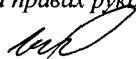


4

На правах рукописи



ИПАТОВ ИЛЬЯ АНДРЕЕВИЧ

**БИОИНДИКАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛЛЮСКОВ В
ИССЛЕДОВАНИЯХ РАЗОВОГО И РЕТРОСПЕКТИВНОГО
ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ**

03.02.08 – экология (биологические науки)

21 МАР 2018

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



008705887

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре зоотехнии и биологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П. А. Костычева».

Научный руководитель: **Коровушкин Алексей Александрович**
доктор биологических наук, доцент,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П. А. Костычева», профессор кафедры зоотехнии и биологии

Официальные оппоненты: **Хромов Виктор Михайлович**
доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», главный научный сотрудник кафедры гидробиологии

Юнусов Худайназар Бекназарович
кандидат химических наук, доцент,
Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Московский государственный областной университет», декан биолого-химического факультета

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный университет - МСХА им. К. А. Тимирязева

Защита состоится «19» апреля 2018 года 16 часов 00 минут на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 212.203.38 при Российском университете дружбы народов по адресу: 115093, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8/5.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте dissovet.rudn.ru

Автореферат разослан «19» ^{марта} февраля 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Е. А. Ванисова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Фундаментальной проблемой, на решение которой направлена работа, является отсутствие комплекса параметров, определяющих механизмы влияния экологических факторов на моллюсков. Это препятствует созданию систематизированного материала о маркерных биоиндикаторных показателях, отражающих влияние на этих беспозвоночных разового и хронического загрязнения поверхностных вод и донных отложений водоёмов (Васильев, 2003; Гуляева, 1994), необходимого для оценки процессов антропогенной деградации (Горюнова, 2006), в особенности вызванных накоплением тяжелых металлов в экосистемах малых рек (Мажайский, 2001). Н. А. Черных (2012) указывают в качестве первоочередной задачи гидробиологической экспертизы определение источников поступления поллютантов в водоём, что делает представителей класса *Bivalvia* особенно ценными биоиндикаторами.

Актуально в мониторинге антропогенного загрязнения среды в качестве маркерных показателей при биоиндикации, использовать активность фермента фосфатаза и показатели динамики продуктов перекисного окисления липидов в тканях животных, в частности моллюсков (Цветков 1998; 2009; Нефедова, 2011; Коровушкин, 2011; Гханнам, 2010; Юнусов, 2016).

Целью исследований является выявление биоиндикаторных показателей моллюсков в исследованиях разового и ретроспективного загрязнения водоёмов.

Задачи:

1. Выявить типы загрязнения водоёмов для совершенствования приёмов биоиндикации (на примере окского бассейна на территории Рязанской области);
2. Выявить перспективный для биоиндикации вид двустворчатых моллюсков;
3. Проанализировать показатели динамики ТБК-активных продуктов в органах моллюсков, для использования их в качестве тест-реакции на загрязнение среды;
4. Проанализировать показатели динамики активности фосфатазы в гепатопанкреасе моллюсков для использования их в качестве тест-реакции на загрязнение среды.

Положения, выносимые на защиту:

1. В условиях загрязнения водоёмов (на примере окского бассейна Рязанской области) для повышения эффективности биоиндикации необходимо применять подходы, учитывающие, как различия в характерах разового и хронического загрязнения водоёмов, так и особенности стрессовых реакций и хронических изменений в органах моллюсков, используемых в качестве индикаторов.

2. Важным критерием эффективности биоиндикации, является выбор перспективного вида двустворчатых моллюсков, отличающегося совокупностью высокой встречаемости, биомассы, индивидуального размера

особей и индикаторной способности, при определении хронического и острого токсического воздействия среды.

3. Существует взаимосвязь хронологии загрязнения водоёмов и динамики накопления ТБК-активных продуктов в органах биоиндикаторных организмов различных возрастных групп, отражающая изменения интенсивности поступления поллютантов в среду за весь период онтогенеза тест-объекта.

4. Динамика стрессовой реакции биоиндикаторных организмов при разовых выбросах поллютантов в водоём является эффективным методом экспресс-контроля и поиска источников загрязнения в водоёмах региона.

Научная новизна работы. Впервые, (на примере водоёмов окского бассейна, расположенных на территории Рязанской области), выявлен вид моллюсков, который возможно использовать для биоиндикации текущего и хронического загрязнения поверхностных вод и донных отложений водоемов. На основе анализа динамики интерьерных показателей моллюсков, доказано, что маркерной тест-реакцией на стресс, вызванный изменением среды, является динамика концентрации ТБК-активных продуктов и фосфатазной активности в гепатопанкреасе. Доказано, что изменения концентрации ТБК-активных продуктов отражают ретроспективную динамику продолжительного загрязнения, активность фосфатазы – кратковременную токсикацию среды, возникающую в результате аварийных ситуаций на очистных сооружениях или при несанкционированных сбросах загрязнителей в водоемы.

Объект исследования: двустворчатые моллюски *Unio pictorum* (перловица обыкновенная), *Anodonta anatina* (беззубка утиная), *Anodonta cygnea* (беззубка обыкновенная), *Sphaerium corneum* (роговая шаровка), *Pisidium amnicum* (горошинака речная), *Dreissena polymorpha* (дрейссена речная).

Практическая и теоретическая значимость работы. В практической работе экологов, при получении достоверной хронологической картины загрязнения водоёма, возникает необходимость многократных исследований. Доказано, что применение моллюсков в качестве индикаторных организмов, позволяет получать ретроспективную картину загрязнения за один пробоотбор и оперативно выявлять аварийное загрязнение водоёма при кратковременной продолжительности токсикации поверхностных вод. Результаты исследований можно использовать в образовательном процессе и в производственных лабораториях, в качестве легко исполнимой, показательной и эффективной методики биоиндикации, не требующей дорогостоящих аппаратуры и реактивов.

Личный вклад автора заключается в выявлении показателей моллюсков для биоиндикации в естественных условиях водоёмов окского бассейна Рязанской области; в моделировании эксперимента по выявлению тест-реакций активности фосфатаз и ТБК-активных продуктов во внутренних органах моллюсков *Unio pictorum*; в анализе литературных источников, статистической обработке, систематизации и публикации (в соавторстве) полученных материалов.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава «Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования» (24-26 января, 2015, Санкт-Петербург); XII Международной студенческой научной конференции «Знания молодых - будущее России» (Киров 2014); на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов ФГБОУ ВПО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П. А. Костычева» (Рязань, 2014), Восемнадцатой международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук», 19 января, 2015 г, Рязань, XXII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2015», Международной научно-практической конференции «Наука и образование в свете импортозамещения и обеспечения национальной продовольственной безопасности» филиал ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления» им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» в г. Мелеуз, 23-24 апреля 2015 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из глав: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, выводы, список использованной литературы. Общий объем работы 114 стр., в диссертации 16 таблиц, 10 диаграмм и 10 рисунков. Список использованной литературы включает 167 источников.

Благодарности. Автор благодарит своего руководителя – доктора биологических наук, профессора А. А. Коровушкина, доктора биологических наук, профессора С. А. Нефедову, сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВО РГАТУ, сотрудников Рязанской гидрохимической лаборатории ФГВУ «Центррегионводхоз» за помощь и поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1. **Обзор литературы** изучено современное состояние исследований по индикаторной способности моллюсков в решении проблемы биоиндикации токсичности водной среды. Приоритетное значение отдается динамике ферментативной активности органов и тканей, под действиями условий среды. Сообщается о высокой достоверности исследований токсичности воды при использовании в качестве тест-объекта гидробионтов. Оценена возможность биоиндикации токсичности среды с использованием в качестве ответной реакции динамики продуктов перекисного окисления липидов в органах моллюсков; установлены механизмы срочной и устойчивой адаптации моллюсков с участием комплекса фосфатаз и продуктов перекисного окисления липидов.

В главе 2. Материалы и методы исследований приведена схема исследований и экспериментальные створы, перечислены ГОСТ, ПНДФ и методики для гидрохимического анализа, биохимического исследования мягких тканей моллюсков, описано моделирование экспериментальной части работы, перечислены реактивы, приборы, определители моллюсков и методики для биоиндикации. Исследования проводились с 2008 по 2015 годы, согласно схеме (рисунок 1). Сбор моллюсков осуществляли в створах с гидрохимическим загрязнением среды трёх типов и моделировали экспериментальную среду, идентичную этим типам в аквариумах.

Для изучения разнообразия моллюсков в водоёмах окского бассейна, и возможности их применения в биоиндикации осуществляли контрольный отлов и учёт представителей класса *Bivalvia* на площадках по 8 м². В каждом водоёме анализировали по три экспериментальные площадки. В качестве контрольного показателя использовали общую биомассу моллюсков каждого вида, количество особей и их размер.

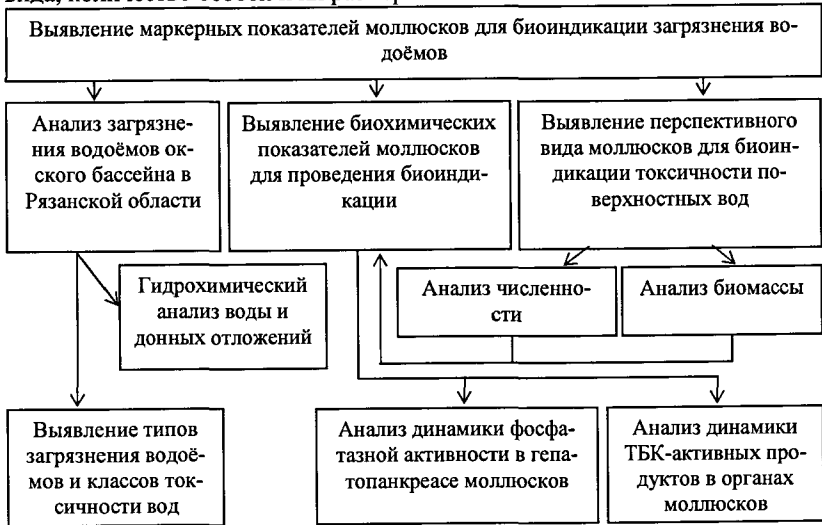


Рисунок 1 – Схема исследований

Для исследования накопления ТБК-активных продуктов в тканях и органах моллюсков *U. pictorum* использовали 41 группу организмов по 5 особей в каждой (всего 205 особей). Для исследования фосфатазной активности использовали 14 групп моллюсков, по 5 особей в каждой (всего 70 особей). Определение возраста моллюсков производили путём подсчета колец годового прироста на поверхности раковины. Определение содержания ТБК-активных продуктов проводили в следующих органах и тканях моллюсков: гонады, жабры, мышечная масса ноги, гепатопанкреас согласно методике

Uchiyama (1980). Содержание цинка, свинца, меди и кадмия в теле моллюсков определяли согласно ГОСТ 30178-96, ИСО 8288-86. Выявление фосфатазной активности в гепатопанкреасе моллюсков проводили в соответствии с методикой И. Л. Цветкова и соавт. (2007). Биохимический анализ активности кислой фосфатазы проводили на КФК-2 при длине волны 415 нм.

Для исследования влияния разового выброса в водоем высоких концентраций меди, моделировали эксперимент, в котором организмы были разбиты на 4 группы. Эксперимент проводили в трёх параллелях: 1 группа (контрольная, $n=75$), находилась в условиях, когда концентрация тяжелого металла в воде была в норме; 2-ая группа ($n=75$) была помещена в воду, содержание тяжелого металла в которой в течение первых 4 часов удерживалось в пределах 1,5ПДК; 3-ая группа проходила 4-х часовую экспозицию тяжелым металлом в концентрации 3ПДК, 4-я группа – 10ПДК. После 4-х часовой экспозиции поллютантом моллюсков возвращали в воду с концентрацией тяжелого металла в пределах нормы, что свойственно естественной среде их обитания в водоёме, где были выловлены беспозвоночные для проведения эксперимента.

Для анализа комплексного воздействия нескольких тяжелых металлов сформированы 4 группы моллюсков. Эксперимент проводили в трёх параллелях: 1 группа (контрольная, $n=75$), находилась в условиях, когда концентрация тяжелых металлов в воде была в норме; 2-ая группа ($n=75$) была помещена в воду, содержание тяжелых металлов в которой в течение первых 4 часов удерживалось в пределах 5ПДК цинка, 10ПДК меди и 1,3ПДК свинца. После 4-х часовой экспозиции моллюсков в экспериментальной среде, их возвращали в чистую воду, свойственную естественной среде их обитания в водоёме.

Для исследования особенностей стресс-реакции моллюсков при однократном воздействии поллютантов, был смоделирован эксперимент, в котором в качестве тест-реакции использовали динамику фосфатазной активности в гепатопанкреасе. Для моделирования данного эксперимента в аквариумы (объемом 40 литров) добавляли разное количество сточных вод свиноводческого комплекса. Сформировали 3 группы моллюсков ($n=15$). Контрольная группа моллюсков ($n=15$) содержалась в обычной поверхностной воде из водоёма, где были отловлены беспозвоночные. В воду для моллюсков первой опытной группы добавляли 12,5 мл, второй опытной группы – 100 мл сточных вод. Моллюсков содержали в экспериментальных растворах в течение 50 часов, извлекались из аквариума по 5 особей согласно определенному графику. В гомогенате гепатопанкреаса моллюсков анализировали активность кислой фосфатазы. Динамику ферментативной активности (в течение 50 часов) отражали в виде калибровочных графиков.

Биометрическая обработка проводилась по общепринятым методикам (Плюхинский, 1970) с использованием стандартного программного пакета Excel.

Глава 3. Результаты собственных исследований, в главе 3.1. изложены результаты мониторинга загрязнения водоёмов окского бассейна на территории Рязанской области. Средние показатели среды обитания гидробионтов в зависимости от гидрохимического состава воды и донных отложений (в естественных условиях и модельном эксперименте) представлены в таблице 1. Створы 1 и 2, а также их модельные аналоги - пробы 4 и 5 по уровню загрязнённости являются типичными для средних и малых рек окского бассейна; 1(4) контрольные, 2(5) с долговременным антропогенным давлением со стороны промышленных и сельскохозяйственных предприятий. Изучение створа 3 и его модельного аналога – пробы 6 позволило проверить эффективность методики биоиндикации в ситуациях, когда при прекращении загрязнения среды в связи с остановкой предприятия или модернизации его очистных сооружений, гидрохимические показатели воды пришли в норму, и держатся на данном уровне в течение нескольких лет.

Таблица 1 – Показатели среды обитания гидробионтов в зависимости от химического состава воды и донных отложений

Показатели	ПДК	Варианты гидрохимического состояния среды							
		створы в водоёме		модели створов (аквариумные пробы)					
		1	2	3	4	5	6	7	8
поверхностные воды									
рН, ед. рН	6	5,5	8,4***	5,3	5,3	8,1***	5,2	8,4***	6
аммон. ион, мг/дм ³	0,5	0,4	2,3***	0,3	0,4	2,3***	0,4	2,0***	0,5
нитрит-ион, мг/дм ³	0,08	0,05	0,22***	0,06	0,053	0,17***	0,04	0,24***	0,08
нитрат-ион, мг/дм ³	40	5,6	60,3***	8,7	5,6	60,6***	5,3	60,9***	40
фосфат-ион, мг/дм ³	0,2	0,13	1,5*	0,11	0,13	1,7*	0,12	1,9***	0,2
цинк, мг/дм ³	0,01	0,009	0,13*	0,007	0,0089	0,15*	0,008	0,24***	0,01
медь, мг/дм ³	0,002	<0,002	0,007***	<0,002	0,0016	0,005***	<0,002	0,007***	0,002
свинец, мг/дм ³	0,006	<0,001	0,017**	<0,001	<0,001	0,014**	<0,001	0,004***	0,006
нефтепродукты, мг/дм ³	0,05	0,03	0,09*	0,04	0,09	0,09*	0,03	0,12***	0,05
БПК ₅ , мг О ₂ /дм ³	2,0	1,9	2,7*	1,9	1,9	2,5*	1,7	2,9**	2,0
ХПК, мг О/дм ³	15,0	13,3	21,4***	13,7	13	20,7***	13,1	21,8***	15,0
взвешенные в-ва, мг/дм ³	до 0,75	0,5	127,3***	0,6	0,5	125,8***	0,4	135,4***	до 0,75
донные отложения									
цинк, мг/кг		97,3±29,2	527,3±158,5***	240,7±72,6***	97,8±29,3	521,8±132,6***	243,6±72,2***	97,9±29,2	97,8±29,3
медь, мг/кг		57,4±17,1	88,6±21,3**	204,3±61,4**	57,6±17,1	80,6±17,4**	204,6±61,3**	57,6±17,1	57,6±17,1
свинец, мг/кг		5,2±1,9	70,6±24,0***	82,9±30,3***	5,2±1,9	72,4±22,0***	82,3±30,5***	5,2±1,9	5,2±1,9
нефтепродукты, мг/кг		149,4±37,6	2897,4±724,4***	1941,5±485,1***	149,2±37,7	2810,3±711,5***	1941,3±485,8***	149,3±37,6	149,2±37,7

Примечание: Р * - ≤0,05; ** - ≤0,01; *** - ≤0,001.

В такой ситуации следует учитывать, что донные отложения, накопившие в себе большое количество поллютантов, продолжают оставаться экологически неблагоприятными и оказывать негативное воздействие на гидробионтов. В малых и средних реках окского бассейна в основном встречаются три варианта гидрохимического загрязнения водоёмов. Реже встречаются аварийное или несанкционированное кратковременное воздействие на водоёмы, такие варианты анализировали в модельном створе (проба 7, 8).

В главе 3.2. проанализированы малые и средние реки окского бассейна на обитание в них видов двухстворчатых моллюсков. При проведении отлова и учета экстерьерных показателей представителей класса *Bivalvia* были получены результаты, позволяющие выявить наиболее перспективный вид моллюсков для проведения биоиндикации (таблица 2, 3).

Таблица 2 – Показатели биомассы моллюсков в условно благоприятных реках

Вид моллюсков	Реки с разным антропогенным давлением			
	Выша	Цна	Кирица	Вожа
	класс качества воды			
	III	III	II	III
	биомасса, г/м ²			
<i>A. cygnea</i>	123,6±18,1	274,7±55,0	148,7±41,03	204,2±31,7
<i>U. pictorum</i>	297,4±74,0	353,2±54,6	179,2±8,7	266,6±27,6
<i>P. amnicum</i>	5,85±0,55	4,36±0,41	7,21±0,48	8,15±1,05
<i>S. corneum</i>	20,59±1,45	12,65±4,87	30,53±8,59	17,55±1,44
<i>D. polymorpha</i>	20,67±6,42	20,81±1,01	4,53±0,91	25,73±5,74
<i>A. anatina</i>	87,9±21,2	229,8±40,7	-	186,6±26,9
всего	556,0	895,5	370,1	708,9

В исследуемых створах наиболее многочисленным представителем класса *Bivalvia* является *Dreissena polymorpha*.

Таблица 3 – Показатели биомассы моллюсков в условно неблагоприятных реках

Вид моллюсков	Реки с разным антропогенным давлением		
	Листвянка	Верда	Трубеж
	класс качества воды		
	IV	IV	IV
	биомасса, г/м ²		
<i>A. cygnea</i>	141,3±26,0	201,2±31,0	157,9±65,9,6
<i>U. pictorum</i>	358,0±39,3	338,5±24,5	243,8±14,1
<i>P. amnicum</i>	6,69±1,76	8,66±1,06	12,88±0,946
<i>S. corneum</i>	6,7±1,12	21,68±7,86	15,95±2,11
<i>D. polymorpha</i>	32,73±3,44	12,44±1,65	17,77±2,26
<i>A. anatina</i>	-	46,6±2,2	260,9±45,3
всего	545,4	629,1	709,3

При средней биомассе $19,2 \text{ г/м}^2$ и количестве особей $90,2 \text{ экз./м}^2$ *D. polymorpha* присутствует во всех створах.

В среднем в экологически условно благоприятных створах малых рек соотношение биомассы данного вида к общей биомассе двухстворчатых моллюсков составляет 2,4%. Аналогичный показатель для экологически условно неблагоприятных створов составляет 3,5%. На реках со средней площадью водосбора соотношение биомассы *D. polymorpha* к общей биомассе двухстворчатых моллюсков составляет 3,0%.

Стабильной величиной биомассы на единицу площади в водоемах Рязанской области, независимо от антропогенной нагрузки на них, обладают перловицы *Unio pictorum*. Распространённость данных моллюсков и удобный для ручного отлова размер раковины, позволяют с лёгкостью отбирать биоматериал для проведения интерьерных исследований этих беспозвоночных. Таким образом, *U. pictorum* является перспективным тест-объектом для биоиндикации токсичности водоемов и их самоочищаемости.

В главе 3.3. проанализированы биохимические показатели моллюсков в условиях постоянного и временного токсического воздействия воды и донных отложений. В главе 3.3.1. описаны эксперименты и исследования по выявлению интерьерных показателей моллюсков для использования их в качестве тест-объектов при биоиндикации токсичности и самоочищаемости водоемов.

Выявлено, что накопление ТБК-активных продуктов в органах моллюсков, реагирует даже на незначительное изменение концентрации поллютантов в среде (таблица 4).

Таблица 4 - Содержание ТБК-активных продуктов в органах моллюсков после токсического воздействия

Органы моллюсков	Класс качества поверхностных вод		
	III	III/IV	IV
	количество ТБК-активных продуктов, мкмоль/г		
жабры	$20,1 \pm 0,32$	$22,28 \pm 0,41^{**}$	$23,98 \pm 0,42^{***}$
гепатопанкреас	$12,2 \pm 0,30$	$13,70 \pm 0,29^{**}$	$16,04 \pm 0,26^{***}$
гонады	$16,32 \pm 0,27$	$16,82 \pm 0,28$	$17,32 \pm 0,29^*$
нога	$13,40 \pm 0,30$	$14,64 \pm 0,18^{**}$	$15,78 \pm 0,26^{***}$

Разница в содержании ТБК-активных продуктов в жабрах моллюсков, обитающих в воде класса качества III/IV по сравнению с их аналогами из створа с водой классом качества III, составила 9,8% в жабрах, 11,0% в гепатопанкреасе, 3,0% в гонадах, и 8,5% в мышечной ткани. Разница в содержании ТБК-активных продуктов в органах моллюсков, выловленных в створе с загрязнением воды класса качества IV по сравнению с аналогами из створа с классом качества воды III, составила 15,0% в мышечной ткани ноги, 5,8% в гонадах, 24,0% в гепатопанкреасе и 16,2% в жабрах. При этом разница в со-

держании ТБК-активных продуктов имела высокую достоверность ($\leq 0,01$ - $\leq 0,001$) во всех органах, кроме гонад. Однако, разница в содержании ТБК-активных продуктов в гонадах *U. pictorum*, выловленных в водоёмах с III и IV классом качества воды, показала достаточную степень достоверности ($\leq 0,05$). Сопоставив данные биоиндикации с результатами гидрохимических исследований, выявили индикаторную реакцию мышечной массы моллюсков на присутствие в среде ионов меди (рисунок 2).

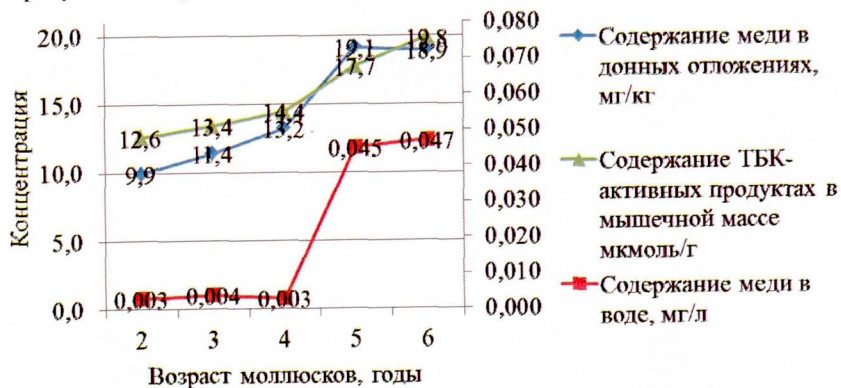


Рисунок 2 – Калибровочные кривые, отражающие хронологическую динамику ТБК-активных продуктов в мышечной массе моллюсков, в зависимости от концентрации меди в воде и донных отложениях

Особенности использования моллюсков в качестве индикаторов изменения среды, при том, что в качестве тест-реакции на антропогенное давление анализировать биохимическую динамику перекисного окисления липидов в органах моллюсков, позволяет проводить ретроспективный анализ экологического состояния водоёма. Согласно результатам исследования, прослеживается особенность: возрастные группы моллюсков, заставшие постоянное интенсивное загрязнение водоёмов на протяжении нескольких лет назад, имеют высокие (более 5,5%) концентрации ТБК-активных продуктов в организме, а особенно – в чувствительных к основному поллютанту органах – мышечная ткань, жабры, гонады, гепатопанкреас. Резкое увеличение концентрации ТБК-активных продуктов за один год обычно отличается более чем в 2 раза по сравнению с фоновым накоплением.

Зависимость накопления ТБК-активных продуктов в гонадах моллюсков под влиянием высокого содержания свинца в воде так же является достоверным параметром при биоиндикации (рисунок 3). Реакции накопления ТБК-активных продуктов в жабрах моллюсков, подвергавшихся воздействию высоких концентраций кадмия, так же является достоверной для проведения биоиндикации (рисунок 4). Индикаторная способность моллюсков к ионам

цинка проявляется в накоплении ТБК-активных продуктов в гепатопанкреасе (рисунок 5).

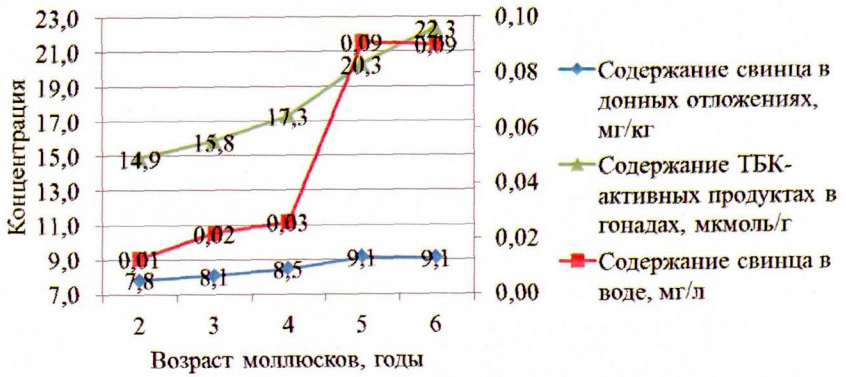


Рисунок 3 – Калибровочные кривые, отражающие хронологическую динамику ТБК-активных продуктов в гонадах моллюсков, в зависимости от концентрации свинца в воде и донных отложениях

Исследования позволили построить калибровочную кривую для проведения биоиндикации среды, когда при том, что поверхностные воды находятся в пределах ПДК, обнаруживается высокая концентрация загрязнителей в донных отложениях (рисунок 6). Накопление ТБК-активных продуктов в органах моллюсков является тест-реакцией, отражающей загрязнение водоёма, на который оказывается долговременное антропогенное воздействие.

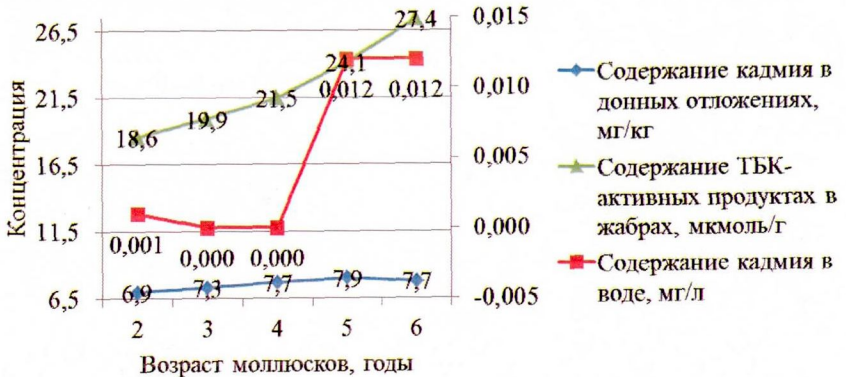


Рисунок 4 - Кривые, отражающие хронологическую динамику ТБК-активных продуктов в жабрах моллюсков, в зависимости от концентрации кадмия в воде и донных отложениях

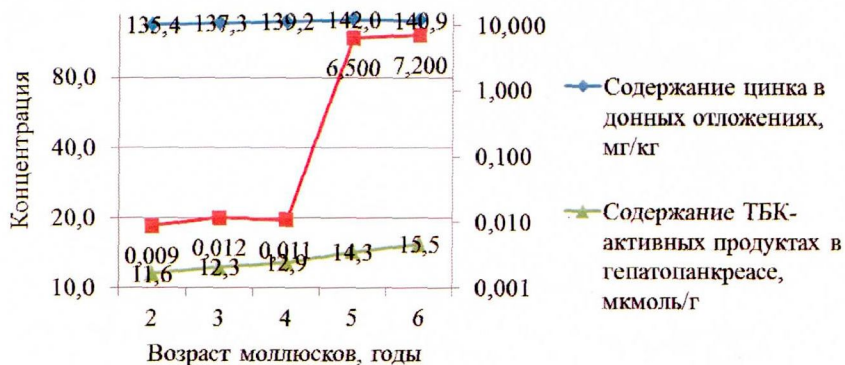


Рисунок 5 – Калибровочные кривые, отражающие хронологическую динамику ТБК-активных продуктов в гепатопанкреасе моллюсков, в зависимости от концентрации цинка в воде и донных отложениях

В течение трёх лет в экологически неблагоприятном водоёме (створ 2) накопление продуктов перекисного окисления в мышечной ткани моллюсков составляло 7,9 мкмоль/г (37,1%). При биоиндикации токсичности среды, уровень загрязнения которой не менялся в течение нескольких лет, в качестве маркерного индикатора показателя необходимо интегрально использовать показатели концентрации ТБК-активных продуктов в зависимости от возраста гидробионтов.

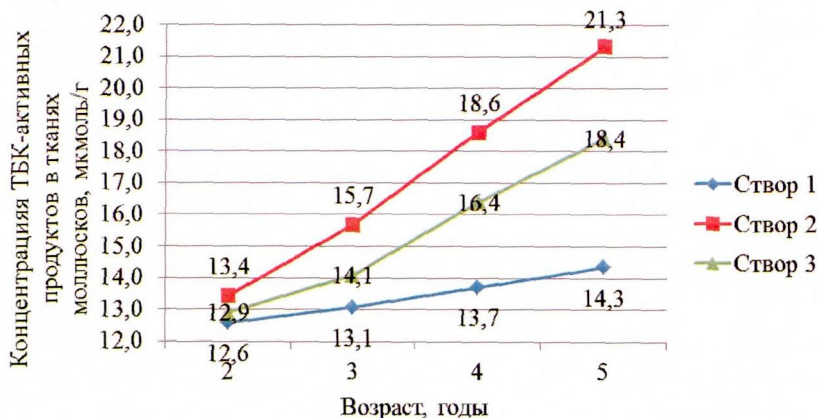


Рисунок 6 – Калибровочный график, отражающий динамику накопления ТБК-активных продуктов в гепатопанкреасе моллюсков при долговременном загрязнении водоёма

Индикаторными возрастными показателями долговременного антропогенного воздействия на гидробионтов является динамика увеличения концентрации ТБК-активных продуктов в мышечной ткани моллюсков в следующей последовательности: в 3 года на 14,6%, 4 года 15,6%, 5 лет 12,7%.

При прекращении антропогенного воздействия (створ 3), когда вода уже имеет нормальные гидрохимические показатели, а донные отложения остаются экологически неблагоприятными, у гидробионтов продолжается активация перекисного окисления липидов, так как они являются бентосными организмами, и соответственно, находятся в непосредственном контакте с донными отложениями. Так, в гепатопанкреасе беспозвоночных в возрасте 3 года количество ТБК-активных продуктов увеличивается на 7,1% по сравнению с нормой, в 4 года, у организмов, уже заставших интенсивное загрязнение на 14,0%, в 5 лет – 10,9%.

Таким образом, для биоиндикации экологического состояния среды в качестве тест-реакции эффективно использовать динамику накопления ТБК-активных продуктов в органах моллюсков при ретроспективном анализе долговременного загрязнения водоемов.

В главе 3.3.2. приведены исследования динамики фосфатазной активности гепатопанкреаса моллюсков в качестве биоиндикаторного показателя токсичности среды. Выявлено, что динамика кислой фосфатазы отражает разовые выбросы загрязнителей в водоемы.

Определение влияния ионов меди в воде на активность фосфатазы в гепатопанкреасе *U. pictorum* показывает, что реакция организма на различные уровни загрязнения данным загрязнителем в течение первых 12 часов одинакова – резкое увеличение уровня фосфатазы до 8,2 ед. с предшествующим снижением показателя на 25,0% в течение первых 4-х часов (рисунок 7).

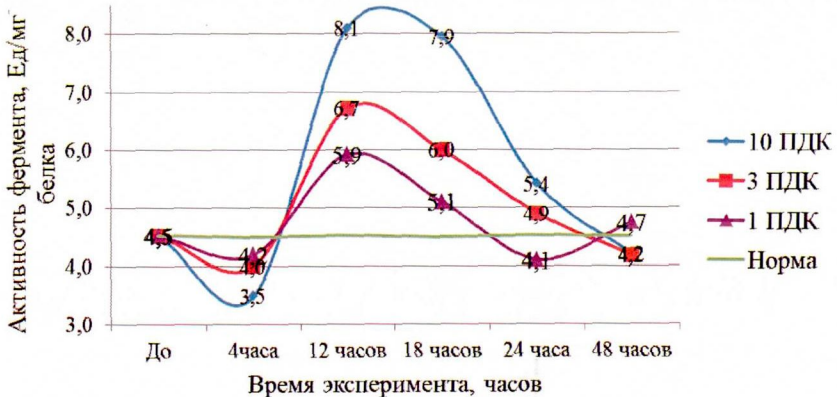


Рисунок 7 - Калибровочный график, отражающий динамику фосфатазной активности гепатопанкреаса моллюсков при биоиндикации среды на наличие ионов меди

Тенденция к небольшому понижению уровня фосфатазы, с последующим резким повышением сохранялась как у организмов, помещённых в воду со слабым загрязнением (1ПДК, 3ПДК), так и в воду с высоким содержанием ионов меди (10ПДК). Это обусловлено первичной реакцией организма на попадание в стрессовую среду. За первичной реакцией на стресс, следует реакция торможения. Время проявления характерной реакции торможения неодинаково для организмов из разных групп. Наиболее яркий пример реакции торможения заметен у организмов из второй группы. Пробы, взятые на 18-ый час после экспозиции, показали снижение активности фосфатазы на 21,5% по сравнению с пробами после 12-ти часовой экспозиции. Реакция торможения у третьей группы проявлялась слабее, со снижением уровня фосфатазы на 12,2%. У четвертой группы организмов проявление реакции торможения на 18-ом часе эксперимента слабое. Однако к 24-ому часу уровень фосфатазы упал на 33,7% по сравнению с максимальным показателем её активности. Реакция торможения продолжалась до 48-го часа экспозиции, с постепенным выравниванием уровня фосфатазы до контрольного значения. На 48-ом часе зафиксирован уровень концентрации фосфатазы ниже контрольного, что указывает

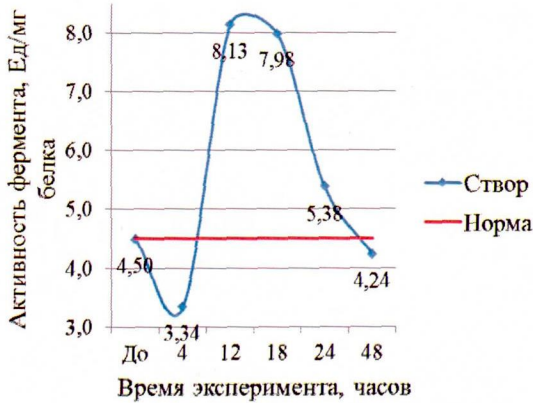


на процесс вторичной реакции торможения. Первичные реакции стресса даже при незначительном загрязнении проявляются достаточно сильно, чтобы использовать реакцию фосфатазы гепатопанкреаса моллюсков в биоиндикации, особенно для быстрого поиска источника загрязнения.

Рисунок 8 – Калибровочный график, отражающий динамику активности фосфатазы в каком органе? на однократное комплексное загрязнение среды тяжелыми металлами

В следующем эксперименте проанализировали стресс-реакцию моллюсков на однократное комплексное загрязнение среды тяжелыми металлами. Представлена в экспериментальной среде концентрация цинка 5ПДК, меди 10ПДК и свинца 1,3ПДК (рисунок 8). Как при комплексном загрязнении среды несколькими тяжелыми металлами, так и в случае, когда вода подвергается загрязнению одним поллютантом, динамика стресс-реакции моллюсков проявляется одинаково. Фосфатазная активность при этом в течение первых 12 часов достигает максимума, далее происходит постепенное снижение

этого показателя и к 48-му часу эксперимента ферментативная активность гепатопанкреаса моллюсков восстанавливается до нормального значения. Это необходимо учитывать для оперативного поиска источника загрязнения при проведении биоиндикации поверхностных вод подвергшихся однократному влиянию тяжелых металлов.



Биоиндикация среды по биохимическим изменениям ферментативной активности в гепатопанкреасе моллюсков позволяет осуществлять оперативный поиск специфического источника несанкционированного воздействия на водоём, например, со стороны сельскохозяйственных предприятий (рисунок 9).

Рисунок 9 – Калибровочный график, отражающий динамику активности кислой фосфатазы в гепатопанкреасе моллюсков при кратковременном загрязнении водоема со стороны сельскохозяйственного предприятия

Исследования влияния бытовых стоков на уровень фосфатазы в организме моллюсков *U. pictorum* показали, что данная методика может использоваться для оперативной локализации источников загрязнения. Характерной особенностью влияния бытовых стоков на *U. pictorum*, являются меньшая интенсивность стресс-реакции, при тех же концентрациях, что и у группы, тестируемой на влияние ионов меди (рисунок 10). Это объясняется особенностями жизнедеятельности *U. pictorum*, достаточно комфортно чувствующими себя в условиях повышенной концентрации биогенных веществ, при этом остающейся уязвимой к высоким концентрациям аПАВ, металлов и других поллютантов, присутствующих в бытовых стоках.

Показатели активности фермента при биоиндикации нагруженности поверхностных вод хозяйственно-бытовыми стоками следующие: снижение на 17,8% в первые 4 часа, повышение на 75,6% после 12 часов, на 55,6% после 18 часов, на 22,0% после 24 часов, превышение на 2,0% после 48 часов. В первые четыре часа, после внесения стоков свиноводческого комплекса, активность фосфатаз у моллюсков снижалась, что является признаком первичной стрессовой реакции. Тестовые организмы, которые находились в аквариуме с меньшим количеством сточной воды, показали большую активность фермента (снижение на 9,0% против 13,0%) (рисунок 11).

Пик ферментативной активности у тест-объектов в двух аквариумах пришелся на 12-ый час исследования. Активность ферментов увеличивалась на 64,5% в сосуде с добавлением 100 мл, и на 42,0% - с 25 мл стоков, что является признаками сильного стресса. Далее уровень фосфатазы падает, так как начинается вторичная реакция торможения, которая является признаком выведения поллютантов, поступивших за время выброса, и восстановление нормального состояния организма.

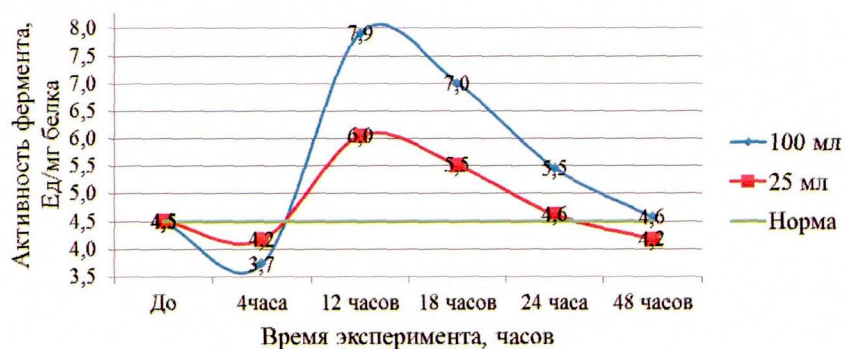


Рисунок 10 – Активность фосфатазы в гепатопанкреасе моллюсков, после внесения хозяйственно-бытовых стоков

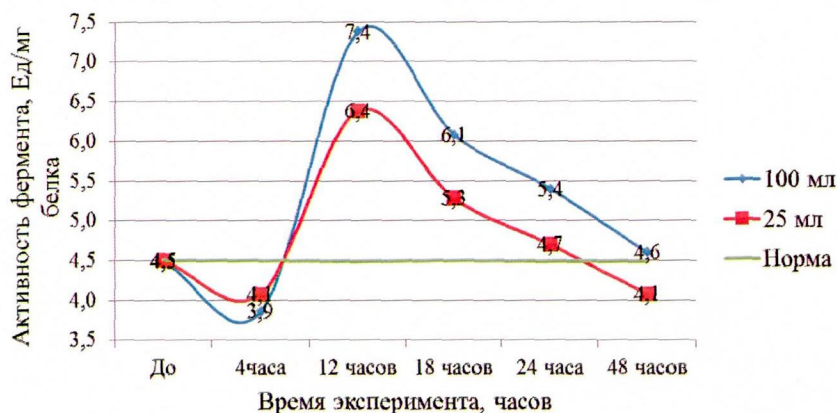


Рисунок 11 – Активность фосфатазы в гепатопанкреасе моллюсков, после внесения стоков свиноводческого комплекса

К 24-м часам у тест-объектов, находившихся в аквариумах, в которые вводили 100 мл стоков уровень фосфатазы превышает нормальный на 20,0 %, а к 48-ому часа на 2,0 %. Затем, очевидно, должна происходить реакция

торможения. Это подтверждается результатами анализа активности фосфатаз у моллюсков из аквариума, в который вносилась малая доза сточной воды. Так, к 24-ому часу уровень фосфатазы у этих организмов превышал нормальный всего на 4,0%, а к 48 часу были зафиксированы показатели, свидетельствующие о явной вторичной реакции торможения (уровень фосфатазы снизился на 9,0% ниже нормы).

В главе заключение приведено обоснование для использования количественных и качественных маркерных показателей моллюсков вида *Unio pictorum* для биоиндикации токсичности сточных вод.

ВЫВОДЫ

1. На территории Рязанской области существуют следующие типы загрязнения рек: 1 – экологически благоприятные водоемы, не испытывающие антропогенной нагрузки; 2 – интенсивное загрязнение водоема, характеризующееся постоянным поступлением поллютантов в экосистему с превышением допустимых концентраций; 3 – остаточное загрязнение, которое является следствием прекращения антропогенной нагрузки, и отличающееся высоким содержанием поллютантов в донных отложениях, при минимальном или отсутствующем загрязнении воды; 4 тип – разовое загрязнение, вызванное кратковременным однократным поступлением поллютантов в водоём, сопровождающимся непродолжительным повышением их концентраций в воде.

2. Перспективным видом моллюсков для биоиндикации, среди обитающих в водоёмах окского бассейна является *Unio pictorum*, так как обладает необходимыми качествами: обитает повсеместно и в больших количествах, имеет крупный размер, длительный онтогенез, легко определяемый возраст, годовой прирост массы тела слабо зависит от антропогенного давления, тогда как интерьерные показатели (динамика продуктов перекисного окисления липидов, уровень фосфатазы) достоверно отражают изменение гидрохимического состава среды.

3. Динамика накопления ТБК-активных продуктов в органах моллюсков достоверно отражает хронологическую картину загрязнения за несколько лет за один пробоотбор. При этом маркерными показателями тест-реакции накопления продуктов перекисного окисления липидов при загрязнении поверхностных вод ионами меди в концентрации 0,05 мг/л является их увеличение в мышечной ткани моллюсков на 2,7 мкмоль/г в год; ионами свинца выше 0,09 мг/л - на 2,5 мкмоль/г в год в гонадах; ионов кадмия выше 0,012 мг/л на 3,0 мкмоль/г в год в жабрах; ионов цинка более 6,5 мг/л - на 1,3 мкмоль/г в год в гепатопанкреасе.

4. Использование динамики кислой фосфатазы в гепатопанкреасе *U. Pictorum* достоверно отражает картину аварийного загрязнения водоёма малой продолжительности. При этом маркерными параметрами тест-реакции динамики ферментативной активности при кратковременном загрязнении хозяйственно-бытовыми или сельскохозяйственными стоками является уве-

личение активности фосфатазы в гепатопанкреасе моллюсков на 1,5 Ед/г белка через 12 часов; на 0,8 Ед/г белка через 18 часов.

Список опубликованных работ в изданиях рекомендованных ВАК:

1. Эффективность очистки сточных вод, используемых для водопоя сельскохозяйственных животных, во взаимосвязи с биоиндикационными реакциями биоты водоёмов / С.А. Нефедова, А.А. Коровушкин, Л.Б. Зутова, **И.А. Ипатов** // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. – 2014. – № 1 (21). – С. 64-69.
2. К вопросу выбора тест-чувствительных гидробионтов для биотестирования воды в лабораторных, производственных и естественных условиях / С.А. Нефедова, А.А. Коровушкин, Д.Г. Минин, Л.Б. Зутова, **И.А. Ипатов** // Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – № 3. – С. 14-20.
3. Приемы биотестирования с применением представителей аквакультуры в качестве тест-объектов / С.А. Нефедова, А.А. Коровушкин, Д.Г. Минин, **И. А. Ипатов**, М. Ю. Афанасьев // Аграрная Россия. – 2015. – № 4. – С. 35-39.
4. Наука и образование для развития аквакультуры в аспекте импортозамещения и обеспечения национальной безопасности / А. А. Коровушкин, С. А. Нефедова, Е. С. Иванов, Д. Г. Минин, **И. А. Ипатов** // Известия Международной академии аграрного образования. – 2015. – № 23. – С. 187-191.

Статьи, опубликованные в других изданиях:

5. Об эффективности биоиндикационных исследований при анализе антропогенного загрязнения водоёмов / **И. А. Ипатов**, Л. Б. Зутова, С. А. Нефедова, А. А. Коровушкин // Вестник Мичуринского филиала Российского университета кооперации. – 2013. – № 3. – С. 146-148.
6. Биоиндикационные показатели моллюсков в зависимости от экологических условий среды / **И. А. Ипатов**, А. А. Коровушкин // Современная наука глазами молодых ученых: достижения, проблемы, перспективы: сб. тр. науч. конф. – Рязань. – 2015. – Т. 2. – С. 44-46.
7. Роль биомониторинга малых рек в экологизации сельского хозяйства / **И. А. Ипатов**, А. А. Коровушкин // Сборник научных трудов международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых: сб. тр. науч. конф. – Киров. – 2014. – С.117-119.
8. К приему биотестирования в рыбоводстве / С.А. Нефедова, А.А. Коровушкин, Е.А. Шашурина, Д. Г. Минин, **И.А. Ипатов** // Научное обеспечение инновационного развития АПК: сб. тр. науч. конф. – СПб. – 2015. – С. 183-189.
9. Биотехнология повышения йода в мышцах товарного карпа, выращиваемого в рыбхозах Рязанской области / **И.А. Ипатов** // Пути инноваци-

онного развития экономики Рязанской области: сб. тез. науч. конф. – Рязань. – 2014. – С. 86-88.

10. Индикационные показатели гидробионтов при определении фазы постдеградационного антропогенного воздействия на водоём / И.А. Ипатов, А.А. Коровушкин, М.Ю. Афанасьев // Современные проблемы гуманитарных и естественных наук: сб. тр. науч. конф. – Рязань. – 2015. – С.202-204.

11. Маркерные показатели моллюсков для биотестирования токсичности поверхностных вод / И. А. Ипатов // Ломоносов – 2015. Секция «Биология»: сб. тр. науч. конф. – Москва. – 2015 г. – С. 132-133.

Список использованных сокращений

ПАВ – поверхностно-активные вещества

аПАВ – анионные поверхностно-активные вещества

БПК – биологическое потребление кислорода

ПДК – предельно допустимая концентрация

ТБК-активные продукты – продукты перекисного окисления, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой

ХПК – химическое потребление кислорода

Ипатов Илья Андреевич (Россия)

БИОИНДИКАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛЛЮСКОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ РАЗОВОГО И РЕТРОСПЕКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ

Перспективным видом моллюсков для биоиндикации, среди обитающих в водоёмах окского бассейна Рязанской области, является *Unio pictorum*. Доказано, что в ретроспективном анализе загрязнения водоёмов маркерным показателем является динамика накопления ТБК-активных продуктов в органах моллюсков, а при анализе аварийных загрязнений малой продолжительности - активность кислой фосфатазы в гепатопанкреасе *U. pictorum*.

Ipatov Ilya Andreevich (Russia)

BIOINDICATOR PROPERTIES OF MOLLUSKS IN THE INVESTIGATIONS OF DIFFERENT AND RETROSPECTIVE WATER POLLUTION

Mollusk *Unio pictorum* is promising for bioindication in Oka basin reservoirs in the Ryazan region. The dynamics of the accumulation of lipid peroxidation products and the activity of acidic phosphatase in the organs of mollusks *U. pictorum* is effective in determining the retrospective and accidental pollution of reservoirs.

*Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать лазерная
Усл. печ. л.1. Тираж 100 экз. Заказ № 1365*

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования*

*«Рязанский государственный агротехнологический университет
имени П. А. Костычева»*

390044 г. Рязань, ул. Костычева, 1

*Отпечатано в издательстве учебной литературы
и учебно-методических пособий*

ФГБОУ ВО РГАТУ

390044 г. Рязань, ул. Костычева, 1

