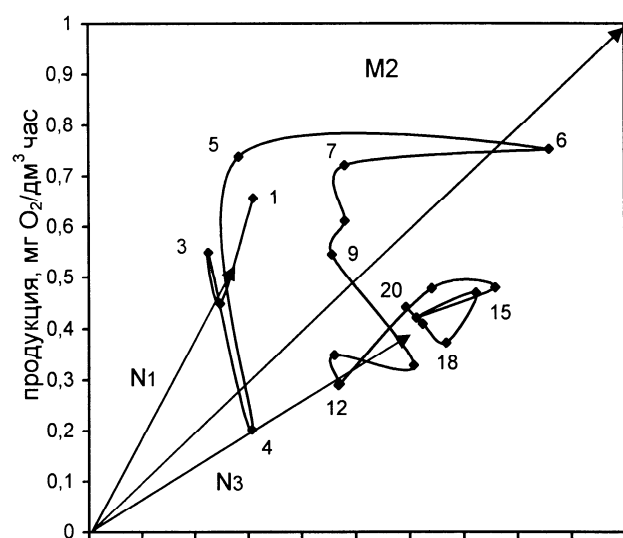
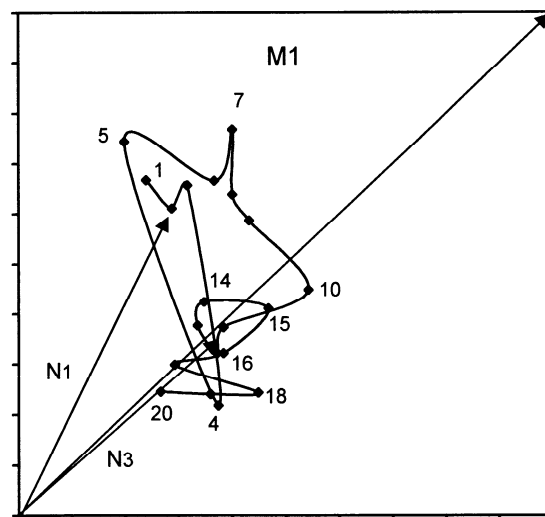
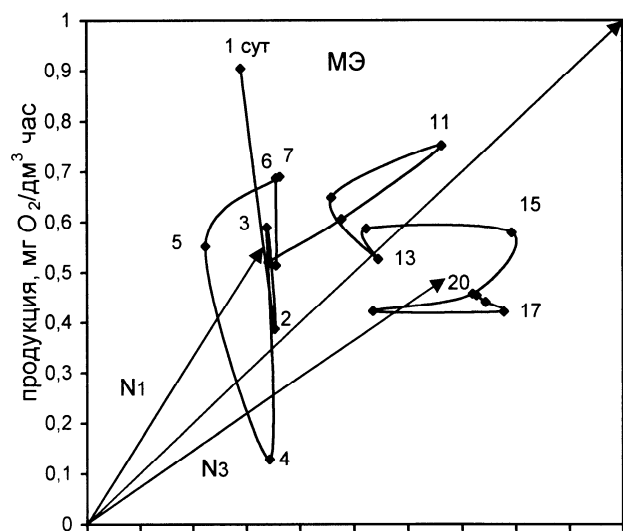


Таблица 2. Характеристики векторов в Р–R пространстве

Параметры	Мезокосмы					
	Материнская экосистема	М-1 контроль	М-2	М-3	М-4	М-5
$tg\alpha_1$	1,68	2,04	1,89	1,88	2,00	2,04
$tg\alpha_2$	0,72	0,88	0,65	0,77	0,68	0,76
n_1	0,64	0,42	0,59	0,48	0,54	0,53
n_2	0,83	0,26	0,72	0,51	0,60	0,58

Величина $tg\alpha_1$ для первой области во всех мезокосмах была практически одинакова и лежала в пределах 1,9-2,0. Заметное отличие наблюдалось в материнской экосистеме, где $tg\alpha_1$ составлял 1,7. Третья область характеризуется различными угловыми характеристиками векторов соответственно нагрузкам токсиканта на мезокосмы. Максимальное значение $tg\alpha_2$ отмечено в контрольном мезокосме – 0,9. Мезокосмы № 3, 5, куда были внесены равные количества токсиканта, характеризуются одинаковыми значениями $tg\alpha_2$ – 0,8. Минимальные значения $tg\alpha_2$ отмечены в мезокосмах №2 и №4 – 0,7, при том, что суммарное количество $CdSO_4$, внесенное во второй мезокосм, было ниже, чем в четвертом. Этот факт говорит о том, что периодическая многократная токсическая нагрузка оказывает большее негативное воздействие на экосистему, чем такая же по величине однократная.

Модуль вектора характеризует интенсивность процессов продуцирования и деструкции. Сравнивая величины модулей в экспериментальных мезокосмах (табл.2), можно отметить заметное снижение интенсивности процессов трансформации энергии в контрольном мезокосме №1. В мезокосмах 3, 5 существенных изменений не произошло. Максимальное увеличение модуля наблюдалось во 2 мезокосме, который был подвергнут пролонгированной токсической нагрузке. Четвертый мезокосм, также как и по угловым характеристикам, занимает промежуточное положение между 3-5 и 2 мезокосмами.

Итак, соотношение процессов фотосинтетического продуцирования органического вещества и трат на обмен, анализируемое в фазовом Р-Р пространстве, дает возможность в условиях эксперимента установить различные состояния экосистемы и момент перехода системы из одного состояния в другое.

Несмотря на высокие абсолютные значения концентраций кадмия в мезокосмах 2–5 и существенные, в 2–3 раза отличия концентраций в разных мезокосмах, прослеживается общая тенденция в динамике продукционно-деструкционных процессов, выраженных через Р/Р отношение. Причем та же тенденция отчетливо проявляется и в контрольном мезокосме, и в материнской экосистеме. Объяснить такое сходство в динамике продукционно-деструкционных процессов в загрязненных и контрольном мезокосмах и материнской системе можно тем, что доминирующее влияние на внутриводоемные процессы оказывало не загрязнение экосистем мезокосмов соединениями кадмия, а воздействие некоего комплекса абиотических факторов. Определяющей могла стать экстремально высокая температура, составлявшая от 24,8 до 30,8°C при средней температуре 28,4. Кроме того, между 5 и 9 сутками эксперимента отмечалось изменение погодных условий: плотная облачность (резкое уменьшение освещенности) и изменение давления.

Тем не менее, на фоне ярко выраженного отклика всех экосистем на факторы естественного происхождения по Р/Р-отношению удалось выявить различия в состояниях экосистем в разных мезокосмах, вызванные токсическим эффектом, согласующиеся с данными, полученными при анализе спектрометрических измерений и данными по динамике численности и биомассы фитопланктона.

Таким образом, результаты проведенного эксперимента позволяют сделать следующие выводы.

Продукцию и деструкцию можно рассматривать как параметры состояния экосистемы, а не показатели (в ряду прочих), качества водной среды. На их основе может быть построено Р–R пространство; по положению «точки равновесия» в этом пространстве можно делать заключение о состоянии водной экосистемы и тенденциях ее развития.

Список литературы:

Абакумов В.А. Продукционные аспекты биомониторинга пресноводных экосистем. // Продукционно-гидробиологические исследования водных экосистем., Л.: Наука, 1987. С.51-61

Бульон В.В. Первичная продукция планктона внутренних водоемов. –Л.: Наука, 1983.– 150 с.
Никаноров А.М., Трунов Н.М., Шакунова Н.Н., Тепляков Ю.В., Чмутенко Л.О., Быстров А.В., Аскаленов В.Н. Натурное моделирование основных процессов взаимодействия загрязняющих веществ и водных экосистем // Экологическое нормирование и моделирование антропогенного воздействия на водные экосистемы. - Л.: Гидрометеиздат, 1988. - Вып. 1. - С. 9-17
Одум Ю. Основы экологии.– М.: Мир.– 1975.–740 с.
Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. С-Пб.: Гидрометеиздат. 1992.

ЗООБЕНТОС ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АЭС И ПРИЛЕГАЮЩИХ ВОДОЕМОВ

Е. И. Филинова

*Саратовское отделение ФГНУ ГосНИОРХ
г. Саратов, ул. Чернышевского, 152, Россия, MJul@rambler.ru*

Техногенное загрязнение континентальных водоемов приводит к изменениям функционирования гидробиоценозов вплоть до их деградации. Изучение последствий тепловых нагрузок на донные биоценозы с целью оптимизации эксплуатации водоемов - охладителей, позволило выявить некоторые закономерности в изменении функционирования бентосных сообществ. Подогреваемые водоемы, как правило, населяет аборигенная для региона донная фауна, основу которой составляют эврибионтные виды (Мордухай-Болтовской, 1975). В зонах умеренного подогрева, при температуре до 20-25°C в большинстве случаев наблюдается повышение численности, биомассы и продукции бентоса. На примере водоемов-охладителей ГРЭС юга СССР было показано, что температура придонных слоев воды 25°C предельна для нормального развития донных биоценозов (Пидгайко, 1971). Считается, что для большинства пресноводных организмов критической является температура среды между 25 и 35°C (Мордухай-Болтовской, 1971; Куликов, 1978; Кафтанникова и др., 1986).

Водоем - охладитель Балаковской АЭС является бессточным водоемом наливного типа с площадью водного зеркала 21,8 км², объемом водной массы 150х10⁶м³ и средней глубиной 5,8м.

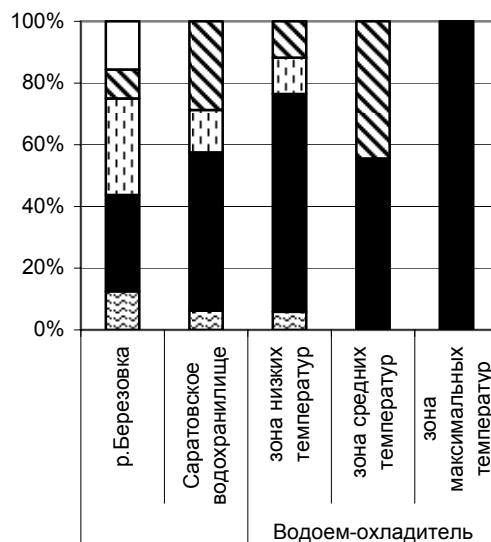
Для оценки состояния зообентоса в водоеме-охладителе, прежде всего, необходимо было выделить и обследовать участки, отличающиеся по температурному градиенту. Не менее важно так же учитывать значение естественных факторов влияющих на состав и функционирование донных сообществ, таких как скорость течения, глубина, тип грунта.

Принимая во внимание выше сказанное, зообентос водоема-охладителя БАЭС исследовали на трех типах участков, различающихся по температуре водных масс: низких температур - 18-20°C соответствующих средним многолетним для данного региона показателям, средних температур - 22-23°C, превышающих естественные в пределах рыбохозяйственных нормативов и высоких температур - с максимальной температурой воды 26-38°C, превышающих рыбохозяйственный норматив (Перечень..., 1999). В качестве контроля исследовали зообентос р. Березовки, водотока питающего водоем - охладитель, и близлежащий участок Саратовского водохранилища. На каждом из них пробы отбирали на мелководных (до 1,5м) и глубоководных (более 1,5м) станциях. Мелководные биотопы выстилали чистые и слабо заиленные грунты, представленные гравием, песком, различного гранулометрического состава, размытой почвой, в основном заросшие высшей водной растительностью (ВВР). Глубоководные биотопы - свободные от ВВР, отличались высокой степенью заиления донных грунтов. Пробы зообентоса отбирали в мае и октябре 2007 г. скребком и дночерпателем "ДАК - 250" и обрабатывали по общепринятой в гидробиологии методике (Методика изучения биогеоценозов..., 1975). Для сравнения фаунистического сходства зообентоса на выделенных биотопах использовали показатель Серенсена (Константинов, 1979).

В районе исследований в общей сложности зарегистрировано 65 видов и групп видов донной фауны, характерных для водохранилищ долинного типа и их притоков (Филинова, 2003). Фауна прилегающих водоемов включала все встреченные виды, водоема - охладителя - всего 28 видов. Бедность фауны - черта присущая наливным водоемам - охладителям (Лукашев, Северчук, 2004). На мелководных станциях повсеместно максимальное видовое богатство обеспечивали гетеротопные фитофильные виды зообентоса, представленные в основном личинками насекомых, главным образом хирономидами. Глубоководные станции характеризовались незначительным обилием видов и заселены преимущественно постоянно водной эврибионтной фауной - полихетами, олигохетами и высшими ракообразными (рис. 1, 2).



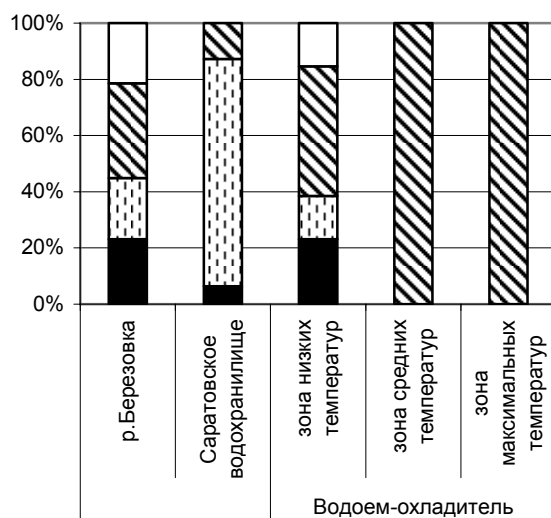
мелководные станции



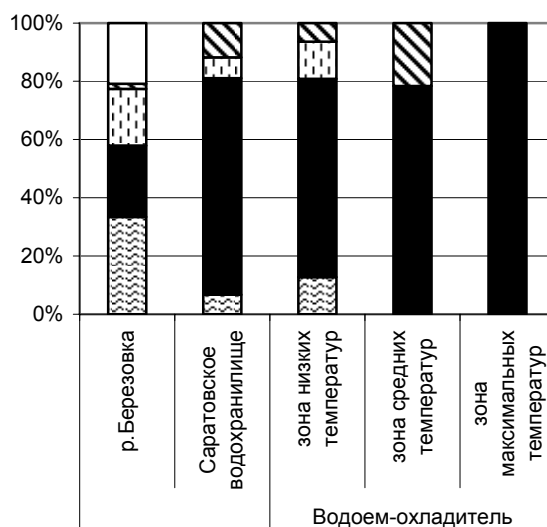
глубоководные станции

Рис. 1. Структура численности (экз/м²) мягкого бентоса в водоеме – охладителе и прилегающих водоемах

Все донные сообщества мелководных станций в обследованных водоемах различались между собой по видовому составу (показатель Серенсена менее 0.25) вследствие экологической разнородности обследованных биотопов, что исключило возможность объективной оценки теплового воздействия на их фаунистический состав. Так же существенные отличия фауны отмечены между мелководными и глубоководными сообществами всех обследованных водоемов (показатель Серенсена менее 0.26).



мелководные станции



глубоководные станции

Рис. 2. Структура биомассы (г/м²) мягкого бентоса в водоеме – охладителе и прилегающих водоемах (усл. обозн. на рис. 1.)

Попарное сравнение проб зообентоса на глубоководных станциях позволило выявить сходство фауны на трех из них - из охладителя БАЭС с низкими температурами из р. Березовки и Саратовского водохранилища (показатель Серенсена более 0.55). Значительные отличия фауны обнаружены между всеми участками из охладителя БАЭС (показатель Серенсена менее 0.31), а также подогреваемых участков по сравнению со всеми прочими глубоководными биотопами (показатель Серенсена менее 0.26). На всех глубоководных биотопах, за исключением подогреваемых, доминировали моллюски р. *Dreissena* - *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1770) и *D. bugensis* (Andrusov, 1847), однако группы субдоминантов существенно отличались. В р. Березовке группу субдоминантов формировали *Corophium curvispinum* Sars, 1895, *Dikerogammarus haemobaphis* (Eichwald, 1841) и

Hypania invalida (Grube, 1860), в Саратовском водохранилище - *Stenogammarus dzjubani* (Mordukhay-Boltovskoy et Ljakhov, 1972), *H. invalida*, *Paramysis (Metamysis) ullskyi* (Czeravsky, 1882). В водоеме – охладителе на участке низких температур субдоминантами являлись *S. dzjubani* и *H. invalida*. На умеренно подогреваемом участке доминировали *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862, субдоминанты отсутствовали. На горячем участке обнаружена одна группа донных гидробионтов - олигохеты, среди половозрелых особей идентифицированы только *L. hoffmeisteri*.

Анализ структуры численности и биомассы донных сообществ выявил тождественность макрозообентоса мелководных станций в зоне низких температур и мелководного биотопа р. Березовки по причине однотипности грунтов. На глубоком биотопе водоема - охладителя в зоне низких температур особенности влияния комплекса факторов среды (глубина, скорость седиментации и характер грунта) привели к формированию биоценозов, близких по составу и структуре к глубоководным водохранилищным (рис. 1, 2). Очевидно, утверждение о том, что в водоеме - охладителе нет сообществ гидробионтов сходных с водохранилищными (Воронин, Ерохин, 2005), справедливо только для обследованных авторами биотопов с глубиной до 1 м.

Выделенные биотопы обследованных водоемов по количественным показателям основных групп зообентоса имели значительные различия. Моллюски максимума развития достигали на глубоководных станциях в прилежащих водоемах (до 4000 экз/м² численности и до 3 000 г/м² биомассы) а на глубоководной в зоне низких температур эти показатели не превышали соответственно 70 экз/м² и 69 г/м². Моллюски не обнаружены на участках подверженных воздействию негативных факторов, а именно в Саратовском водохранилище - на мелководье с нестабильным уровнем и в водоеме – охладителе в зонах подогреваемых вод.

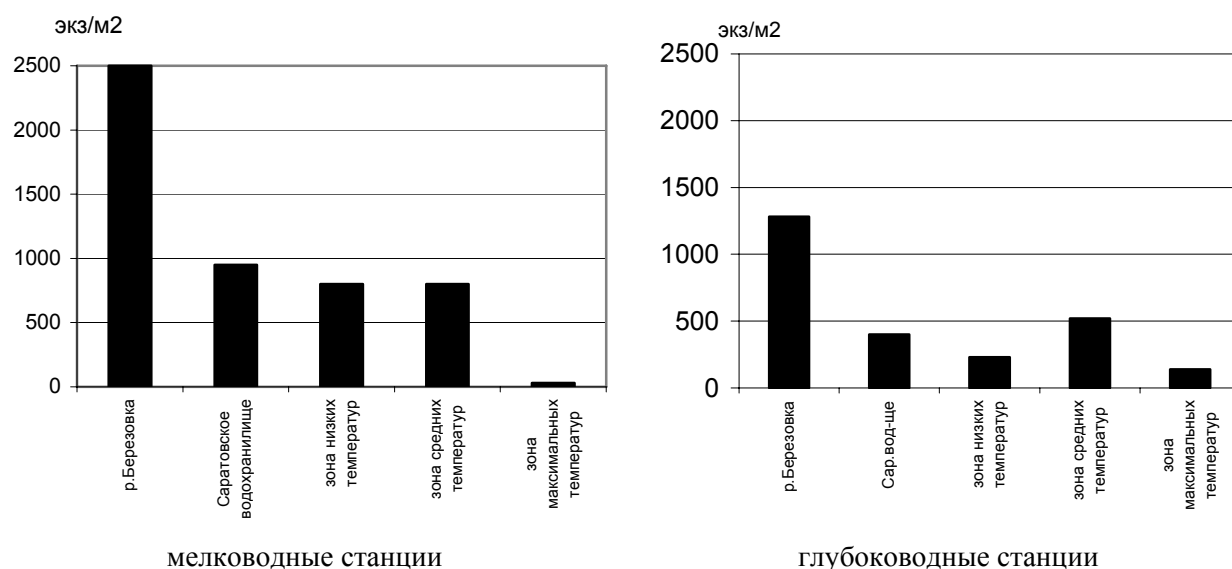


Рис. 3. Численность мягкого зообентоса в водоеме – охладителе и прилегающих водоемах

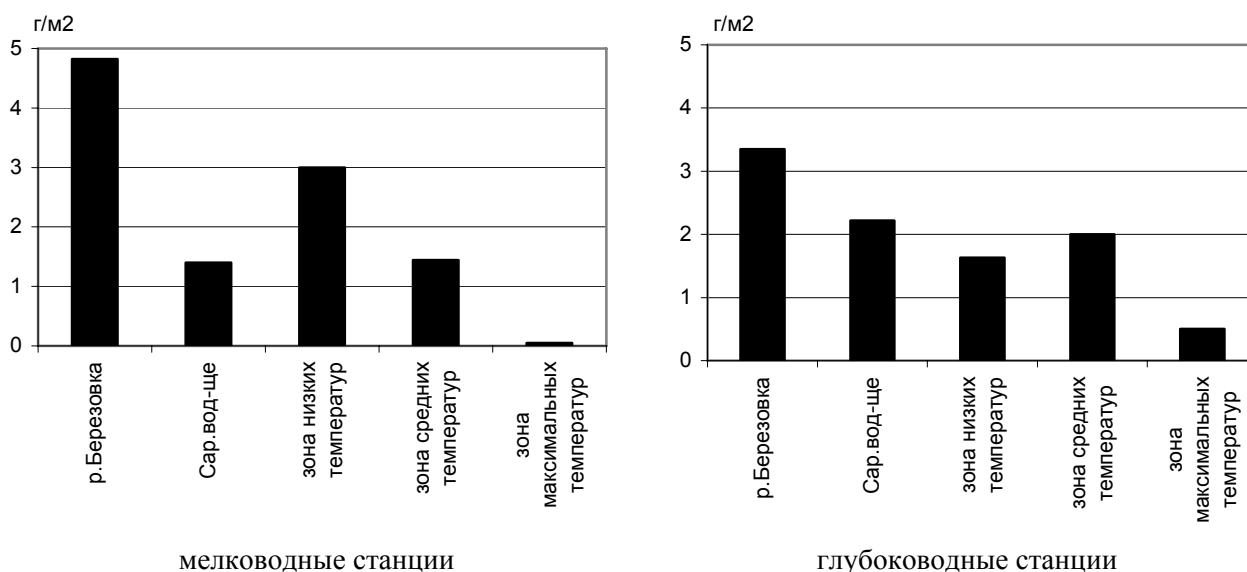


Рис. 4. Биомасса мягкого зообентоса в водоеме – охладителе и прилегающих водоемах

Численность и биомасса мягкого зообентоса на всех исследуемых биотопах за исключением расположенных в зоне высоких температур находились в пределах фоновых показателей для водоемов данного региона (рис.3, 4). В зоне средних температур на глубоководных станциях отмечена тенденция к увеличению численности и биомассы, что может свидетельствовать о незначительной стимуляции развития донных сообществ. Применение индексов загрязнения и сапробности для оценки качества водной среды по зообентосу дало возможность охарактеризовать зону высоких температур в водоеме-охладителе как район экологического бедствия (Рекомендации Минприроды, 1992). Этот вывод подтверждается низкими количественными показателями мягкого зообентоса, обеднением фауны и крайне упрощенной структурой сообществ в указанной зоне. Экологическая ситуация на всех прочих обследованных биотопах оценивается как относительно удовлетворительная.

Список литературы

- Воронин М. Ю., Ермохин М. В. Сообщества макрозообентоса в градиенте температуры водоема-охладителя Балаковской АЭС // Поволж. экол. журнал. 2005. №3. С. 207-213.
- Кафтанникова О.Г., Протасов А.А., Сергеева О.А. и др. Влияние сбросных подогретых вод на экосистему водоема – охладителя Чернобыльской АЭС // Тез. докл.5 съезда ВГБО, Тольятти, 15-19 сент. 1986 г. Куйбышев. 1986. С.191-192.
- Константинов А.С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа. 1986. 472 с.
- Куликов Н.В. Актуальные вопросы экологии водоемов – охладителей атомных электростанций // Проблемы радиоэкологии водоемов – охладителей атомных электростанций. Тр. ин-та экологии растений и животных. 1978. Вып.110. С.3-7.
- Лукашев Д.В., Северчук Н.С. Изменение структуры макрозообентоса водоема - охладителя Чернобыльской АЭС в условиях уменьшения тепловой нагрузки // Гидробиологический журнал. 2004.Т.40. №4 С. 64 - 72.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М.: Наука. 1975. 240 с.
- Мордухай-Болтовской Ф. Д. Состояние вопроса о влиянии подогретых вод теплоэлектростанций на биологию водоемов. // Симпозиум по влиянию подогретых вод теплоэлектростанций на биологию водоемов. 1971. Борок. С. 45-47.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д. Проблема влияния тепловых и атомных электростанций на гидробиологический режим водоемов // Тр. Ин-та биологии внутренних вод. 1975. №27(30). С. 7-69.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО. 1999.
- Пидгайко М.Л. Влияние подогрева на развитие и продуцирование макрозообентоса в водоемах-охладителях ГРЭС юга СССР // Симпозиум по влиянию подогретых вод теплоэлектростанций на биологию водоемов. 1971. Борок. С. 47-48.
- Пидгайко М.Л., Гринь В.Г., Поливанная М.Ф., Виноградская Т.А., Сергеева О.А., Петрук Г.Ф., Бабко М.Н. Гидробиологический режим водоемов-охладителей тепловых электростанций Украины // Гидробиологический журнал. 1967.Т.3. №5. С. 81-92.
- Рекомендации Минприроды по выявлению зон чрезвычайной экологической ситуации и зон экологического бедствия. 1992. 52с.
- Филинова Е.И. Структурно-фаунистическая характеристика и динамика зообентоса Волгоградского водохранилища // Дисс. на соиск. уч. степени канд.биол.наук. 2003. 192 с.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО ПРОДУКЦИОННО-ДЕСТРУКЦИОННЫМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ

В.М. Хромов

Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова.

119991 г. Москва, Ленинские горы, Биологический факультет, mgu-gidro@yandex.ru

Первичная продукция (ПП) и деструкция (Д), являясь важными показателями состояния водоемов и водотоков, обладают достаточно быстрой реакцией на то или иное изменение условий водной среды. Это позволяет использовать изменчивость продукционно-деструкционных характеристик в качестве экспресс-информации для оценки качества воды. Соотношение первично-продукционных и деструкционных процессов в водоемах показывает прежде всего направленность процессов трансформации органического вещества как автохтонной, так и аллохтонной природы. Для многих участков рек в Вирджинии и Нью-Гемпшире (США) была проведена сравнительная

характеристика степени эвтрофирования рек по различным параметрам: концентрация биогенных элементов, концентрация хлорофилла, величины валовой первичной продукции и деструкции, а также отношение ПП:Д.

Продукционно-деструкционные характеристики фитопланктона представляется возможным использовать и для оценки поступления загрязняющих веществ в водоемы и водотоки (Tomas, O'Connel, 1966; Whitton, 1979).

Е.Одум (Odum, 1956) установил, что в зонах непосредственного сброса сточных вод в реки процессы деструкции значительно превышают первичную продукцию и следовательно ПП:Д<1. Далее вниз по течению от источника загрязнения наблюдается постепенное уменьшение значений первичной продукции и деструкции и отношение ПП:Д приближается к единице. Такой характер изменения отношения ПП:Д наблюдался на ряде водотоков.

О необходимости использования отношения ПП:Д для оценки состояния водных экосистем указывал Г.Г.Винберг (1981).

Использование разработанной нами методики определения первичной продукции и деструкции (Шинкар, Хромов, Семин, 1987) позволило существенно повысить эффективность ПП:Д характеристик для оценки качества вод.

Сравнительный анализ продукционно-деструкционных характеристик и индексов сапробности был проведен для разных участков Можайского водохранилища, нескольких небольших водохранилищ Вазузской гидротехнической системы, а также для системы водотоков, соединяющих эти водохранилища. Оценку степени сапробности на разных участках водоемов и водотоков проводили по методу Пантле и Бука (Pantle, Buck, 1955) в модификации Сладечека (Sladecsek, 1973) с использованием организмов индикаторов: фитопланктона, зоопланктона и перифитона.

Проведенный корреляционный анализ между ПП:Д характеристиками и индексами сапробности позволил установить высокую положительную корреляцию между ними – $r = 0.75$. На основании этих данных зависимость между индексами сапробности (S) и величинами ПП:Д (X) может быть выражена простым линейным уравнением:

$$S = 1.25 + 0.35x$$

Высокое сходство между ПП:Д характеристиками и степенью сапробности было получено при анализе ряда озер, водохранилищ и рек (Хромов, 1992). Поскольку полученные результаты в основном определялись степенью трофности, а следовательно можно было говорить о степени органического «загрязнения», поэтому представлялось необходимым рассмотреть возможность использования полученной зависимости между степенью сапробности и отношением ПП:Д для водных объектов, подверженных интенсивному антропогенному воздействию.

В качестве такого объекта была выбрана река Чапаевка, расположенная в Самарской области и детально исследованная в течение ряда лет сотрудниками Института экологии волжского бассейна РАН (ИЭВБ) (Экологическое состояние реки Чапаевки....., 1997).

Река Чапаевка характеризуется как мелководная, со слабой проточностью и следовательно с незначительным разбавлением поступающих в нее стоков. Антропогенный пресс на реку Чапаевку очень большой. Загрязнения имеют разную природу. Биогенные элементы, ответственные за эвтрофирование реки, поступают, главным образом, с сельскохозяйственными стоками, определяющая роль которых принадлежит минеральным удобрениям. Поступление нефтепродуктов, тяжелых металлов, сульфатов, хлоридов и других веществ, связано с производственной деятельностью промышленных предприятий г.Чапаевска. Влияние сельского хозяйства довольно равномерно распределено по всей длине реки. Нижняя часть реки находится под двойным прессом – сельскохозяйственных и техногенных стоков. Показатели степени загрязнения в виде класса вод на разных участках р.Чапаевки были рассчитаны сотрудниками ИЭВБ РАН разными способами: по отношению общей численности бактерий к численности сапрофитов (К), по зоопланктону (ЗП), зообентосу (ЗБ). Кроме этого ими были измерены величины первичной продукции и деструкции.

Используя значения первичной продукции и деструкции фитопланктона реки Чапаевки, мы получили величины ПП:Д и с помощью уравнения рассчитали индексы сапробности для разных участков реки и определили классы вод по степени загрязненности (табл.1).

Сопоставление классов вод на разных участках реки, рассчитанных по соотношению бактерий, зоопланктону, зообентосу и с использованием уравнения показало достаточно хорошее сходство, особенно между ЗБ и S (табл.2). Воды реки Чапаевки в основном характеризуются в пределах IV-VI классов качества – от загрязненных до очень грязных. Однако следует отметить, что для вод, подверженных воздействию промышленных стоков, включающих комплекс веществ

Таблица 1. Показатели класса вод р. Чапаевка по данным ПП:Д (Экологическое состояние..., 1977 г.) и по уравнению $y = 1.25 + 0.35 \times (S)$

Год	Ме- сяц	Станции																	
		14			16			18			19			20			23		
		ПП:Д	S	К	ПП:Д	S	К	ПП:Д	S	К	ПП:Д	S	К	ПП:Д	S	К	ПП:Д	S	К
1979	YI	6.00	3.35	IY	5.21	3.07	IY	3.98	2.64	III	6.58	3.55	IY	3.49	2.47	III	6.06	3.37	IY
	YIII	1.70	1.84	III	16.0	6.84	YI	5.22	3.08	IY	61.3	22.7	YI	6.68	3.59	IY	3.35	2.42	III
1980	YI	1.00	1.60	III	7.26	3.79	Y	3.27	2.39	III	4.00	2.65	IY	12.4	5.58	YI	22.0	8.95	YI
	YIII	1.00	1.60	III	3.51	2.48	III	5.21	3.07	IY	2.72	2.20	III	1.50	1.78	III	3.94	2.62	IY
1981	YI	4.88	2.96	IY	5.50	3.18	IY	3.36	2.43	III	5.26	3.09	IY	3.06	2.32	III	3.73	2.56	III
	YIII	4.75	2.91	IY	4.86	2.95	IY	4.68	2.89	IY	7.08	3.73	Y	8.34	4.17	YI	13.9	6.13	YI
1982	YI	3.62	2.37	III	33.4	12.9	YI	4.89	2.96	IY	3.89	2.61	IY	9.28	4.50	YI	5.96	3.34	IY
	YIII	2.47	2.11	III	10.19	4.82	YI	3.74	2.55	III	1.58	1.80	III	6.82	3.64	Y	2.62	2.17	III
1983	YI	4.52	2.83	IY	2.87	2.25	III	2.85	2.25	III	1.96	1.94	III	15.3	6.59	YI	3.74	2.56	IY
	YIII	3.44	2.45	III	4.07	2.67	IY	1.86	1.90	III	8.82	4.34	YI	154.0	55.1	YI	17.1	7.24	YI

Таблица 2. Показатели класса вод р. Чапаевка, рассчитанные по отношению общей численности бактерий к сапрофитам* (К)*, по зоопланктону* (ЗП)*, зообентосу* (ЗБ)*, по ПП:Д фитопланктона с использованием уравнения $y = 1.25 + 0.35 \times (S)$

Год	Ме- сяц	Станции																							
		14				16				18				19				20				23			
		К	ЗП	ЗБ	S	К	ЗП	ЗБ	S	К	ЗП	ЗБ	S	К	ЗП	ЗБ	S	К	ЗП	ЗБ	S	К	ЗП	ЗБ	S
1979	YI	4	3	6	4	3	3	6	4	4	4	6	4	4	3	6	4-5	3	3	3	3	2-3	3	4	4
	YIII	5	4	6	3	3	3	6	6	4-5	4	6	4	4	3	5	6	3	3	4-5	4-5	3	3	3	3
1980	YI	5-6	4	5	3	4	3	4-5	5	6	3	5	3	5-6	3	6	4	3-4	3	3	6	3	3	4	6
	YIII	5-6	3-4	5-6	3	3	3	4-5	3	5	3-4	4	4	5	3	5	3	3	3	3	3	3	3	3	4
1981	YI	5	4	6	4	3	3	4-5	4	3	3	4-5	3	3-4	3	5	4	3	3	5	3	3	3	4-5	3-4
	YIII	6	4	6	4	3	3	6	4	3-4	3-4	5-6	4	3-4	3	6	5	3	3	6	6	3	3	3	6
1982	YI	4-5	4	5	3	2	3	5	6	3-4	3-4	6	4	3-4	3	6	4	3	3	5	6	3	3	4-5	4
	YIII	6	4	6	3	3	3	5-6	6	3-4	3-4	5	3-4	3-4	3	6	3	3-4	3	5	5	3	3	4	3
1983	YI	4	4	5-6	4	3	3	5-6	3	4	3	6	3	3	3	6	3	3	3	3	6	3	3	3-4	3-4
	YIII	5	3-4	5	3	4	3	5-6	4	4	4	6	3	4	3	5-6	6	3	3	6	6	3	3	4	6
Среднее		3-4	3-4	5-6	3-4	3-4	3	4-6	4	5-6	3-4	5-6	3-4	3-6	3	5-6	4-5	3-4	3	3-6	3-6	3	3	3-4	3-5

* данные (Экологическое состояние бассейна реки Чапаевки....., 1997)

неорганической природы, такие биоиндикаторы как отношение общей численности бактерий к сапрофитам (К) и особенно зоопланктон (ЗП) как бы недооценивают степень загрязнения вод. Зообентос и сапробность, рассчитанная по уравнению с использованием ПП:Д, дают более адекватные оценки степени загрязнения воды (табл.2).

Наблюдая достаточно высокую эффективность продукционно-деструкционных характеристик при оценке степени загрязнения вод следует подчеркнуть, что использование соотношения ПП:Д может привести и к ошибочным результатам если измерение первичной продукции и деструкции проведено недостаточно корректно. До настоящего времени скляночный метод в кислородной и радиоуглеродной модификациях в ряде случаев приводит к неадекватной оценке первичной продукции и деструкции (Бульон, 1977; Грезе, 1982; Гольд и др., 1985; Константинов, 1984; Паутова, Номоконова, 1994; Пырина, 1993; Gieskes et al., 1979; Oviat et al., 1986; Sheldon, Sutcliffe, 1978). В зависимости от гидролого-гидрохимических условий, а также в зависимости от структурных особенностей фитопланктонного сообщества ошибки в определении первичной продукции и деструкции скляночным методом могут быть очень большими (Хромов и др., 1985).

Поэтому эффективное использование ПП:Д характеристик возможно только при правильном измерении первичной продукции и деструкции. Необходимо также иметь ввиду, что ПП:Д характеристики являются достаточно приближенными показателями качества воды в той же мере в какой являются показатели степени сапробности. Тем не менее, отношение ПП:Д может быть достаточно успешно использовано для оценки качества вод водоемов и водотоков разного трофического уровня и разной степени антропогенного воздействия. Особенно в комплексе показателей, в котором величины ПП:Д могут быть хорошим оперативным показателем предварительных исследований.

Список литературы

- Бульон В.В. Внеклеточная продукция фитопланктона и методы ее исследования // Гидробиологический журн. 1977. Т.84. Вып.2(5). С. 294-304.
- Винберг Г.Г. Успехи лимнологии и гидробиологические методы контроля качества внутренних вод // Научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям. Л.: Гидрометеиздат. 1981. С. 16-45.
- Гольд В.М., Гольд З.Г., Попельницкая Н.М. О причинах нарушения второго закона термодинамики в водных экосистемах // Круговорот вещества и энергии в водоемах. Иркутск: 1985. Вып.7. С. 25-27.
- Грезе В.Н. Экосистема Южной Атлантики и проблема энергетического баланса пелагического сообщества океана // Океанология. 1982. Т.22. Вып.6. С. 996-1001.
- Константинов А.С. О трофодинамической концепции угнетения микрозообентоса в крупных волжских водохранилищах // Биологическая продуктивность и качество воды Волги и ее водохранилищ. М.: Наука. 1984. С. 189-199.
- Паутова В.Н., Номоконова Н.И. Продуктивность фитопланктона Куйбышевского водохранилища. Тольятти: 1994. С. 188.
- Пырина И.Л. Особенности условий для фотосинтеза в изолированных пробах фитопланктона // Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов. Санкт-Петербург: Гидрометеиздат. 1993. С. 21 – 24.
- Хромов В.М., Семин В.А., Шинкар Г.Г. 1985. Временная изменчивость первичной продукции и деструкции и способ оценки этих величин // Круговорот вещества и энергии в водоемах. Иркутск. 1985. Вып.2. С.87-88.
- Шинкар Г.Г., Хромов В.М., Семин В.А. Устройство для определения первичной продукции и деструкции органического вещества в водоемах и водотоках. // Авторское свидетельство, СССР. 1987. № 1458758, МГИ G 01N 1/10.C.1-3.
- Экологическое состояние бассейна реки Чапаевка в условиях антропогенного воздействия. // Экологическая безопасность и устойчивое развитие Самарской области. Тольятти. 1997. Вып. 3. С. 337.
- Khromov V.M. Production-destruction characteristics of ecological modification // Ecological modification and criteria for ecological standardization. St.Petersburg. 1992. P. 124-130.
- Odum E. Primary production in flowing waters // Limnol. and Oceanogr. 1956. V.1. P. 102-117.
- Pantle R., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewässer und Darstellung der Ergebnisse // Gas - und Wasserfach. 1955. Bd.96. N.8. S.1-604.
- Sladeczek V. System of water quality from the biological point of view // Arch.Hydrobiol.Ergeb.Limnol. 1973. N 7. P. 1-218.
- Thomas N.A., O'Connell R.L. A method for measuring primary production by stream benthos // Limnol. and Oceanogr. 1966. V.11. P. 386-392.
- Whitton B.A. Plants as indicators of River Water Quality // Biological Indicators of Water Quality. John Wiley & Sons. N.Y. 1979. P. 5-31.

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА В МАКРОФИТНОМ ОЗЕРЕ, НАХОДЯЩЕМСЯ В УСЛОВИЯХ ПОСТОЯННОЙ РЕКРЕАЦИОННОЙ НАГРУЗКИ

Е.Н. Чеботарев

Институт Озёроведения РАН

С.-Петербург, 196105, ул. Севастьянова, д. 9, Россия, bardos777@mail.ru

Круговорот органического вещества и трансформация различных элементов являются важнейшими процессами, протекающими в водоемах. Осуществление этих процессов в значительной мере обуславливается жизнедеятельностью микроорганизмов, выступающих в роли деструкторов органических веществ. Способность микроорганизмов разрушать естественные и созданные человеком вещества во многом обеспечивает протекание процессов самоочищения воды в водоемах. В этой связи при проведении гидробиологических работ на сильно зарастающей нитчаткой и высшей водной растительностью оз. Свинечном была поставлена задача исследовать динамику развития в течение года микробного компонента биоценоза озера и оценить его роль в деструкции органического вещества и самоочищении водоема.

Небольшое проточное оз. Свинечное находится в Лужском районе Ленинградской области на территории ведомственной базы отдыха. Максимальные глубины в центральной части озера составляют 5-6 м. а котловина озера заполнена жидким тонкодисперсным легко взмучиваемым илом. Прозрачность воды в озере по диску Секки до 5 м. По гидрохимическим показателям трофический статус озера оценивается как мезотрофный. Последние годы озеро постоянно зарастает нитчатками, огромная биомасса которых вместе с прибрежной высшей водной растительностью мешает использованию водоема в рекреационных целях. Для решения проблемы зарастания оз. Свинечного нитчатками в 2007 г. на нем были проведены гидробиологические исследования, чтобы выяснить интенсивность продукционно-деструкционных процессов и природу факторов, способствующих массовому развитию нитчаток. В программу микробиологических работ входило определение численности и сезонной динамики бактериопланктона, оценка морфологического разнообразия и биомассы микробного сообщества и определение наличия в воде гетеротрофных бактерий, требующих для своего роста повышенного содержания в среде легко доступных органических веществ и выявляемых на белковых средах типа рыбо-пептонного агара (РПА). Пробы воды на анализ микрофлоры отбирались с помощью микробиологического батометра в стерильные склянки на нескольких станциях в центральной части озера (ст. 1 и 3) и в прибрежной зоне (ст. 4 и 5). Отбор проб был выполнен зимой из-под льда в феврале и несколько раз в течение вегетационного периода на всех станциях на глубине 0,2 м, а на станциях 1 и 3 также из придонного горизонта на глубине 3-5 метров. Пробы воды, отобранные из озера, во всех случаях, за исключением одного, не фиксировались и обрабатывались сразу же по возвращении в лабораторию. Пробы воды, отобранные в мае, были зафиксированы на озере формалином, в связи с чем в этих пробах не проводилось определение численности живых гетеротрофных бактерий, растущих на РПА.

В работе использовались широко принятые в экологической микробиологии методы, подробно описанные в практическом руководстве С.И. Кузнецова и Г.А.Дубининой (1989). Общая численность бактерий определялась методом прямого счета в световом микроскопе "Цетопан Рейхарт" при увеличении $\times 1500$ с масляной иммерсией в проходящем свете. Микроорганизмы отделялись из пробы воды фильтрацией аликвоты объемом 10 или 20 мл через мембранный фильтр марки «Сынпор» №8 (диаметр пор 0,23 мкм). Фильтры с осевшими на них клетками микроорганизмов сразу же по окончании фильтрации окрашивали 5%-ным карболовым эритрозином в течение суток, затем отмывали от избытка красителя водой, высушивали и хранили до просматривания в микроскопе. Подсчет общего числа клеток бактерий проводили в 15-20 полях зрения. Одновременно с определением на фильтрах числа микробных клеток с помощью окулярного микрометра измеряли длину и ширину палочковидных клеток и диаметр клеток шаровидной формы. Для расчета биомассы бактериопланктона определили объем этих клеток по геометрическим формулам для цилиндра и шара. Количество в воде гетеротрофных бактерий, нуждающихся в белковых субстратах, определяли методом глубинного посева озерной воды в расплавленный теплый РПА. Чашки Петри с засеянной средой РПА инкубировали при комнатной температуре. Подсчет колоний, выросших на среде, производили через 10 и 25 суток после посева.

Проведенный анализ проб воды оз. Свинечного показал, что, в планктоне озера микроорганизмы присутствуют в значительном количестве, как зимой, так и в течение всего вегетационного периода. Количественное содержание бактерий в воде менялось в зависимости от сезона года в пределах от 0,88 до 7,54 млн. кл./мл (табл.1). Средняя по озеру величина общей численности бактерий составляла 1,10 млн. кл./мл в феврале, 1,82 млн. кл./мл в мае, 5,08 млн. кл./мл

в июне, 4,62 млн. кл./мл в июле, 3,54 млн. кл./мл в августе и 1,54 млн. кл./мл в сентябре. Наименьшая концентрация клеток бактерий в воде была отмечена зимой в подледный период. В феврале в поверхностных слоях воды подо льдом численность бактерий на станциях I и 3 составляла 0,93-1,32 млн.кл/мл, а в придонных горизонтах -0,88-1,28 млн. кл/мл. Несколько более высокой численность бактериопланктона оказалась на ст. 1, расположенной ближе к берегу. На обеих станциях концентрация клеток бактерий в воде была практически одной и той же подо льдом и у дна озера. Раннее вскрытие озера тёплой весной 2007 г. очевидно способствовало развитию бактериопланктона. В мае общая численность клеток микроорганизмов в воде заметно увеличивалась и была уже в 1,5-2 раза выше, чем в феврале, составляя 1,65-1,89 млн. кл/мл на ст. I и 1,78-1,95 млн. кл/мл на ст. 3. Дальнейший прогрев воды в мае и обогащение воды продукцией фитопланктона способствовали активному росту бактерий в этот период.

В начале июня общая численность бактерий в водной толще достигала значительных величин порядка 4-6 млн кл/мл, которые превышали в 4 раза численность бактериопланктона в зимний период. Высокая концентрация клеток бактерий в этот период наблюдалась на всех исследовавшихся участках озера, как в центральной (ст. I и 3), так и в прибрежной зонах (ст. 4 и 5), в поверхностных и придонных горизонтах станций I и 3.

Таблица 1. Численность клеток бактериопланктона (млн. кл/мл) в оз. Свинечном в разные периоды года

№ станции	Глубина (м)	6 февраля	3 мая	5 июня	19 июля	17 августа	20 сентября
1	0,2	1,32	1,65	5,26	3,75	2,65	1,18
	У дна	1,28	1,89	4,18	-	-	-
3	0,2	0,93	1,95	4,72	4,09	3,88	1,29
	У дна	0,88	1,78	4,98	7,54	4,39	2,38
4	0,2	-	-	6,15	4,18	3,96	1,24
5	0,2	-	-	5,54	3,62	2,78	1,57
В среднем		1,10	1,82	5,08	4,62	3,54	1,54

Высокая численность бактериопланктона сохранялась в озере на протяжении всего лета. В июле количество бактерий в поверхностных горизонтах на разных станциях колебалось в пределах 3,62 – 4,62 млн. кл./мл (в среднем 3,90 млн. кл./мл), то есть была такой же высокой как в июне. Высокая общая численность бактерий отмечалась в придонных слоях станции 3 – 7,54 млн. кл./мл, что возможно связано с попаданием в водную пробу микроорганизмов из легко взмучиваемых донных осадков. В августе численность бактериальных клеток в микробном сообществе оставалась почти такой же, как и июле. На центральных станциях численность бактериопланктона составляла 3,88 – 4,43 млн кл./мл, а на станциях литорали была в пределах 2,78 – 3,96 млн. кл./мл. Средние величины общей численности бактериопланктона составляли соответственно 5,08, 4,62 и 3,54 млн. кл./мл. Таким образом, наблюдался определенный тренд к снижению общего количества бактерий в воде за летний период. Значительное падение общей численности клеток микроорганизмов в планктоне озера произошло к третьей декаде сентября. В центральной части озера концентрация бактериальных клеток в воде 20 сентября была в пределах 1,18 – 1,29 млн кл./мл, а в литеральной зоне 1,24 – 1,57 млн кл./мл. Средняя по озеру общая численность бактерий в воде в сентябре составила 1,54 млн кл./мл и была, таким образом, в 2-3 раза ниже, чем летом.

В морфологической структуре бактериопланктона во все периоды преобладали свободноживущие палочковидные микроорганизмы. Их доля в бактериопланктоне составляла 70-80%. Остальная часть бактериопланктона состояла из клеток других видов, включая в том числе вибрионы, кокки, нитевидные формы и некоторые другие морфотипы. Размер палочковидных клеток основной части бактериопланктона составлял 0,6-1,5 мкм в длину и 0,1-0,25 мкм в ширину. Размер овальных и кокковидных клеток составлял 0,2-1,3 мкм в диаметре. В июне-августе в бактериопланктоне крупные палочковидные бактерии размером 1,5-5,0х0,2-0,4 мкм составляли до 20% общего количества бактерий. В летнем бактериопланктоне в значительном количестве присутствовали также микроколонии мелких цианобактерий, содержавшие от 40-50 до 500 и более клеток размером 1,5-2,5х1,0-1,2 мкм. Содержание этих цианобактерий в воде озера составляло примерно 50-250 тыс. кл/мл. Средний объём клеток зимнего бактериопланктона составлял около 0,25 мкм³, весеннего - 0,38 мкм³ и летнего – 0,28 мкм³. Рассчитанная на основании среднего объёма клеток сырая биомасса бактериопланктона была порядка 0,2-0,3 мг/л в феврале, 1,5-2,2 мг/л в июне-июле и далее снижалась до 0,5-0,8 мг/л в сентябре.

Общепризнанно, что количество в воде гетеротрофных бактерий, растущих на богатых питательных средах с белковым субстратом, подобных рыбо-пептонному агару, определяется присутствием в природных водах легко гидролизующих органических субстратов, часто антропогенного происхождения. Количество таких бактерий в воде оз. Свиного было определено один раз в зимний период и несколько раз в течение вегетационного сезона (табл.2) В феврале численность гетеротрофных бактерий в воде озера была сравнительно невелика и варьировала в пределах 54-120 клеток/мл, а в среднем составляла 88 клеток/мл. В придонных слоях на глубине 3-5 метров концентрация клеток гетеротрофных бактерий была несколько выше, чем в поверхностных слоях под льдом (соответственно 104-120 и 54-75 клеток/мл). Существенное увеличение популяции гетеротрофных бактерий, учитываемых на РПА, произошло после вскрытия озера и прогрева воды до 15-17°C. Их численность увеличилась на порядок по сравнению с зимним периодом и составляла в июне 680-1400 клеток/мл при средней величине на всё озеро 897 клеток/мл.

В июле и августе величина популяции гетеротрофных бактерий, растущих на РПА, в озере несколько снизилась. В июле численность клеток этих бактерий в целом по озеру составляла 246-708 кл/мл., при средней – 436 кл/мл., а августе была ещё ниже: на разных станциях составляла от 380 до 940 кл/мл. при средней – 556 кл/мл. В сентябре количество клеток гетеротрофных бактерий снизилось ещё больше. В центральной части озера численность гетеротрофных бактерий уменьшилась в 1,2 - 2 раза. Средняя величина количества этих бактерий по озеру в сентябре составила 340 кл/мл.

Сезонный ход развития общей популяции бактерий планктона в оз. Свином характеризовался наличием одного максимума, приходившегося на начало лета. Концентрация бактериальных клеток в планктоне в июне в 3-5 раза превышала их концентрацию в другие сезоны года. Такой же сезонный ход динамики развития микроорганизмов наблюдался и отношении группы гетеротрофных бактерий, растущих на РПА. Максимум численности гетеротрофных бактерий в озере наблюдался в июне, когда средняя концентрация клеток этих бактерий составляла 897 кл/мл. (Табл. 2).

В различных зонах озера численность гетеротрофных бактерий, растущих на РПА, как правило, была одного порядка. Можно отметить, однако, более высокую численность гетеротрофных бактерий в воде прибрежной ст. 4 и в придонных слоях ст. 1.

Несмотря на высокую общую численность бактерий в оз. Свином, количество гетеротрофных бактерий, растущих на богатых белковых средах, оказалось в этом озере, хотя и повышенным по сравнению со многими озёрами Северо-западного региона (Чеботарев, 1984), но всё же недостаточно высоким, чтобы свидетельствовать о наличии значительного антропогенного загрязнения. На это же указывает и так называемый “индекс Романенко”, представляющий собой выраженное в процентах отношение количества клеток бактерий, растущих на РПА, к общему числу клеток бактериопланктона. Вода считается чистой при значениях этого индекса, равных 0,003 – 0,03 % (Романенко, 1985). В оз. Свином пределы колебания индекса Романенко составляли 0,006-0,03 %.

Таблица 2. Численность гетеротрофных бактерий, растущих на РПА (кл/мл), в оз. Свином в разные периоды года

№ станции	Глубина (м)	6 февраля	5 июня	19 июля	17 августа	20 сентября
1	0,2	54	780	246	600	215
	У дна	120	764	-	-	-
3	0,2	75	810	550	420	260
	У дна	104	1400	708	940	445
4	0,2	-	935	334	440	460
5	0,2	-	680	340	380	320
В среднем		88	897	436	556	340

Микробиологические показатели на различных станциях существенно не различались в одни и те же сроки наблюдений, что, видимо, объясняется небольшими размерами озера. Таким образом, развитие микробного сообщества происходило сходным образом в центральной и литоральной зонах озера.

Проведенное исследование показало, что по своим микробиологическим показателям оз. Свиное может быть охарактеризовано как мезо-эвтрофный водоем. Как и в многих озёрах Северо-Запада, в развитии бактериопланктона оз. Свиное наблюдается весенний максимум, приходящийся на конец весны - начало лета (Чеботарев, 1988, Однако, в отличие от других мезотрофных и слабо эвтрофных озёр этого региона в оз. Свином отмечены в течение года повышенные концентрации

клеток гетеротрофных бактерий, растущих на РПА, (до 1400 кл/мл), что предполагает наличие в воде озера повышенных концентраций легко минерализуемых органических веществ, возможно антропогенного происхождения, учитывая местонахождение озера на территории базы отдыха.

В заключение, на основании полученных данных можно охарактеризовать общие черты и специфику микробного сообщества оз. Свиного. Как и во многих озерах Северо-Западного региона, общая численность бактерий в воде этого озера в течение года изменяется в довольно широких пределах (от 0,88 до 7,54 млн кл/мл.). В зимний период количество бактериальных клеток в планктонном сообществе сравнительно невелико; на разных участках озера оно колебалось в узких пределах и в среднем составляло 1,10 млн кл/мл. Параллельно с увеличением температуры воды и прогревом водных масс начинался активный рост бактериопланктона. Количество клеток в микробном сообществе воды к началу лета увеличилось почти в 5 раз и оставалась на высоком уровне в течение всех летних месяцев. В начале осени общая численность бактериопланктона уменьшилась почти в три раза. Можно отметить, что развитие микробного сообщества в озере происходило параллельно с отмиранием высшей водной растительности.

Очевидно, из-за небольших размеров оз. Свиного не наблюдается значительных различий в численности бактериопланктона в центральной и литоральной зонах озера. В придонной воде глубоководной ст. 3 в некоторых случаях общая численность бактериопланктона была выше и даже значительно выше, чем в поверхностных слоях, что возможно объясняется лучшими условиями существования микроорганизмов на глубине (повышенные концентрации пищевых субстратов). В целом по озеру среднегодовая величина общей численности бактерий составляла 2,90 кл/мл., а среднесезонная величина была 3,36 млн кл/мл. Численность в воде озера клеток гетеротрофных бактерий, нуждающихся для роста в соединениях белковой природы, за период февраль-сентябрь колебалась в пределах от 54 до 1400 кл/мл. Динамика развития бактерий этой группы в течение вегетационного сезона практически совпадала с динамикой развития бактериопланктона в целом. Очень небольшое количество клеток гетеротрофных бактерий присутствовало в воде озера в зимний период по льду, а максимум их числа был отмечен в июне, после чего происходило постепенное снижение плотности популяции гетеротрофных бактерий, хотя ещё и в сентябре их численность оставалась на достаточно высоком уровне (почти в 4 раза выше, чем зимой). Специфической чертой микробного сообщества оз. Свиного являлось повышенное количество микробных клеток в воде при высокой прозрачности воды озера. Так как численность фитопланктона и первичная продукция в летние месяцы в озере были не велики, можно предположить, что субстратами для питания бактерий служат органические вещества, выделяемые при деструкции тканей макрофитов, в том числе и нитчаток. На основании данных, характеризующих степень развития в озере гетеротрофных бактерий, нуждающихся для роста в легко минерализуемых органических соединениях, а также индекса Романенко, можно сделать вывод, что вода в озере Свиного относится к классу "чистых вод", а бактериопланктон играет важную роль в деструкции органического вещества нитчаток и высшей водной растительности в течение всего вегетационного периода.

Список литературы

- Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука 1989. 285 с.
- Романенко В.И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах. Л.: Наука. 1985. 295 с.
- Чеботарев Е.Н. Количественная характеристика бактериопланктона как показатель качества воды в озерах // Особенности формирования качества воды в разнотипных озерах Карельского перешейка. Л.: Наука. 1984. С. 133-151.
- Чеботарев Е.Н. Изменение численности, биомассы и продукции бактерий. // Методические аспекты экологического мониторинга. Л.: Наука. 1988. С. 76-84.
- Чеботарев Е.Н. Многолетние изменения в планктонном бактериальном сообществе озера Красного // влияние климатических изменений и эвтрофирования на динамику планктонных популяций мезотрофного озера. Санкт-Петербург. 2003. С. 61-76.

ЗООБЕНТОС В РАЙОНЕ БАЙКАЛЬСКОГО ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО КОМБИНАТА (БЦБК) (1974-2007 ГГ.)

О.В. Якунина, А.А. Матвеев

Гидрохимический институт Росгидромета РФ
344104, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 198, Россия, ghi@aanet.ru

Изучение состояния бентосных организмов в районе БЦБК ведется Росгидрометом с 1974 г. Контроль осуществляется на основе изучения общей биомассы, соотношения численности отдельных организмов и изменению их биомасс. В составе зообентоса на контролируемом участке дна в последнее десятилетие постоянно присутствуют 7 таксономических групп: олигохеты, хирономиды, амфиподы, моллюски, нематоды, турбеллярии, полихеты.

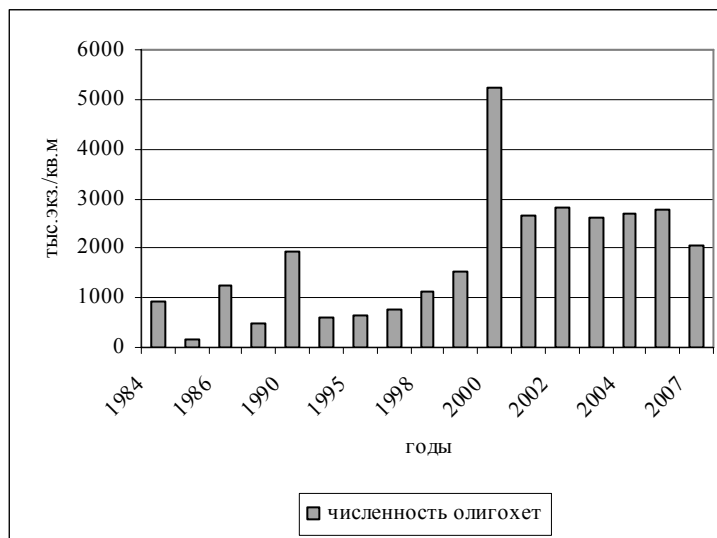
Наблюдения проводятся на площади 0,5 км² на 35 станциях, расположенных равномерно на глубинах 10-140 м. Донные отложения в районе полигона в основном представлены илистыми и илисто-песчаными осадками, реже песками. Отбор проб и обработка материалов проводится по общепринятой методике (Руководство, 1983).

На состояние донных биоценозов оказывают влияние рельеф дна, скорость оседания взвешенных веществ и направление течения. Характерной особенностью контролируемого района, как и всего прибрежного участка озера, является значительная изменчивость зообентоса.

Наблюдения с 1974 по 2007 гг. показали, что изменения в видовом составе зообентоса направлены в сторону уменьшения качественного разнообразия. Наиболее чувствительны к загрязнению донного биоценоза, непосредственно связанные с дном, моллюски – фильтраторы. Если до 1980 г. в районе, прилегающем к БЦБК, насчитывалось 27 видов моллюсков, то в 2006-2007 гг. количество видов сократилось до 12-15. Особенно страдают от загрязнения эндемичные виды. В отличие от допускового периода в районе сброса сточных вод на протяжении последних 10 лет в пробах не обнаружено 4 видов эндемиков рода *Baicalia* (*B. florii*, *B. bithyniopsis*, *B. ciliata*, *B. zachvatkini*), *Choanomphalus schrenkii* и *Pisidium*. Значительно реже стали встречаться многочисленные ранее *Benedictia baicalensis* (в 70-е годы эти моллюски были отмечены на 63% станций, в 1980 г. – на 53% станций, в 2006-07 гг. только на 12-15% станций).

За 25-летний период заметно снизился и видовой состав гаммарид, если в период с 1975 по 1980 год по данным Э.А. Ербаевой (1988) было зарегистрировано 62 вида и внутривидовых таксона гаммарид, то в последние годы по материалам Росгидромета наблюдается только 30-40 видов.

По данным Т.С. Каплиной (1974) в допусковой период (март 1966 г.) средняя биомасса зообентоса в районе комбината составляла 18,4 г/м². Наблюдения последних лет показали, что средняя биомасса снизилась до 10,2 г/м² при размахе величин от 6,6 до 12,7 г/м². В 90-е годы среднее значение биомассы составляло 8,2 г/м² (при колебании величин от 6,5 до 14,2 г/м²).



В последние годы произошло увеличение в 2,5 раза численности зообентоса (с 1831 экз./м² в 90-е годы, при колебании величин от 1330 до 4041 экз./м², до 4870 экз./м² в 2000-07 гг. при размахе величин от 2840 до 5402 экз./м²). Однако, это не свидетельствует об улучшении экологической обстановки в исследованном районе, т.к. рост численности идет в основном за счет увеличения количества олигохет и полихет. Тенденция увеличения численности и биомассы олигохет при

снижении этих же показателей у моллюсков и гаммарид свойственна загрязненным биотопам. Ниже на графике показана динамика увеличения численности олигохет за последние годы.

Биомасса зообентоса на мягких илистых грунтах у сброса сточных вод комбината в сравнении с 1968-71 гг. снизилась на глубинах 5-25 м с 54 до 23 г/м², на глубинах 20-60 м с 18 до 12 г/м², на глубинах 50-100 м, наоборот, отмечается увеличение биомассы с 19 до 21 г/м². Последнее связано с увеличением численности и биомассы олигохет на больших глубинах, вследствие увеличения накопления там загрязняющих веществ.

На основании многолетних исследований, проведенных Росгидрометом, можно утверждать, что наиболее пагубное влияние стоки комбината оказывают на эндемичную фауну озера Байкал. Сточные воды приводят к обеднению донной фауны этого района озера. Наблюдения за составом зообентоса показали, что на контролируемом полигоне под влиянием сточных вод идет процесс смены биоценоза. Донные биоценозы в районе распространения сточных вод не стабильны, эндемичные виды замещаются немногочисленными видами с высокой экологической валентностью.

Работа выполнена по материалам экспедиционных исследований Иркутского УГМС.

Список литературы

Ербаева Э.А. Макрозообентос в районе Байкальского ЦБК // Долгосрочное прогнозирование состояния экосистем. Новосибирск: Наука, 1988. С. 150-166.

Каплина Т.С. О состоянии макрозообентоса в районе Утулик-Мурино Южного Байкала в 1968-1971 гг. // Продуктивность Байкала и антропогенные изменения его природы. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та., 1974 г. С.214-230.

СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ В РАЙОНЕ БАЙКАЛЬСКОГО ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО КОМБИНАТА (БЦБК)

О.В. Якунина, А.А. Матвеев

*Гидрохимический институт Росгидромета РФ
344104, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 198, Россия, ghi@aanet.ru*

На протяжении более 40 лет акватория расположенного вдоль южного берега района оз. Байкал подвергается постоянному воздействию БЦБК. Загрязняющие вещества, поступающие в озеро со сточными водами комбината и его выбросами в атмосферу, по данным систематического контроля осуществляемого Росгидрометом создали в районе выпуска в озеро сточных вод БЦБК участки акватории и дна гидробиологические, гидрохимические и геохимические характеристики которых существенно отличаются от естественных показателей состояния озера.

Контроль за развитием микрофлоры донных отложений ведется постоянно с 1972 г. на полигоне, непосредственно расположенном у места сброса очищенных сточных вод комбината. Пробы отбираются из верхнего 2 см слоя осадков и обрабатываются по общепринятым методикам (Романенко, 1974, Руководство, 1983). До 1984 г. отбор проб проводился в 47 точках, расположенных в диапазоне глубин 10-500 м на площади 25 км². В связи со снижением финансирования на техническое обеспечение съемок с 1984 г. пробы отбираются на 29 станциях, до глубин 300 м, на площади 15 км². Гидробиологические съемки донных отложений осуществляются, как правило, два раза в год в подледный (март) или в начале лета (июнь) и осенний периоды года (сентябрь-октябрь).

Основная цель проводимого контроля донного биоценоза состоит в получении характеристик численности отдельных групп микрофлоры – гетеротрофных, целлюлозоразрушающих, сульфатредуцирующих, фенол-, углеводородокисляющих бактерий и показателей состояния зообентоса: численности, биомассы и видового состава бентосных организмов (см. статью «Зообентос в районе...» в этом же сборнике). Оценка влияния загрязняющих веществ сточных вод состоит в определении участков (зон) с повышенной, в сравнении с фоном, концентрацией основного показателя – численности гетеротрофов, микроорганизмов, развивающихся (питающихся) за счет органического вещества, и отклонению от фоновых характеристик показателей зообентоса. Гетеротрофы являются наиболее показательной группой микроорганизмов, которые влияют на интенсивность процессов разложения органического вещества значительное количество, которого, примерно 4.5 тыс. тонн в год поступает в озеро со сточными водами комбината. Отметим, что другие группы микроорганизмов, наблюдаемые нами в исследуемом районе, так же уверенно идентифицируют присутствие тех или иных загрязняющих веществ в зоне выпуска стоков комбината.

Определение участков (районов) дна на которых содержится повышенный уровень численности гетеротрофов, проводился методом группировки данных. Объем полученной по каждой съемке информации позволил выделить не менее 3-х групп данных. Предполагалось, что группа с низкой численностью гетеротрофов в большей мере соответствует фоновому или малозагрязненному уровню, а группа с максимальными значениями величин – сильно загрязненному участку контролируемого полигона. При оценке уровня загрязнения рассматривалась также средняя величина численности гетеротрофов, рассчитанная по всем точкам, для всего полигона. Сравнение многолетней динамики этого показателя с величинами поступления трудноокисляемых органических веществ со сточными водами комбината свидетельствуют о связи этих параметров.

Среднее значение численности гетеротрофов в начальный период исследований составляло 364 тыс.кл/г вл.ила, при колебании от 29 до 1170 тыс.кл/г вл.ила и, как оказалось, при рассмотрении полученных данных в ретроспективе, практически до 1977 г. фоновых характеристик близких к полученным позже, не наблюдалось т.е. в период с 1972 по 1977 гг. выделенные участки отличались лишь уровнем загрязненности – от очень сильного до слабого. В эти годы в зоне сильного загрязнения донных отложений средняя численность гетеротрофов была в 2,5 раза выше средней численности по всему полигону: 940 тыс. кл/г вл. ила и 364 тыс. кл/г вл. ила, соответственно.

По данным Э.А. Максимовой и Г.Н. Колесницкой (1982) численность гетеротрофной микрофлоры в летний период 1969 г. не превышала 38 тыс.кл/г вл.ила, к 1975г. среднее значение численности в зоне влияния комбината возросло до 615 тыс.кл/г вл.ила. По наблюдениям в 70-е годы тех же авторов на западном участке побережья у пос. Большие Коты, в районе практически не подверженном значительному антропогенному загрязнению и где, по мнению О.М. Кожовой (1982), биоценоз по своим характеристикам идентичен биоценозу вдоль южного побережья, численность гетеротрофов в донных отложениях не превышала 11 тыс. кл/г вл. ила.

В последующие годы, после 1977 г. произошло снижение численности гетеротрофов на всем исследуемом полигоне, в среднем до 33 тыс.кл/г вл.ила. В зоне загрязнения численность гетеротрофов оставалась, как и прежде, в 2 раза выше, чем на остальной площади полигона и равнялась 64 тыс.кл/г вл.ила. С конца 70-х годов в контролируемом районе появились станции с характеристиками близкими к фону, средняя численность гетеротрофов на которых, колебалась в пределах 7-10 тыс.кл/г вл.ила. Однако, уменьшение численности гетеротрофов не было связано с улучшением обстановки в районе сброса стоков комбината. Здесь начался процесс расплывания пятна загрязнения не только в северном направлении в сторону больших глубин, что зафиксировано и ранее до 1978 г., но и в восточном направлении за пределы контролируемого полигона.

Площадь зоны ультравысокого загрязнения в первые годы наблюдений колебалась от 2.8 до 11 км², далее происходил ее постоянный рост в сторону глубоководной части (на север) и частично в северо-восточном направлении. Все чаще зона оставалась не закрытой не только с севера, что было ожидаемо в связи со строением участков дна. Начиная примерно с 1979 г. зона загрязнения начала увеличиваться в восточном направлении и ее не удавалось оконтурить. Возникла необходимость расширения площади наблюдений в этом направлении. В таблице, помещенной ниже, приведено изменение размеров зоны загрязнения (в км²) в различные периоды наблюдений:

Период наблюдений	Подледный период	Лето	Осень	Примечание
1972-1977 (9)	$\frac{2.8-10}{7}$	$\frac{2.8-11}{6}$	-	в 7 съемках из 9 зона не закрыта с севера
1978-1988 (21)	$\frac{3-15}{10}$	-	$\frac{5-16}{12}$	в 18 съемках из 21 зона не закрыта с севера и востока
1989-2007 (33)	$\frac{2-9}{5}$	$\frac{2-7}{5}$	$\frac{2-6}{4}$	В 31 съемке из 33 зона не закрыта с севера и востока

Примечание: в скобках указано количество проведенных съемок, в числителе – размах величин, в знаменателе – среднее значение.

В последние 10 лет средняя численность гетеротрофов на фоновых станциях колебалась от 7 до 19 тыс.кл/г вл.ила при среднем значении 9,8 тыс.кл/г вл.ила. В выделяемой зоне загрязнения этот показатель остается неизменно более высоким – 45 тыс.кл/г вл.ила что в 4 раза выше, чем на фоновых станциях, при изменении численности гетеротрофов от 24 до 82 тыс.кл/г вл.ила. Площадь загрязнения колеблется в пределах 2-7 км² и постоянно остается открытой с севера и востока.

Существующая в районе выпуска сточных вод система течений влияет на внутригодовое распределение загрязняющих веществ и соответственно, на состояние микрофлоры донных

отложений. На примере среднемноголетних за 1999-2007 гг. данных представленных на рисунке, расположение загрязненных участков дна в подледный период (март) и осенью (сентябрь) в основном находится в восточном направлении по отношению к месту выпуска сточных вод комбината.

Период наблюдений	Зона загрязнения		Фоновый участок численность, тыс.кл/г вл.ила
	численность, тыс.кл/г вл.ила	площадь, км ²	
Март	24-45 37.5	> 6.4	8-11 9.5
Июнь	25-82 61	5.2	8-19 11
Сентябрь	24-47 36.5	> 6.4	7-12 8.2

Примечание: в числителе – размах величин, в знаменателе – среднее значение. Приведенные данные по размерам площадей загрязнения участков в марте и сентябре занижены, т.к. зоны не закрыты в восточном направлении.

По многолетним данным зона загрязнения в подледный и осенний периоды одинакова, составляет 6.4 км² при численности 38 и 37 тыс.кл/г вл.ила соответственно. Поскольку зона остается не закрытой, истинные размеры площади загрязнения мы можем только представить. Сточные воды под воздействием течений распространяются в восточном направлении до Хара-Муринской банки (приблизительно 12 км от места выпуска стоков комбината) и оказывают влияние на микрофлору донных отложений на площади около 50 км².

В начале лета (июнь) пятно имеет более компактный вид и расположено у места выпуска с некоторым смещением на запад. Восточная часть полигона в это время также загрязнена, но в меньшей мере относительно центрального пятна. Следует также отметить, что характеристика уровня загрязнения донных отложений по показателю численности гетеротрофов, в теплый период заметно выше, чем зимой и осенью, что отображено в таблице:

В июне площадь зоны загрязнения составляет 5.2 км² при среднем значении численности гетеротрофов 61 тыс.кл/г вл.ила.

Фоновые значения численности гетеротрофов за период 1998-2007 гг. изменялись в пределах 8.2-11.2 тыс.кл/г вл.ила и хорошо согласовываются с фоновыми станциями, выбранными О.М. Кожовой и Э.А. Максимовой (1982) в начале 70-х годов в Больших Котах, что подтверждает наши многолетние наблюдения.

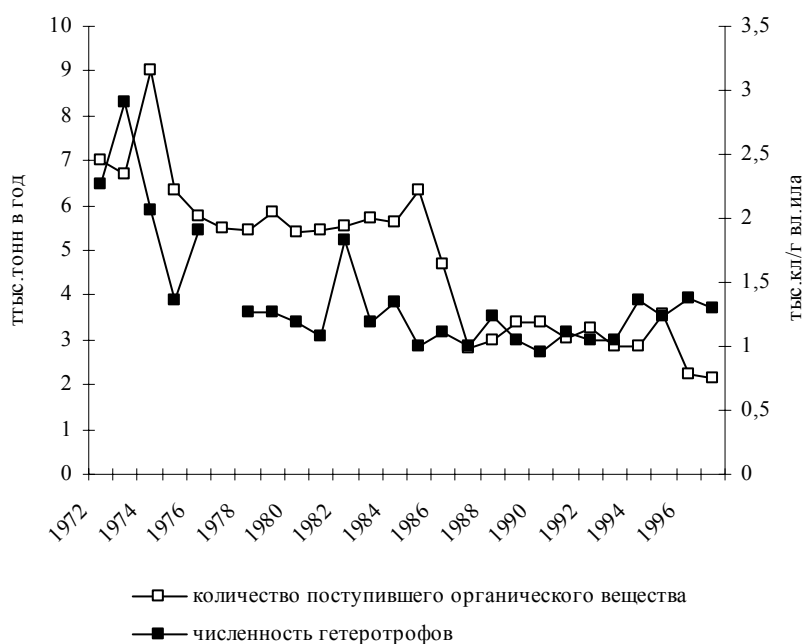
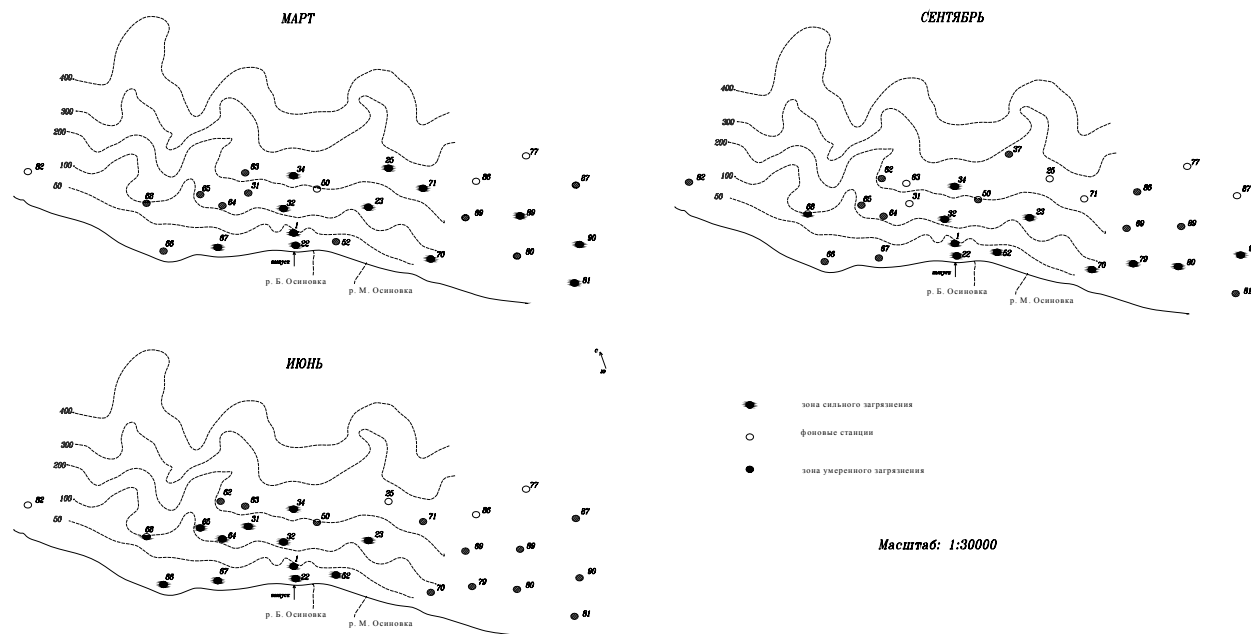


Схема расположения станций отбора проб донных отложений
в районе БЦБК 1999–2007 г.г.



По другим контролируемым группам микроорганизмов так же отмечен рост. Углекислородокисляющие микроорганизмы обнаружены повсеместно, их численность возросла в 100 раз с 1 тыс.кл в 1999 г. до 100 тыс.кл/г вл.ила в 2007 г. Наличие целлюлозоразрушающих бактерий, которые развиваются на остатках целлюлозы и лигнина в последние годы отмечено на всех исследованных станциях (в 1996-1998 гг.они обнаруживались только на 30-40% контролируемых станций).

В целом формирование численности гетеротрофов пределах контролируемого полигона связано с интенсивностью поступления загрязняющих веществ, в первую очередь органических веществ, со сточными водами комбината. Далее на рисунке представлены синхронные графики величин поступления органического вещества в озеро (в тыс. тонн в год) со стоками БЦБК и изменение средней численности гетеротрофов (в логарифмах тыс.кл/г вл. ила). Здесь приведены данные до 1998 г., т.к. затем информация о сбросах комбината перестала поступать в Росгидромет.

Сравнение динамик указанных показателей позволяет сделать вывод: несмотря на резкое снижение сброса органического вещества в 1987-1997 гг. уровень среднегодовой численности в пределах зоны влияния стоков не снизился, а наоборот, прослеживается тенденция роста этой характеристики. Не исключено, что в этот период происходил процесс вторичного загрязнения за счет ранее накопленного в донных отложениях органического вещества.

В заключении необходимо отметить, что загрязнение акватории и дна озера в районе выпуска сточных вод комбината подтверждается и другими микробиологическими показателями: сульфатредуцирующим, целлюлозоразрушающим, фенол-, углекислородокисляющим бактериям. Данные группы микроорганизмов практически всегда обнаруживаются на 40-100% станций контролируемого полигона в зависимости от сезона наблюдения.

Работа выполнена по материалам наших исследований и по данным экспедиционных работ Иркутского УГМС.

Список литературы

Кожова О.М. Проблемы экологического картирования. // Состояние сообществ Южного Байкала. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та., 1982 г. С. 13-19.

Максимова Э.А., Колесническая Г.Н. Микробные процессы в донных отложениях. // Состояние сообществ Южного Байкала. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та., 1982 г. С.105-126.

Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология организмов пресных водоемов. Л.: Наука., 1974г. 194 с.

Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л.: Гидрометеиздат., 1983 г. 239 с.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЧЕСКИЕ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ, ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Балабанова Л.В. ВОЗДЕЙСТВИЕ ПЕРМИТРИНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК МОЛОДИ СИБИРСКОГО ОСЕТРА	3
Бедулина Д.С., Шатилина Ж.М., Губанов М.В., Задереев Е.С., Протопопова М.В., Павличенко В.В., Тимофеев М.А. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ <i>GAMMARUS LACUSTRIS</i>	3
Блинова Н.К., Осмоловский В.А., Какичев А.П. ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ СТОЧНЫХ ВОД, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ СЫРОГО БЕНЗОЛА	5
Верголяс М.Р. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОРМУЛЫ КРОВИ РЫБ В БИОТЕСТИРОВАНИИ И БИОМОНИТОРИНГЕ	7
Волкова Е.Н., Задереев Е.С. ВЛИЯНИЕ АНАЛОГА ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА МЕТИЛ ФАРНЕЗОАТА НА ПАРАМЕТРЫ РОСТА И РАЗМНОЖЕНИЯ ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ	9
Голованова И.Л. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ	12
Голованова И.Л., Чуйко Г.М., Филиппов А.А. ВЛИЯНИЕ ПХБ НА ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ У МОЛОДИ ПЛОТВЫ	16
Горгуленко В.В., Гаськов Д. Ю., Кириллов В.В. ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ АРТЕМИА SPECIES К СОЕДИНЕНИЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ РАЗЛИЧЬ МИНЕРАЛИЗАЦИИ ВОДЫ	19
Гостюхина О.Л., Солдатов А.А., Головина И.В., Трусевич В.В., Столбов А.Я. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КАТИОННЫХ ДЕТЕРГЕНТОВ НА ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> LAM.	23
Жигалова Н.Н., Семенова А.С., Парфенова Я.В. ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ВОДНОЙ СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ В ЗООПЛАНКТОНЕ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ С ОПУХОЛЕПОДОБНЫМИ АНОМАЛИЯМИ	27
Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Чуйко Г.М. ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МОЛОДИ ПЛОТВЫ ОБЫКНОВЕННОЙ <i>RUTILUS RUTILUS</i> L.	31
Запруднова Р.А., Камшилов И.М. ИОНООБМЕННЫЕ И БУФЕРНЫЕ ПРОЦЕССЫ У РЫБ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИЗМЕНЕНИЮ pH СРЕДЫ	35
Иголкина Ю.В. ПОВЕДЕНЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ИНФУЗОРИИ <i>SPIROSTOMUM AMBIGUUM</i> НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ ИЗЛУЧЕНИЯ	40
Изюмов Ю.Г., Чеботарёва Ю.В. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛОДИ ПЛОТВЫ <i>RUTILUS RUTILUS</i> ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ	44
Ипатова В.И., Прохоцкая В.Ю. АДАПТАЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ	47
Ипатова В.И., Коломенская Е.Е. ОБ АДАПТАЦИИ <i>SCENEDESMUS QUADRICAUDA</i> К СТРЕПТОМИЦИНУ	50
Камшилова Т.Б., Чуйко Г.М. ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПХБ ПРИ ИХ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ С КОРМОМ НА МОЛОДЬ ПЛОТВЫ <i>RUTILUS RUTILUS</i> L. В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ	54
Козлова Н.В. ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ СЫРОЙ КАСПИЙСКОЙ НЕФТИ И ДИЭТАНОЛАМИНА НА ОРГАНИЗМ МОЛОДИ СЕВРЮГИ	59
Коломиец И.А., Дерябина Л.В., Тряпицына Г.А., Андреев С.С., Александрова О.Н., Прахин Е.А. БИОИНДИКАЦИЯ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМА В-11 ТЕЧЕНСКОГО КАСКАДА ВОДОЕМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЛОТВЫ (<i>RUTILUS RUTILUS</i> L.) И ОКУНЯ (<i>PERCA FLUFLAFILIS</i> L.)	61
Корниенко Г.Г., Сергеева С.Г., Ложичевская Т.В., Ружинская Л.П., Колесникова Л.В., Рудницкая О.А. ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ РЫБ АЗОВСКОГО БАСЕЙНА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ	66
Костюк К.В., Василенко О.В., Васильчук Т.А., Грубинко В.В. ВЛИЯНИЕ ФУЛЬВОКИСЛОТ НА АТФ-АЗНУЮ АКТИВНОСТЬ У ХЛОРЕЛЛЫ (<i>CHLORELLA VULGARIS</i> BEIJER)	69
Красюк Ю.Н. ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА НА НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАРПА	73
Красюк Ю.Н. ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА НА НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАРПА	76

Крылов В.В. ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭМП НА РАЗВИВАЮЩИЕСЯ ЭМБРИОНЫ <i>DAPHNIA MAGNA</i> , ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ОНТОГЕНЕЗА <i>D. MAGNA</i> В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	79
Кузьмина В.В. ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАЗНЫЕ ЗВЕНЬЯ ПРОЦЕССА ЭКЗОТРОФИИ У РЫБ	83
Мартемьянов В.И. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ НА ГИДРОБИОНТЫ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ИОННОГО ОБМЕНА	87
Медведь В.А., Клоченко П.Д., Калиновская А.В., Горбунова З.Н. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ РАДИАЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ	92
Мельникова Е.Б. ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ РОСТА РЫБ ДЛЯ ОПЕРАТИВНОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИИ	96
Минакова В.В., Карнаухова И.В., Соловых Г.Н. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МОЛЛЮСКОВ ВИДА <i>LIMNAEA PALUSTRIS</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ	98
Морозов А.А., Чуйко Г.М., Подгорная В.А. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ЛЕЩА (<i>ABRAMIS BRAMA L.</i>) ИЗ РАЙОНОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ	101
Назарова Е.А., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ КАРПА, ГОЛЫЦА И ОКУНЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ	105
Немова Н.Н. БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ДЕЙСТВИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ	109
Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М. РОСТ МОЗАМБИКСКОЙ ТИЛЯПИИ (<i>OREOCHROMIS MOSSAMBICUS</i> PETERS) ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ, НАФТАЛИНА И ДДВФ	112
Папченкова Г.А. ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИХ ГЕРБИЦИДОВ НА ПЛОДОВИТОСТЬ <i>DAPHNIA MAGNA</i> STRAUS (CLADOCERA)	114
Петухова Г.А., Нилогова А.В., Петухова Е.С. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЯСКИ МАЛОЙ (<i>LEMNA MINOR</i>) В ХОДЕ АДАПТАЦИИ К НЕФТЯНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ	119
Попов А.П., Цветков И.Л., Коничев А.С. КОМПЛЕКС ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕАЗ ЖИВОРОДКИ РЕЧНОЙ И ЕГО РЕАКЦИЯ НА ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ <i>IN VIVO</i>	123
Предеина Л.М., Федоров Ю.А., Предеин М.Н. ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И ЭСТЕРАЗ СЕСТОНА В МОДЕЛЬНЫХ И ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ	127
Протопопова М.В., Шатилина Ж.М., Павличенко В.В., Бедулина Д.С., Тимофеев М.А. УЧАСТИЕ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В МЕХАНИЗМАХ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ОЗ. БАЙКАЛ	130
Романенко В.Д., Потрохов А.С., Зиньковский О.Г. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ КАРПА К ИЗМЕНЕНИЮ КОНЦЕНТРАЦИИ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА В ВОДНОЙ СРЕДЕ	132
Рощина О.В. ВЛИЯНИЕ ФУНГИЦИДА КУПРОКСАТА НА АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ АМИНОТРАНСФЕРАЗ МОРСКОГО ЕРША	136
Рыбина Г.Е., Семенова И.Н. ВЛИЯНИЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ОБСКОЙ И ТАЗОВСКОЙ ГУБ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ <i>DAPHNIA MAGNA</i>	139
Сакевич А.И., Усенко О.М. ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДОРΟΣЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩИМИ ГЕРБИЦИДАМИ	143
Сарапульцева Е.И. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ГИДРОБИОНТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МАЛЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ	147
Сергеева С.Г., Рудницкая О.А. ОСОБЕННОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ СУДАКА <i>STIZOSTEDION LUCIOPERCA</i> АЗОВСКОГО БАССЕЙНА	150
Скуратовская Е.Н., Кузьмина Н.С. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СПИКАРЫ, ОБИТАЮЩЕЙ В ПРИБРЕЖНЫХ РАЙОНАХ Г. СЕВАСТОПОЛЯ (ЧЕРНОЕ МОРЕ)	153
Солдатов А.А., Гостюхина О.Л., Головина И.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ТКАНЕЙ ГИДРОБИОНТОВ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ЭКОДИАГНОСТИКИ (ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ)	157

Тимофеев М.А., Бедулина Д.С., Павличенко В.В., Путилина Т.Е., Протопопова М.В., Шатилина Ж.М. ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ МЕХАНИЗМА МНОЖЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КСЕНОБИОТИКАМ (MXR) У ПРЕСНОВОДНЫХ АМФИПОД <i>GAMMARUS LACUSTRIS</i> ПО ИНТЕНСИВНОСТИ ВЫВЕДЕНИЯ РОДАМИНА С	161
Ушакова Н.В., Кузьмина В.В., Чуйко Г.М. ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ, ПОСТУПАЮЩИХ С ПИЩЕЙ, НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА ПЛОТВЫ <i>RUTILUS RUTILUS</i> (L.)	164
Фальфушинская Г.И., Гнатишина Л.Л., Дедоурже-Джеффард О., Джеффард А., Биаджеанти-Рисбоург С., Столяр О.Б. АКТИВНЫЙ БИОМОНИТОРИНГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРЕСНОВОДНОГО ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>DREISSENA POLYMORPHA</i>	168
Фёдорова И.А., Полуконнова Н.В. ДИНАМИКА ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛИЧИНОК <i>CHIRONOMUS PLUMOSUS</i> (CHIRONOMIDAE, DIPTERA) ПРИ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ АТРОПИНА	172
Федосеева Е.В., Ключевская А.А., Стом Д.И., Терехова В.А. ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ С УЧАСТИЕМ БАЙКАЛЬСКИХ И ОБЩЕСИБИРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ	176
Филенко О.Ф., Оганесова Е.В. ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА РЫБ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В БИОТЕСТИРОВАНИИ	179
Цветков И.Л., Попов А.П., Коничев А.С. ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА МЕТАБОЛИЗМ СОРБИТА В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ЖИВОРОДКИ РЕЧНОЙ	182
Цема Н.И. УРОВЕНЬ КАРОТИНОИДОВ В ТКАНЯХ ЗРЕЛЫХ САМОК РУССКОГО ОСЕТРА ИЗ АЗОВСКОГО МОРЯ И В УСЛОВИЯХ ЗАВОДСКОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА	186
Чеботарева Ю.В. АНОМАЛИИ ПОЗВОНОЧНИКА У СЕГОЛЕТОК ПЛОТВЫ <i>RUTILUS RUTILUS</i> (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ	188
Шалыпин Г.П., Измestьев В.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ГИДРОБИОНТОВ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПГМГ-ФОСФАТА И ПГМГ-ГИДРОХЛОРИДА	192
Шатилина Ж.М., Лозовой Д.В., Потапов Д.С., Бедулина Д.С., Протопопова М.В., Тимофеев М.А. БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА У ГАСТРОПОД И АМФИПОД ВОДОЕМОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ В РАСТВОРАХ НЕФТИ	196
Шапкова Т.Л., Григорьев Ю.С. СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ТРОФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДАФИЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДЫ	198
Шеходанов В.О., Зотина Т.А. НАКОПЛЕНИЕ УРАНА В БИОМАССЕ <i>ELODEA CANADENSIS</i> И ОЦЕНКА ЕГО ТОКСИЧНОСТИ ДЛЯ РАСТЕНИЯ	202

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОПУЛЯЦИЙ ГИДРОБИОНТОВ И ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Адамович Б.В., Куцко Л.А., Сенникова В.Д. ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ РЕЖИМ И СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА ФИТОПЛАНКТОНА РЕКИ ДНЕПР В РАЙОНЕ КРУПНЫХ ГОРОДОВ БЕЛАРУСИ	206
Алексюк В.А. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЗООПЛАНКТОНА НИЖНЕЙ ОБИ В ПРЕДЕЛАХ ЯМАЛО-НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА	211
Бардинский Д.С. ВИДОВОЙ СОСТАВ, ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА РАЗЛИЧНЫХ РАЗМЕРНЫХ ФРАКЦИЙ ПРОТОЗОЙНОГО ПЛАНКТОНА В ОЗЕРАХ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УРОВНЮ ТРОФИИ	214
Гинатуллина Е.Н., Шерметова Д.Б. ЗООПЛАНКТОЦЕНОЗЫ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ МЕЛКИХ ОЗЕРКОЛЛЕКТОРНОГО СТОКА ХОРЕЗМСКОЙ ОБЛАСТИ УЗБЕКИСТАНА	217
Гусейнова В.П., Курейшевич А.В., Крылова Ю.В., Курашов Е.А. ОТКЛИК ПРЕСНОВОДНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ НЕФТЕПРОДУКТОВ	221
Дзюбан А.Н. БАКТЕРИОБЕНТОСНЫЕ СООБЩЕСТВА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ Г. ЧЕРЕПОВЦА	225
Дмитриева О.А., Семенова А.С., Чукалова Н.Н. ВЛИЯНИЕ «ЦВЕТЕНИЯ» СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА ЭКОЛОГИЧЕСКУЮ СИТУАЦИЮ В КУРШСКОМ ЗАЛИВЕ	229
Жукова А.А. ВКЛАД РАЗЛИЧНЫХ АВТОТРОФНЫХ СООБЩЕСТВ В ФОРМИРОВАНИЕ УРОВНЯ ПЕРВИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ОЗЕРА НАРОЧЬ В ПЕРИОДЫ ЭВТРОФИРОВАНИЯ И ДЕЭВТРОФИРОВАНИЯ	233
Завьялов А.В. АНАЛИЗ ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ ЧЕРНОМОРСКИХ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ В ПРИБРЕЖНЫХ РАЙОНАХ КРЫМА С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ	237

Золотарев В.А. СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ	241
Исаченко-Боме Е.А., Михайлова Л.В. ВОЗДЕЙСТВИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРИТОКОВ НА МАКРОЗООБЕНТОС РЕКИ ПЫШМЫ	244
....	
Киреева И.Ю. ЛЕТОВАНИЕ – КАК ФАКТОР СТАБИЛИЗАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВОДОЕМАХ	248
Кононова О.Н. РЕАКЦИЯ ПЛАНКТОННЫХ ЖИВОТНЫХ (ROTATORIA, CRUSTACEA) НА ОРГАНИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ	251
Кочурова Т.И. ЗООБЕНТОС РЕК В ЗОНЕ ЗАЩИТНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ОБЪЕКТА ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ «МАРАДЫКОВСКИЙ» (КИРОВСКАЯ ОБЛ.)	254
Красненко А.С. ЛИЧИНКИ ХИЩНЫХ НАСЕКОМЫХ, КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ ГОРОДА ИШИМА	259
Крупа Е.Г., Стуге Т.С., Фаломеева А.П., Трошина Т.Т., Киселева В.А. СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗООПЛАНКТОНА НАКОПИТЕЛЕЙ СТОЧНЫХ ВОД	262
Лабунская Е.Н. ИССЛЕДОВАНИЯ ФИТОПЛАНКТОНА НИЖНЕЙ ВОЛГИ И КАСПИЯ КАК ИНДИКАТОРА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОД	264
Ланге Е.К., Панов В.Е. РАЗВИТИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ЭСТУАРИЯ РЕКИ НЕВЫ В УСЛОВИЯХ СТРОИТЕЛЬСТВА «МОРСКОГО ФАСАДА» САНКТ-ПЕТЕРБУРГА	267
Левых А.Ю. СВОБОДНОЖИВУЩИЕ ПРОСТЕЙШИЕ ПРЕСНЫХ ВОДОЕМОВ ЮГА ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД.....	271
Макарцева Е.С., Бардинский Д.С. РОЛЬ ИНFUЗОРИЙ В ВЕСЕННЕМ ПЛАНКТОНЕ МЕЗОТРОФНОГО ОЗЕРА (НА ПРИМЕРЕ ОЗ. КРАСНОГО)	275
Малашенков Д.В. ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РЕЧНЫЕ СИСТЕМЫ ПО КАЧЕСТВЕННОМУ И КОЛИЧЕСТВЕННОМУ СОСТАВУ ФИТОПЛАНКТОНА.....	278
Малинина Ю.А. ЗООПЛАНКТОН ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ ПО НАБЛЮДЕНИЯМ 2007 Г.	281
Мамилов Н.Ш., Хабибуллин Ф.Х., Койшыбаева Г.С., Балабиева Г.К., Ибрагимова Н.А., Тулькибаева Н.Н., Галушак С.С. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИХТИОФАУНЫ НИЖНЕГО УЧАСТКА Р.СЫРДАРЬИ В УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩЕЙСЯ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ.....	284
Мамилов Н.Ш., Шалахметова Т.М., Кожабиева Э.Б., Бегимбетова Д.А., Хабибуллин Ф.Х., Галушак С.С., Акбердина Г.Ж., Болатбекова М., Пота Ф., Бланиш Х СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИХТИОЦЕНОЗОВ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ БАЛХАШСКОГО БАССЕЙНА	289
Матчинская С.Ф. ОЛИГОХЕТЫ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ УРБАНИЗИРОВАННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ ОЗ. ВЫРЛИЦА	293
Машина В.П. МИКРО- И МЕЗОБЕНТОС ДНЕПРОВСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ	296
Мингазова Н.М., Набеева Э.Г., Палазушкина О.В., Деревенская О.Ю., Павлова Л.Р., Поляков В.Д. СОСТОЯНИЕ БИОТИЧЕСКИХ СООБЩЕСТВ МАЛЫХ РЕК СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЯНЫХ РАЗЛИВОВ.....	299
Михеева Т.М., Ковалевская Р.З., Дубко Н.В., Шевелева О.А. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКЦИОННО-ДЕСТРУКЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАНКТОНА РЕКИ СВИСЛОЧЬ ПОСЛЕ ЕЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ	304
Пашкова О.В. ЗООПЛАНКТОН РЕКИ ИНГУЛЕЦ (КРИВБАС) В УСЛОВИЯХ МНОГОФАКТОРНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ	308
Подшивалина В.Н. СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА В УСЛОВИЯХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ НА ПРИМЕРЕ ЧУВАШСКОЙ РЕСПУБЛИКИ	312
Родионова Н.В., Панов В.Е. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ЗООПЛАНКТОНА В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИДРОСТРОИТЕЛЬСТВА В НЕВСКОЙ ГУБЕ (САНКТ-ПЕТЕРБУРГ)	316
....	
Сафонова Е.В. ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ВОДОЕМА В-11 ТЕЧЕНСКОГО КАСКАДА ВОДОЕМОВ	319
Семенова Л.А. ФИТОПЛАНКТОН НИЖНЕЙ ОБИ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ	324
Сенникова В.Д. ВОЗДЕЙСТВИЕ СБРОСНЫХ ВОД МИНСКОЙ ТЭЦ-5 НА ЭКОСИСТЕМУ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ	328
Сонина Е.Э. ВЫСШАЯ ВОДНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ И ЗООПЕРИФИТОН МАКРОФИТОВ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АЭС (САРАТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)	332
Супнес Н.Е. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ САПРОБНОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД	335

<i>Трофимчук М.М.</i> ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МОДЕЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМ В ФАЗОВОМ ПРОСТРАНСТВЕ «ПРОДУКЦИЯ-ДЕСТРУКЦИЯ" В НАТУРНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ	337
<i>Филинова Е.И.</i> ЗООБЕНТОС ВОДОЕМА- ОХЛАДИТЕЛЯ БАЛАКОВСКОЙ АЭС И ПРИЛЕГАЮЩИХ ВОДОЕМОВ	342
<i>Хромов В.М.</i> ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО ПРОДУКЦИОННО-ДЕСТРУКЦИОННЫМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ	345
<i>Чеботарёв Е.Н.</i> ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА В МАКРОФИТНОМ ОЗЕРЕ, НАХОДЯЩЕМСЯ В УСЛОВИЯХ ПОСТОЯННОЙ РЕКРЕАЦИОННОЙ НАГРУЗКИ ...	349
<i>Якунина О.В., Матвеев А.А.</i> СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ В РАЙОНЕ БАЙКАЛЬСКОГО ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО КОМБИНАТА (БЦБК)	353
<i>Якунина О.В., Матвеев А.А.</i> ЗООБЕНТОС В РАЙОНЕ БАЙКАЛЬСКОГО ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО КОМБИНАТА ПО МНОГОЛЕТНИМ НАБЛЮДЕНИЯМ	354
СОДЕРЖАНИЕ	359