

**ТЕСТИРОВАНИЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ФИНСКОГО ЗАЛИВА
ПО ВЫЖИВАЕМОСТИ АМФИПОД И КАРДИОАКТИВНОСТИ
МОЛЛЮСКОВ-УНИОИД ***

Березина Н. А.¹, Шаров А. Н.², Максимов А. А.¹, Холодкевич С. В.²

¹Зоологический институт Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация,
e-mail: nadezhda.berezina@zin.ru

²Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской
академии наук, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация: В этой статье представлены результаты комбинированной оценки донных отложений с разных участков восточной части Финского залива (Балтийское море) и определения содержания загрязняющих веществ (нефтепродукты, металлы, оловоорганические соединения). Результаты получены с использованием биотестирования по выживаемости амфипод *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) и по сердечной активности двусторчатых моллюсков *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758). Выживаемость амфипод коррелировала с содержанием трибутилолова (ТВТ), тяжёлых металлов, особенно свинца, а кардиорезистентность (время восстановления сердечного ритма после нагрузки) моллюсков оказалась наиболее чувствительной к загрязнению нефтепродуктами. Вместе с тем оба вида-индикатора выявили нарушенное состояние среды обитания на одних и тех же станциях. Продемонстрированы хорошая индикативность обоих показателей в отношении потенциальной токсичности донных отложений и важность их комбинированного применения, поскольку указанные виды чувствительны к воздействию разного рода загрязнений. Такие особенности могут быть связаны с жизнедеятельностью использованных в качестве тест-объектов видов животных.
Ключевые слова: биотестирование, биомаркеры, донные отложения, зообентос, Балтийское море.

Введение

Одна из наиболее значимых, фундаментальных научных проблем последнего десятилетия — это оценка состояния экосистем водоёмов в условиях меняющегося климата и одновременного воздействия антропогенных факторов. В России развитие мониторинга пресноводных и морских экосистем признано актуальной задачей, решение которой требует разработки новых методов и поиска чувствительных индикаторов для оценки качества водной среды.

Согласно современным представлениям и мировому опыту оценка эколого-токсикологического состояния водной среды уже невозможна без биологических показателей и данных оценки интегральной токсичности с помощью биотестирования [Бакаева, Никаноров, 2015]. Биотестирование (англ. bioassay) — это процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов (живых организмов), сигнализирующих о её потенциальной опасности для этих организмов, независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения их жизненно важных функций. Благодаря оперативности и доступности биотестирование широко используется во всём мире наряду с методами аналитической химии. Для успешной оценки и мониторинга загрязнения морской среды необходимо выявлять и рекомендовать эффективные чувствительные биоиндикаторы с учётом региональной специфики.

* Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 122031100274-7 и 122041100085-8 и частично при финансовой поддержке проекта ER90 HAZLESS Программы приграничного сотрудничества «Россия — Эстония» на 2014–2020 гг.

Отбор чувствительных тест-объектов с анализом показателей их состояния, отражающих связь между качеством окружающей среды и здоровьем живого организма, актуален и для Финского залива Балтийского моря. В этом регионе химическое загрязнение и периодически возникающая гипоксия придонных вод (из-за затоков) являются одними из основных факторов, ответственных за ухудшение качества среды обитания. При этом относительно мало известно о воздействии вредных веществ на биологические показатели донных животных, населяющих этот район. В Финском заливе макробентос обеднён, что связано с естественными гидрометеорологическими процессами, в частности с уменьшением речного стока и ухудшением кислородного режима глубинных вод [Максимов, Петухов, 2011]. Вместе с тем именно донные беспозвоночные, непосредственно связанные с донными отложениями, могут стать одними из лучших индикаторов их состояния. При этом важен выбор чувствительных показателей животных-биоиндикаторов, которые хорошо отражают состояние донных местообитаний. Из всех представителей бентосных сообществ моллюски и ракообразные наиболее часто используются в качестве тест-объектов в биомониторинге загрязнения окружающей среды.

Целью настоящей работы стало биотестирование качества донных отложений по показателям выживаемости амфипод и кардиорезистентности моллюсков в комбинации с аналитическим определением содержания тяжёлых металлов, оловоорганических соединений и полиароматических углеводородов в донных отложениях из глубоководных местообитаний (зон наибольшего накопления осадков и загрязнений) восточной части Финского залива. Основными критериями отбора тест-объектов были: хорошая представленность в незагрязнённых местообитаниях и лёгкость отлова организмов, связь со взвешенными веществами и донными отложениями, адаптированность к естественным колебаниям условий среды в заливе и пригодность для экспериментальных исследований.

Амфипода *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) появилась в Балтийском море более сорока лет назад [Berezina, Panov, 2003]. Этот вид обилен в сообществах мелководных опреснённых заливов северо-восточной части моря. Рачок в основном питается детритом, водорослями и мелкими беспозвоночными. В Балтийском море продолжительность жизни *G. fasciatus* составляет 1,5 года с репродуктивной паузой зимой. Благодаря высокой плодовитости (8–45 яиц в кладке в зависимости от длины тела самки) при нескольких кладках в течение года он достигает высокой численности. Все эти характеристики делают *G. fasciatus* привлекательным видом для биотестирования донных отложений и мониторинга окружающей среды в регионе Балтийского моря [Berezina et al., 2013].

Биотестирование по выживаемости ракообразных остаётся очень эффективным методом оценки качества вод. Бентосные амфиподы обладают большим потенциалом в тестировании токсичности отложений, поскольку они тесно связаны с отложениями либо благодаря своей роющей активности, либо заглатыванию частиц отложений [Bat, 2005]. Амфипод широко использовали для 10-дневных тестов на выживание в донных отложениях [Nipper, Greenstein, Bay, 1989; Chapman et al., 2021; Matthiessen et al., 1998; Bat, 2005; Strode, Balode, 2013; Berezina et al., 2013; Podlesińska, Dąbrowska, 2019].

Двустворчатые моллюски *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) широко распространены в Невской губе и восточной части Финского залива Балтийского моря. Встречается этот вид преимущественно в прибрежной части, на глубинах от нескольких сантиметров до нескольких метров, на песчаном, песчано-илистом и глинисто-песчаном дне. Большую часть времени моллюски проводят на одном месте, углубившись в песок и выставив верхнюю часть с ресничным отверстием. Питаются, как и все Unionidae, детритом, взвешенным в придонной воде, и мелкими планктонными организмами. Их тип питания и ограниченная подвижность, а также сравнительно большая продолжительность жизни (до 15 лет) делают этих моллюсков чувствительными к нарушениям среды обитания при загрязнении и хорошим индикатором состояния окружающей среды [Oliveira et al., 2015].

Реакция кардиосистемы моллюсков может рассматриваться как интегральный ответ организма на изменение факторов среды обитания [Depledge et al., 1996]. Частота сердечных сокращений (HR) отражает интенсивность физиологических процессов, а также во многих случаях позволяет судить о функциональном состоянии организма в целом. В последние годы появились неинвазивные методы регистрации кардиоактивности [Способ биологического мониторинга ... , 2006], что сделало возможным и удобным измерение сердечного ритма моллюсков в природных и лабораторных условиях [Шаров, Холодкевич, 2015].

Материал и методы

Донные отложения

Пробы донных отложений (серые и бурые илы) собраны в августе 2015 г. во время рейса на катамаране Centaurus-II на пяти глубоководных и одной мелководной станциях в местообитании тест-объектов в Финском заливе Балтийского моря (рис. 1, табл. 1). Также отбиралась придонная вода и проводились измерения вертикальных профилей гидрофизических параметров в морской среде: солёности и температуры воды с помощью океанологического зонда CTD SBE 19plus V2 с системой карусельного типа для отбора проб воды SBE32SC (Sea-Bird Scientific, США). Зонд оборудован розеткой с набором батометров для отбора проб воды с заданных горизонтов. Содержание кислорода измеряли в придонной воде методом Винклера [Standard methods ... , 1925]. В пробах донных отложений содержание органического углерода (C) определяли методом Тюрина (% на сухой вес донных отложений [Аринушкина, 1961]).

Амфиподы *G. fasciatus* и моллюски *A. anatina* были использованы при тестировании донных отложений, животные были собраны из их популяций в восточной части Финского залива, в районе парка «Дубки» (Сестрорецк, ст. 1 или Ref.), и перевезены в изотермических контейнерах в лабораторию.

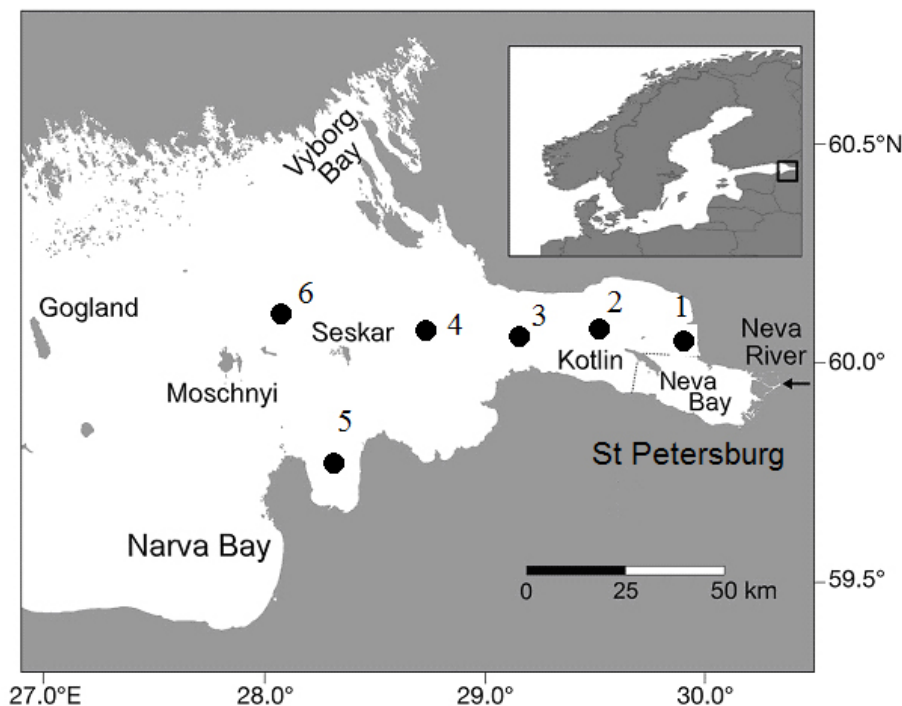


Рис. 1. Карта-схема восточной части Финского залива с отмеченными местами отбора проб (станции 2–6) и тестируемых животных (станция 1).
Станции: 1 (Сестрорецк, фоновая), 2 (2F), 3 (4F), 4 (2U), 5 (2L), 6 (17F)

Выживаемость амфипод

Проведён 10-суточный тест на выживаемость, который основан на процедурах, описанных в рекомендациях [Guidelines for general biological ... , 1998; Berezina et al., 2013], с амфиподой *G. fasciatus* (рис. 2а). Испытательная установка состояла из стеклянных стаканов объёмом 1 л со слоем исследуемого осадка 3 см (~ 100 г), приготовленного из мелкой фракции осадков (просеянных через сито 0,25 мм).

После 2-дневного периода акклиматизации в каждый химический стакан вводили по 20 подопытных животных. Во время проверочных экспериментов воду в тестовых стаканах (1 л) осторожно аэрировали аквариумным насосом через наконечник пипетки, расположенный на 2 см выше осадка. Стаканчики хранили при постоянной температуре (10 °С) и условиях 12 : 12 (свет : темнота). Амфипод ежедневно кормили смесью корма для рыб (ТетраМин®) и сушёных водорослей (1 : 3). В результате этой экспериментальной процедуры концентрация растворённого кислорода, температура, солёность и рН поддерживались на одном уровне от начала до конца воздействия.

После экспозиции вышележащую воду осторожно декантировали, а осадок просеивали через сито с отверстиями диаметром 0,5 мм для удержания амфипод, которых затем промывали в стеклянной посуде, подсчитывали и взвешивали. Выживаемость амфипод в каждом варианте рассчитывали как процент живых особей в конце теста по отношению к исходной численности.

Кардиоактивность моллюсков

В лаборатории моллюски были в течение трёх суток акклимированы к условиям содержания. Они содержались в 100-литровом аквариуме с фильтрованной водопроводной водой с добавлением морской соли, аквариум был оснащён системой аэрации (O₂, 9 г/л) и фильтрации (Eheim Professional 4) воды при искусственном освещении (12 светлых / 12 тёмных часов) и температуре воды 18 °С. На створки моллюсков в область сердца цианоакрилатным клеем были наклеены миниатюрные сёдла, в которых закреплялись волоконно-оптические датчики для регистрации ритма сердца [Kholodkevich et al., 2017]. Моллюсков в период акклимации кормили сухими водорослями.

Для тестирования донных отложений 48 моллюсков с длиной раковины 64–74 мм были случайным образом отобраны и распределены по 8 экз. в пластиковых 20-литровых аквариумах с донными отложениями. Были сформированы 6 групп: контрольная (очищенный песок со ст. 1) и 5 вариантов с 5-сантиметровым слоем донных отложений со станций залива. Солёность добавляемой воды соответствовала солёности на соответствующей станции. Время экспозиции на всех типах донных отложений составило 30 суток.

Частоту сердечных сокращений (HR) и время восстановления (Trec) тестируемых моллюсков после стресса до фонового уровня использовали в качестве маркера их физиологического статуса после окончания экспозиции. Измерение HR проводили индивидуально на каждой особи. Длина моллюсков была от 68 до 74 мм. Использовался неинвазивный волоконно-оптический метод [Kholodkevich et al., 2017]. Сердечная мышца моллюска модулировала периодические изменения отражения и рассеяния света низкоинтенсивного полупроводникового лазера. Оптический сигнал поступал с датчика, закреплённого на поверхности раковины моллюска, на цифровой фотоплетизмограф (ЛВОФ-3, ООО «НИЦ "Экоконтур"», Россия). Анализ кардиограммы проводили с помощью программного обеспечения VarPulse 8.6 (Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности, Россия). Средние значения частоты сердечных сокращений регистрировали по данным фотоплетизмограммы после стабилизации ритма на постоянном уровне в течение не менее двух часов.

Испытуемых моллюсков помещали на 1 ч в воду с повышенной солёностью (её получали путём добавления раствора NaCl до концентрации 6 г/л). Время восстановления частоты сердечных сокращений (Trec) измеряли как время (мин), необходимое для восстановления их сердечного ритма до фонового уровня.

Экологическое состояние исследуемых участков классифицировали по пятибалльной шкале: 1 — высокое, 2 — хорошее, 3 — удовлетворительное, 4 — критическое и 5 — плохое (табл. 1). Различные биологические эффекты (измеренные как «выживаемость амфипод» (Surv) и «время восстановления сердечного ритма к фоновому уровню у моллюсков» (Trec)) сравнивались с показателями в норме или с фоновыми значениями, то есть в не затронутом загрязнением местообитании, в данном случае — с показателями на ст. 1.

Таблица 1

Количественные критерии оценки экологического состояния исследуемых районов на основе показателей — выживаемости амфипод (Surv) и времени восстановления пульса моллюсков (Trec)

Показатель/класс качества	1	2	3	4	5
Состояние	<i>Отличное</i>	<i>Хорошее</i>	<i>Удовлетворительное</i>	<i>Плохое</i>	<i>Очень плохое</i>
Выживаемость амфипод, %	100–90	89–70	69–50	49–30	< 29
Время восстановления пульса, % от контроля	0–10	11–50	51–100	101–150	> 150

Анализ донных отложений

Анализ содержания металлов (Cu, Zn, Pb, Cd, Fe и Mn) проводили с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) масс-спектрометром Agilent 7700x (Япония). Точность измерения контролировалась с использованием сертифицированного стандарта (CRM 5365-90) и обеспечивала подходящее извлечение (< 5 %). Согласно [Карандашев и др., 2015] пробы грунта перед анализом высушивали в печи при 30 °С и просеивали через пластиковое сито с диаметром пор 1 мм. Проходящую фракцию измельчали в агатовой ступке и расщепляли, используя комбинацию сверхчистых кислот HCl/HF/HNO₃ (1 : 1 : 1) в микроволновой печи Mars 5 (СЕМ, США). Продукты расщепления переносили в полипропиленовые флаконы, разбавляли до 50 мл деионизированной водой [Вода для лабораторного ... , 1987] и анализировали.

Анализ содержания полициклических ароматических гидрокарбонатов (ПАУ) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на флуоресцентном детекторе [Методика выполнения измерений ... , 2009]. Анализ соединений ПАУ в отложениях в основном включает экстракцию органическими растворителями, очистку и разделение с помощью ВЭЖХ с ультрафиолетовым излучением.

Концентрации оловосодержащих соединений определяли методом газовой хроматографии на масс-спектрометре GS-МС [Качество почвы. Определение ... , 2018]. Подготовка проб осадка для определения ТВТ, процедуры экстракции и анализа описаны [Cole et al., 2015].

Донные отложения в основном (60–70 %) состояли из пелитовой (размер частиц < 0,01 мм) и алевритовой (0,01–0,05 мм) фракций и имели большое сходство между участками. Фракция песка (0,05–2 мм) колебалась от ничтожных значений (< 3 %) на ст. 6 и от 4–8 до 13 % на ст. 3–5. Аноксия на поверхности осадка и гипоксия в придонной воде не наблюдались, хотя значительное понижение содержания кислорода отмечено на станции 2F (2,8 мл/л, табл. 2). Глубина насыщенного кислородом слоя (отложения серого цвета) составляла около 5 см на станциях 2–4, но не превышала 1 см на участке 1. Общий органический углерод в отложениях колебался в пределах 0,5–7,1 % (табл. 2).

Статистика

Были рассчитаны средние со стандартными ошибками для HR и Trec, а также средние величины и их стандартные отклонения для показателя выживаемости амфипод. Проведён анализ корреляционной связи с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена. Значимыми корреляции считались при $p < 0,05$. При проведении сравнений с контролем использован критерий Манна — Уитни.

Таблица 2

Физико-химические характеристики придонных условий на станциях отбора и донных отложений в период отбора проб

Станция	Координаты	H	S	O ₂	C	Cd	Cu	Pb	Zn	ТВТ	ПАУ	НП
Ref.	60.080N, 29.920E	1–2	0,8	8,8	0,5	1	30	10	35	<10	45	<50
2F	60.083N, 29.501E	23	3,2	2,8	1,2	0,4–0,5	32	26–37	126	32	65	130
4F	60.064N, 29.193E	28	4	4,9	2,1	0,7–1	47	65–55	174	71	45	200
2U	60.084N, 28.717E	36	4,5	3,8	3,1	3,4–1,1	51	67–68	198	240	61	180
2L	59.907N, 28.179E	33	3,3	6,6	7,0	0,7–0,8	24	27–30	120	39	50	140
17F	60.115N, 28.179E	52	5,2	4,0	7,1	1,4–1,9	57	51–60	210	174	158	230

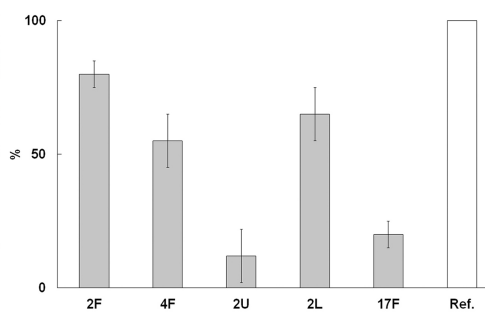
Примечания: H — глубина (м); S — солёность (г/л); O₂ — содержание кислорода в слое придонной воды (мл/л); C — содержание органического углерода в донных отложениях (%); Cd, Cu, Pb, Zn — содержание металлов (мг/кг с. в. (сухого вещества)); содержание оловосодержащих соединений — трибутилолова (ТВТ), полиароматических углеводородов (ПАУ) и нефтепродуктов (НП) (мкг/кг с. в. донных отложений).

Результаты и обсуждение

Оценка токсичности донных местообитаний (отложений) по выживаемости амфиподы *G. fasciatus* выявила несколько неблагоприятных участков (рис. 2). В контрольной пробе выживаемость составила 100 %, в то время как минимальная выживаемость (< 20 %) была обнаружена для донных отложений на станциях 2U и 17F.



(а)



(б)

Рис. 2. Результаты оценки качества местообитаний по выживаемости (%) амфипод *G. fasciatus* (10-дневный тест); а — фото рачка, б — средняя выживаемость и стандартное отклонение (%)

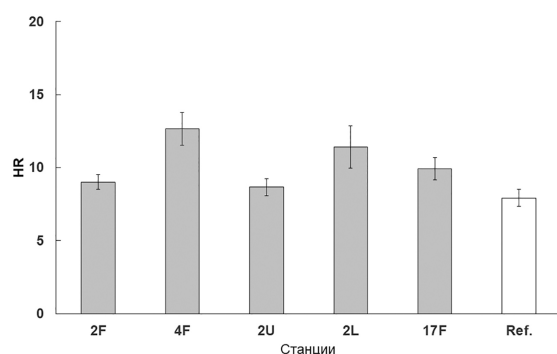
Частота сердечных сокращений варьировала в среднем от 8 до 13 ударов в минуту (рис. 3). Значимые отличия от фоновых значений (ст. Ref.) получены для моллюсков, экспонируемых с донными отложениями со станций 4F и 2L, они на 60 и 44 % соответственно превышали значения в контрольной пробе. При этом корреляций с измеренными характеристиками среды не обнаружено (табл. 3).

Наибольшее время восстановления HR (125 мин) моллюсков отмечено для донных отложений со станции 17F, оно в 2,5 раза выше, чем в контрольной пробе (46 мин). На станциях 4F и 2U превышение контрольных показателей составило > 100 %, что свидетельствует о переходе за порог хорошего и удовлетворительного качества среды (табл. 2).

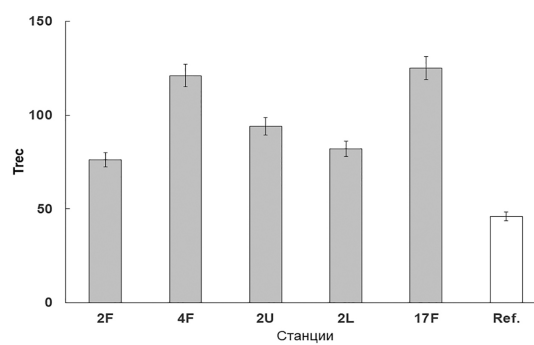
Показатели моллюсков и амфипод коррелировали с содержанием металлов, нефтепродуктов и оловосодержащих соединений (табл. 3). Также была обнаружена значимая обратная связь между временем восстановления сердечного ритма (кардиорезистентностью) моллюсков и выживаемостью амфипод (−0,83; p = 0,03).



(а)



(б)



(в)

Рис. 3. а — моллюски *A. anatina* во время тестирования, б — частота сердечных сокращений (HR), в — время восстановления частоты сердечных сокращений после нагрузки (Trec); приводится среднее значение и стандартная ошибка, n = 8

Таблица 3

Корреляции показателей и факторов среды

Показатель	Surv	p	HR	p	Trec	p
S	-0,94	0,003	0,37	NS	0,94	0,003
O ₂	0,43	NS	0,08	NS	-0,25	NS
C	-0,71	NS	0,49	NS	0,77	NS
Cd	-0,6	NS	-0,43	NS	0,31	NS
Cu	-0,77	NS	0,03	NS	0,77	NS
Pb	-0,99	0,003	0,26	NS	0,83*	0,03
Zn	-0,92	0,01	0,03	NS	0,73	NS
ТБТ	-0,94	0,03	0,37	NS	0,83*	0,03
ПАУ	-0,45	NS	0,66	NS	0,77	NS
НП	-0,83	0,03	0,60	NS	0,99	0,003
Surv	—	—	-0,25	NS	-0,83*	0,03

Примечания: S — солёность воды, O₂ — содержание кислорода, C — содержание углерода, НП — содержание нефтепродуктов; Surv — выживаемость, HR — частота сердечных сокращений, Trec — время восстановления сердечного ритма моллюсков; NS — связь недостоверна (p > 0,05)

Результаты показали, что показатели смертности амфипод (> 80 %) были самыми высокими на станциях 2U и 17F, что свидетельствует о высокой токсичности отложений. Донные отложения со станции 17F характеризовались высоким содержанием нефтепродуктов, ТВТ и свинца, что приводило к высокой смертности амфипод и увеличенному времени восстановления HR моллюсков (125 мин). На этой станции также выявлена наибольшая солёность придонной воды (5,2). Донные осадки в районах Лужской губы (2L) и Кронштадта (2F), согласно критериям качества для Трес (табл. 2), были в удовлетворительном состоянии, а по показателю выживаемости амфипод — в хорошем и удовлетворительном состоянии, что подтверждается и невысокой концентрацией загрязняющих веществ в донных отложениях.

Связь измеренных показателей с уровнем кислорода на станциях не обнаружена, что, видимо, связано с отсутствием выраженных гипоксических условий (< 3 мг/л) в период наблюдения и в эксперименте. Концентрация кислорода в придонном слое воды на тестируемых станциях залива колебалась от 2,8–6,6 (мл/л) или 4,0–9,4 (мг/л).

В целом моллюски наиболее чувствительны к загрязнению нефтепродуктами, а амфиподы больше реагировали на повышенное содержание ТВТ и тяжёлых металлов, особенно свинца (табл. 3). Таким образом, показаны, во-первых, хорошая индикативность обоих показателей (смертность амфипод и Трес моллюсков) в отношении потенциальной токсичности донных отложений и, во-вторых, важность применения обоих показателей в комбинации, поскольку они показывают чувствительность к воздействию разного рода загрязнений. Такие особенности могут быть связаны с жизнедеятельностью использованных в качестве тест-объектов видов животных.

Высокая чувствительность моллюсков при загрязнении нефтепродуктами показана ранее [Sukhareno, Nedzvetsky, Kyrychenko, 2017]. При изучении адаптации к присутствию растворённых нефтепродуктов у двустворчатого моллюска — мидии съедобной *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758, обитающей в Белом море, наблюдался рост частоты сердечных сокращений при концентрациях 8,0 и 38,0 мг/л [Бахмет и др., 2012]. При действии высоких доз нефтепродуктов в морской воде (38,0 мг/л) снижалось содержание холестерина и арахидоновой кислоты в тканях моллюсков, что и приводит к нарушению физиологических функций моллюска, включая характеристики сердечного ритма. Двустворчатые моллюски широко используются в биомониторинге для обнаружения как биоаккумуляции углеводов, так и биологических реакций на загрязнение нефтью [Cajaraville et al., 2000; Hylland et al., 2008; Turja et al., 2013]. Моллюски фильтруют взвешенные вещества из придонного слоя воды и поверхности донных отложений, где, как правило, аккумулируются нефтепродукты.

Амфиподы чувствительны к более широкому спектру загрязнений, включая нефтепродукты и ароматические углеводороды, содержащиеся в воде [Camus, Olsen, 2008; Turja et al., 2014]. Ранее обнаруживалась чувствительность амфипод к тяжёлым металлам и ТВТ в донных отложениях [Strode, Balode, 2013; Jacobson et al., 2011]. Амфиподы способны зарываться в донные отложения и питаться их частицами, таким путём накапливая в тканях вещества, ассоциированные с частицами грунта, в частности металлы и оловосодержащие соединения. При достижении определённого порога содержания такие донные отложения могут приводить к повышенной смертности организма. Эти пороговые концентрации составляют для ТВТ > 70 мкг/кг, а для металлов Zn и Pb > 120 и 60 мг/кг соответственно.

Важно также, что оба показателя (выживаемость амфипод и кардиорезистентность) были чувствительны к солёности воды (получены высокие корреляции). Это необходимо учитывать при использовании предложенных видов в тестах: солёность должна быть в диапазоне толерантности видов. Для взрослых особей амфиподы *G. fasciatus* верхняя граница толерантности к солёности воды составляет 4–6 ppt [Berezina, Panov, 2003], хотя в природных условиях, в частности в эстуарии р. Невы, их распространение ограничено солёностью выше 2 ppt из-за неудачного

размножения (эмбрионы и новорождённые особи чувствительны к солёности выше этого предела). Моллюски *A. anatina* и другие представители Anodontini адаптированы к жизни в воде солёностью до 6 ppt [Комендантов, Хлебович, Аладин, 2021], а на личиночных стадиях могут быть восприимчивы как к увеличению солёности воды > 2,9, так и к её понижению < 0,7 ppt [Beggel, Geist, 2015].

Выводы

Выбор подходящих организмов является важным шагом в разработке программ биомониторинга. Использование донных беспозвоночных (амфиподы *G. fasciatus* и моллюски *A. anatina*) как индикаторов для оценки качества донных отложений Финского залива показало их хорошую индикаторную реакцию на множественные стрессоры естественного и антропогенного происхождения. Применённые показатели выживаемости амфипод и кардиоактивности моллюсков при биотестировании донных отложений показали хорошую применимость, сопряжённость между самими показателями и уровнем загрязнения металлами, оловосодержащими соединениями и нефтепродуктами. Предложенные индикаторы позволяют быстро и экономически выгодно выявлять участки с повышенным риском накопления тех или иных опасных веществ и высоким уровнем потенциальной токсичности донных отложений для донной фауны, что должно получить дальнейшее развитие для целей регионального мониторинга.

Благодарности. Авторы благодарят сотрудников РГГМУ Т. Р. Еремину за организацию рейса, А. В. Исаева и О. В. Владимирову — за помощь в отборе проб и предоставленные данные по гидрохимии воды.

Список литературы

1. Ариццикина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. – Москва : Изд-во Моск. ун-та, 1961. – 491 с.
2. Бакаева Е. Н., Никаноров А. М. Биологические подходы к оценке экотоксикологического состояния водных экосистем // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2015. – № 1 (185). – С. 72–83.
3. Бахмет И. Н., Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Руоколайнен Т. Р., Немова Н. Н. Мидия *Mytilus edulis* L. Белого моря как биоиндикатор при воздействии растворённых нефтепродуктов // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2012. – № 2. – С. 38–46.
4. Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний : ISO 3696:1987 : введён впервые : дата введения 1987.04.01 // РСТ. Российский институт стандартизации : [офиц. сайт]. - Москва, 2021. – URL: <https://nd.gostinfo.ru/document/3628438.aspx> (дата обращения: 09.06.2022).
5. Карандашев В. К., Лейкин А. Ю., Хвостиков В. А., Куцева Н. К., Пирогова С. В. Анализ вод методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2015 – Т. 81, № 5. – С. 5–18.
6. Качество почвы. Определение содержания установленных оловоорганических соединений. Газохроматографический метод : ISO 23161:2018 : взамен ISO 23161:2009 : дата введения 2018.10.09 // РСТ. Российский институт стандартизации : [офиц. сайт]. - Москва, 2021. – URL: <https://nd.gostinfo.ru/document/6432906.aspx> (дата обращения: 09.06.2022).
7. Комендантов А. Ю., Хлебович В. В., Аладин Н. В. Особенности осмотической и ионной регуляции двустворчатых моллюсков в зависимости от факторов среды // Экология. – 1985. – № 5. – С. 35–42.

8. Максимов А. А., Петухов В. А. Роль макро- и мейобентоса в донных сообществах вершины Финского залива // Труды Зоологического института РАН. – 2011. – Т. 315, № 3. – С. 289–310.
9. Методика выполнения измерений массовой доли полиароматических углеводородов в пробах почв и донных отложений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии : ФР.1.31.2004.01279 // Еса Service : [сайт]. – [Б. м.], 2009. – URL: <https://ecaservice.ru/otraslevye-resheniya/applications89/?ysclid=18auvzkaa3142088543> (дата обращения: 09.06.2022).
10. Способ биологического мониторинга окружающей среды (варианты) и система для его осуществления : патент № 2308720С1 Российская Федерация : МПК G01N 33/18 (2006.01), G01N 21/17 (2006.01) / Холодкевич С. В., Иванов А. В., Корниенко Е. Л., Куракин А. С. – № 2006122457/13 ; заявл. 20.06.2006 ; опубл. 20.10.2007, Бюл. № 29.
11. Шаров А. Н., Холодкевич С. В. О некоторых особенностях использования пресноводных двустворчатых моллюсков при проведении экотоксикологических исследований на основе мониторинга их кардиоритма волоконно-оптическим методом // Принципы экологии. – 2015. – № 2 (14). – С. 21–28.
12. Bat L. A review of sediment toxicity bioassays using the amphipods and polychaetes // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 2005. – Vol. 5, nr 2. – P. 119–139.
13. Beggel S., Geist J. Acute effects of salinity exposure on glochidia viability and host infection of the freshwater mussel *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) // Science of the Total Environment. – 2015. – Vol. 502. – P. 659–665. – <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.067>
14. Berezina N. A., Panov V. E. Establishment of new gammarid species in the eastern Gulf of Finland (Baltic Sea) and their effects on littoral communities // Proceedings of the Estonian Academy of Sciences: Biology and Ecology. – 2003. – Vol. 52, № 3 – P. 284–304.
15. Berezina N. A., Strode E., Lehtonen K. K., Balode M., Golubkov S. M. Sediment quality assessment using *Gmelinoides fasciatus* and *Monoporeia affinis* (Amphipoda, Gammaridea) in the northeastern Baltic Sea // Crustaceana. – 2013. – Vol. 86, № 7/8. – P. 780–801. – <https://doi.org/10.1163/15685403-00003215>
16. Cajaraville M. P., Bebianno M. J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach // Science of the Total Environment. – 2000. – Vol. 247, iss. 2/3. – P. 295–311. – [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00499-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00499-4)
17. Camus L., Olsen G. H. Embryo aberrations in sea ice amphipod *Gammarus wilkitzkii* exposed to water soluble fraction of oil // Marine Environmental Research. – 2008. – Vol. 66, iss. 1. – P. 221–222. – <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.02.074>
18. Chapman P. M., Swartz R. C., Roddie B., Phelps H. L., Hurk P. V. D., Butler R. An international comparison of sediment toxicity tests in the North Sea // Marine Ecology Progress Series. – 1992. – Vol. 91. – P. 253–264. – <https://doi.org/10.3354/meps091253>
19. Cole R. F., Mills G. A., Parker R., Bolam T., Birchenough A., Kröger S., Fones G. R. Trends in the analysis and monitoring of organotins in the aquatic environment // Trends in Environmental Analytical Chemistry. – 2015. – Vol. 8. – P. 1–11. – <https://doi.org/10.1016/j.teac.2015.05.001>
20. Depledge M. H., Lundebye A.-K., Curtis T., Aagaard A., Andersen B. B. Automated interpulse-duration assessment (AIDA): a new technique for detecting disturbances in cardiac activity in selected macroinvertebrates // Marine Biology. – 1996. – Vol. 126, iss. 2. – P. 313–319.
21. Guidelines for general biological effects monitoring / Oslo and Paris Commis. – [S. l.] : OSPAR, 1998. – 38 p. – (Joint Assessment and Monitoring Programme).

22. Hylland K., Tollefsen K.-E., Ruus A., Jonsson G., Sundt R. C., Sanni S., Utvik T. I. R., Johnsen S., Nilssen I., Pinturier L., Balk L., Barsiene J., Marigomez I., Feist S. W., Borseth J. F. Water column monitoring near oil installations in the North Sea 2001–2004 // *Marine Pollution Bulletin*. – 2008. – Vol. 56, iss. 3. – P. 414–429. – <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.11.004>
23. Jacobson T., Sundelin B., Yang G., Ford A. T. Low dose TBT exposure decreases amphipod immunocompetence and reproductive fitness // *Aquatic Toxicology*. – 2011. – Vol. 101, iss. 1. – P. 72–77. – <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.09.001>
24. Kholodkevich S. V., Kuznetsova T. V., Sharov A. N., Kurakin A. S., Lips U., Kolesova N., Lethonen K. K. Applicability of a bioelectronic cardiac monitoring system for the detection of biological effects of pollution in bioindicator species in the Gulf of Finland // *Journal of Marine Systems*. – 2017. – Vol. 171. – P. 151–158. – <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2016.12.005>
25. Matthiessen P., Bifield S., Jarrett F., Kirby M. F., Law R. J., McMinn W. R., Sheahan D. A., Thain J. E., Whale G. F. An assessment of sediment toxicity in the River Tyne estuary, UK by means of bioassays // *Marine Environmental Research*. – 1998. – Vol. 45, no. 1. – P. 1–15.
26. Nipper M. G., Greenstein D. J., Bay S. M. Short- and long-term sediment toxicity test methods with the amphipod *Grandidierella japonica* // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 1989. – Vol. 8, iss. 12. – P. 1191–1200. – <https://doi.org/10.1002/ETC.5620081212>
27. Oliveira P., Lopes-Lima M., Machado J., Guilhermino L. Comparative sensitivity of European native (*Anodonta anatina*) and exotic (*Corbicula fluminea*) bivalves to mercury // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. – 2015. – Vol. 167, pt A. – P. 191–198. – <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.06.014>
28. Podlesińska W., Dąbrowska H. Amphipods in estuarine and marine quality assessment – a review // *Oceanologia*. – 2019. – Vol. 61, iss. 2. – P. 179–196. – <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2018.09.002>
29. Standard methods for the examination of water and sewage / Amer. Publ. Health Assoc. [et al.]. – 6th ed. – New York : APHA, 1925. – [?] p.
30. Strode E., Balode M. Toxicity-resistance of Baltic amphipod species to heavy metals // *Crustaceana*. – 2013. – Vol. 86, no. 7/8. – P. 1007–1024.
31. Sukharenko E. V., Nedzvetsky V. S., Kyrychenko S. V. Biomarkers of metabolism disturbance in bivalve molluscs induced by environmental pollution with processed by-products of oil // *Biosystems Diversity*. – 2017. – Vol. 25, iss. 2. – P. 113–118. – <https://doi.org/10.15421/011717>
32. Turja R., Soirinsuo A., Budzinski H., Devier M. H., Lehtonen K. K. Biomarker responses and accumulation of hazardous substances in mussels (*Mytilus trossulus*) transplanted along a pollution gradient close to an oil terminal in the Gulf of Finland (Baltic Sea) // *Comparative Biochemistry and Physiology. Pt C, Toxicology and Pharmacology*. – 2013. – Vol. 157, iss. 1. – P. 80–92. – <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.09.006>
33. Turja R., Guimaraes L., Nevala A., Kankaanpää H., Korpinen S., Lehtonen K. K. Cumulative effects of exposure to cyanobacteria bloom extracts and benzo[a]pyrene on antioxidant defence biomarkers in *Gammarus oceanicus* (Crustacea: Amphipoda) // *Toxicon*. – 2014. – Vol. 78. – P. 68–77. – <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.11.015>

TESTING OF BOTTOM SEDIMENTS FROM THE GULF OF FINLAND USING AMPHIPOD SURVIVAL AND CARDIACITY OF UNIONID MOLLUSCS

Berezina N. A.^{1*}, Sharov A. N.², Maximov A. A.¹, Kholodkevich S. V.²

¹*Zoological Institute of RAS, St. Petersburg, Russian Federation,*

e-mail: nadezhda.berezina@zin.ru

²*St. Petersburg Federal Research Center RAS,*

St. Petersburg Research Center for Environmental Safety of RAS, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: This article presents the results of a combined assessment of bottom sediments from different parts of the eastern Gulf of Finland (Baltic Sea) using biotesting on the survival of the amphipod *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) and on the cardiac activity of the bivalve mollusks *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) and the determination of pollutants (petroleum products, metals, organotin compounds) in bottom sediments. The survival of amphipods correlated with the content of TBT and heavy metals, especially lead, and cardiac resistance (time to restore the heart rate after loading) of mollusks was most sensitive to oil pollution. At the same time, both indicator species revealed the disturbed state of the habitat at the same stations. A good indication of both indicators in relation to the potential toxicity of bottom sediments was revealed and, secondly, the importance of using both indicators in combination, since they are sensitive to the effects of various kinds of pollution. Such features may be related with the activity and feeding type of the animal species used as test objects.

Keywords: biotesting, biomarkers, bottom sediments, zoobenthos, Baltic Sea.

Сведения об авторах

Березина Надежда Александровна	кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Зоологический институт Российской академии наук», nadezhda.berezina@zin.ru
Шаров Андрей Николаевич	доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», «Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук», sharov_an@mail.ru
Максимов Алексей Александрович	доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Зоологический институт Российской академии наук», alexey.maximov@zin.ru
Холодкевич Сергей Викторович	доктор технических наук, главный научный сотрудник ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», «Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук», kholodkevich@mail.ru

Поступила в редакцию 04.07.2022 г.

Принята к публикации 25.08.2022 г.