

Российская академия наук
Институт озераедения РАН

НАГОРСКАЯ Л. Л. ИНСТИТУТ
ЗООЛОГИИ НАНБ Т. 284-14-76
УЛ АКАДЕМИЧЕСКАЯ, 27 E-mail:
NACORSKAYA@BIOBEL.BAS-NET.BY

Биоиндикация в мониторинге
пресноводных экосистем

Bioindication in monitoring
of freshwater ecosystems

Санкт-Петербург
2007

УДК 504.064.36

*При поддержке Отделения наук о Земле РАН,
СПб. Научного центра РАН, РФФИ*

Ответственные редакторы:

Член-корр. РАН В.А. Румянцев, д.б.н. И.С. Трифонова

Редакционная коллегия:

д.б.н. И.Н. Андроникова, д.б.н. Л.А. Кудерский, д.б.н. И.М. Распопов,
к.б.н. М.А. Рычкова, к.б.н. Е.Н. Чеботарев, к.б.н. О.А. Павлова

Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем. Сборник материалов международной конференции. СПб.: ЛЕМА, 2007. – 338 с.

Издание содержит избранные доклады, представленные на Международной конференции «Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем» (Санкт-Петербург, 23-27 октября 2006 г.) по широкому спектру современных проблем биологической индикации. Рассматриваются биологические методы оценки состояния пресных вод. Книга рассчитана на специалистов, связанных с изучением водных экосистем, экологов, гидробиологов, ихтиологов, преподавателей, аспирантов и студентов экологических направлений.

Bioindication in monitoring of freshwater ecosystems. Book of papers of the International Conference. St. Petersburg. LEMA, 2007. - 338 pp.

The edition contains selected proceedings of the International Conference «Bioindicators in monitoring of freshwater ecosystems» (St. Petersburg, Russia, 23-27 October 2006) on a wide spectrum of modern problems of bioindication. Biological methods of estimation of freshwater-bodies state are considered. The book is offered to specialists in study of water ecosystems, ecologists, hydrobiologists, ichthyologists and also teachers, post-graduates and students of educational Institutions of ecological profile.

ISBN 978-5-98709-029-9

Предисл

Часть 1. С

Филе
ды при
Афана
внедр
Протас
с испол
Триф
Яковле
поверх
Кудерс
преснов

Часть 2. К
и методы б

Гольд З.
анализ и
и химиче
водохра
Нагорск
южного]
Григорь
для оцен
Лукаше
методом
моллюск
Минеева
Рябцева
пресново
Михайло
р. Тура ...
Барабано
методов в
Гандзюра
по биопр
Степанов
компонент
Степанов
показатели
Чермных
в монитори

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В БИОИНДИКАЦИИ СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА.

Л.В.Барабанова, А.В.Дукельская, Е.В.Даев

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,

e-mail: lbarabanova@mail.ru

В связи с неуклонным ростом антропогенной нагрузки на окружающую среду все более актуальной становится задача определения степени и масштабов загрязнения, а также биологических последствий антропогенных нарушений, оцениваемых не только в конкретных физических и химических параметрах, но и в биологически значимых показателях, экстраполируемых на человека. Существующие физические и химические методы дают лишь количественные и качественные характеристики действующих факторов, в то время как с помощью биоиндикации можно получить информацию о биологических последствиях и сделать выводы об особенностях действия самого фактора. На сегодняшний день не вызывает никакого сомнения и тот факт, что наряду с проведением биотестирования в данный момент времени чрезвычайно актуальной остается проблема прогнозирования отдаленных последствий влияния разнообразных факторов среды на живые организмы, находящиеся в естественных условиях обитания. Подходом к решению данной проблемы является проведение генетического мониторинга, осуществляемого непосредственно в природных биосистемах (рис.1).

Характерной особенностью Северо-Западного региона России является его мощный промышленный потенциал, реализация которого тесно связана с эксплуатацией обширных водных ресурсов. В свою очередь, водные экосистемы представляют собой наиболее уязвимый элемент биосферы, а комплексное действие загрязнителей, попадающих в водоемы, значительно увеличивает скорость сукцессионных процессов (Матишов и др., 1999). В этой связи следует отметить, что в состав региона входят такие обширные акватории, как Балтийское, Белое и Баренцево моря. Среди значимых пресноводных водоемов следует перечислить Ладожское, Онежское, Белое и другие крупные озера, реки Тулома, Свирь, Северная Двина, Нева, а также целый ряд других важнейших водных систем. Все они, в той или иной степени, испытывают постоянно возрастающую антропогенную нагрузку, обусловленную развитием морского и речного судоходства, активной эксплуатацией старых и строительством новых портовых сооружений,

шельфовой разведкой и добычей нефти, сбросами промышленных отходов и возникающими аварийными ситуациями на воде и суше. Сложившаяся ситуация требует постоянного биомониторинга состояния окружающей среды наряду с составлением долгосрочных прогнозов о возможных отдаленных последствиях выявляемого антропогенного загрязнения. Вторая из перечисленных задач может быть решена с привлечением генетических методов оценки антропогенного действия на биологические системы, в том числе и человека.

Поскольку любая генетическая тест-система должна отвечать целому ряду условий, то встает задача выбора адекватных критериев нарушения генетического материала и поиск удобных тест-объектов, с помощью которых можно было бы осуществлять соответствующую оценку. Генетический мониторинг выдвигает определенные требования к видам-биоиндикаторам. В частности, выбор объекта изучения во многом определяется задачами проводимого исследования. Помимо широкого распространения, легкости сбора материала, достаточной чувствительности объекта к действию широкого спектра антропогенных факторов, он должен быть удобен для оценки генотоксичности воздействий, осуществляемой различными методами ().

В этой связи, целью настоящего исследования явилось использование цитогенетического анализа в качестве генетического критерия для оценки состояния окружающей среды. Применение цитогенетического анализа позволяет обнаруживать первичные изменения, происходящие в геноме организмов при воздействии на них неблагоприятных факторов окружающей среды, в которой они обитают.

В качестве организмов-биоиндикаторов были взяты морские и пресноводные представители отряда равноногих раков *Isopoda*. Выбор объектов определялся тем, что равноногие ракообразные - один из немногих отрядов класса ракообразных *Crustacea*, многочисленные (4500 видов) представители которого приспособились к самым различным условиям существования. Большинство относящихся к данному отряду видов обитает в море, причем населяет все глубины, начиная от приливно-отливной зоны и кончая предельными океаническими глубинами порядка 11 км. Чрезвычайно широко распространены равноногие рачки и в пресных водоемах. Пресноводные водяные ослики могут считаться обычными и многочисленными представителями фауны различных озер и прудов Северо-Западного региона.

Среди биологических особенностей представителей разных видов равноногих раков особую значимость при рассмотрении их в качестве возможных биоиндикаторов в генетическом мониторинге имеет наличие в их жизненном цикле стадии, представленной

большим количеством активно делящихся митотических клеток. Это позволяет применить к данным объектам один из методов оценки генотоксичности загрязнений окружающей среды - цитогенетический анализ, одна из разновидностей которого - анафазо-телофазный метод, может выступать в качестве экспресс-метода оценки мутагенности различного рода воздействий ()

Материалом настоящей работы послужили морские представители отряда равноногих раков (Isopoda) йеры - *Jaera albifrons* и пресноводные водяные ослики - *Asellus aquaticus*. Для оценки состояния морской среды в 2001 - 2005 годах были проведены сборы йер, обитающих в районе Чупинской губы Белого моря и в 2003 году - в Кольском заливе Баренцева моря. Все места сбора, где проводили анализ, находились друг от друга на расстоянии нескольких километров, а выбор их был обусловлен наличием контрастных условий среды обитания исследуемых организмов. В первую очередь, это касалось действия таких факторов, как опреснение, радиационный фон, почвенный состав, тип литорали, степень антропогенного загрязнения, в частности, - наличие нефтепродуктов.

Обитатели пресноводных водоемов, водяные ослики, были проанализированы в выборках конца восьмидесятых годов и 2000-2001 и 2006 годах, которые были сделаны в районе западного побережья Финского залива и в пределах городской черты Санкт-Петербурга.

Весь собранный материал был зафиксирован в фиксаторе Кларка 3:1 (уксусная кислота: метанол). Готовили давленные препараты из эмбрионов, развивающихся в выводковой сумке самок по общепринятой цитогенетической методике с использованием красителя ацетоарсеина. На каждом препарате подсчитывали по 100-120 делящихся клеток, среди которых учитывали нормально делящиеся клетки и клетки с перестройками хромосом. К хромосомным нарушениям относили перестройки типа мостов, фрагментов или отстающих хромосом (рис.2, 3).

Так как популяции йер Белого и Баренцева морей представлены особями разных видов, а в систематическом отношении, по мнению ряда авторов, представители *Jaera albifrons* являются группой видов, нами был проведен анализ видового состава йер в отдельных местах сбора. Известно, что видовые различия можно определять только на самцах, где главным критерием отличия видов являются морфологические особенности карпоподит 6 и 7 пары переопод. В литературе показано, что видовой состав самок в выборке соответствует видовому составу самцов. В этой связи анализ частоты хромосомных аберраций у эмбрионов самок проводили с учетом видового состава популяции. И в Белом, и в Баренцевом морях были определены два вида йер - *J. ishiosetosa*

и *J.albifrons*. Было показано, что видовой состав популяций равноногих рачков Белого и Баренцева морей не зависит от влияния факторов солености, типа литорали и степени антропогенного воздействия.

Результаты по оценке частоты хромосомных перестроек в клетках равноногих рачков Белого моря представлены в таблице.1. Среди 6 выбранных точек сбора 4 точки характеризуются оптимальными условиями среды обитания. Частота хромосомных aberrаций у особей из этих популяций варьирует в пределах 3,4-4,9%. Поскольку в литературе нам не встретились данные по частотам хромосомных перестроек у йер, возможно предположить, что эти значения могут служить показателями спонтанной частоты хромосомных aberrаций, тем более что они не противоречат общепризнанным значениям таковой для других организмов. Достоверное повышение частоты хромосомных aberrаций до 11,0% отмечено в популяциях рачков, обитающих в условиях повышенной антропогенной нагрузки за счет присутствия в воде нефтепродуктов в результате активной эксплуатации маломерных судов в обследуемом месте.

Повышенные значения частоты хромосомных перестроек были выявлены в делящихся клетках йер, обитающих в различных местах Кольского залива Баренцева моря. Самая низкая частота 11,4% была отмечена в популяции йер, обитающих в районе впадения в Кольский залив реки Туломы, а самая высокая частота 20,0% обнаружена в поселке Сафоново, где располагается судоремонтный завод (рис.4). Учитывая, что Кольский залив занимает третье место по степени антропогенной нагрузки на водную экосистему со стороны основных типов загрязнителей (нефть и нефтепродукты, тяжелые металлы, хлорорганические соединения), а Чупинская губа Белого моря не испытывает столь сильного антропогенного пресса, можно рассматривать полученные значения частот хромосомных aberrаций у обитателей этих районов в качестве показателей степени загрязнения окружающей среды.

Анализ частоты хромосомных нарушений в клетках йер, собранных в одних и тех же местах Белого моря в течение 2001-2005 годов, показал достоверную положительную динамику данного показателя (рис.5).

Таким образом, примененный цитогенетический анализ продемонстрировал дифференциальную чувствительность морских представителей отряда равноногих раков по показателю частоты хромосомных нарушений к действию отдельных факторов среды обитания, включая антропогенное воздействие.

Для того, чтобы проверить чувствительность к действию факторов среды близкородственных видов рода *Isopoda*, обитающих в пресноводной среде, нами был

применен цитогенетический метод в отношении водяного ослика – *Asellus aquaticus*. С целью оценки спонтанной частоты хромосомных нарушений, начиная с 1987 года по 2006 год были проведены сборы рачков, обитающих в экологически чистых водоемах Ленинградской области. Было показано, что спонтанная частота нарушений хромосом составляет в среднем 1,75%, варьируя от 1,6% до 2,2% в экологически чистых местах обитания. В то же время, в техногенно загрязненном районе пригорода Санкт-Петербурга частота хромосомных aberrаций в делящихся клетках *Asellus aquaticus* значительно возрастает и превышает таковую в чистом районе почти в 20 раз (рис.5).

Чтобы убедиться, что рассчитываемые частоты хромосомных нарушений отражают реальную картину дестабилизации генома организма в ответ на генотоксическое действие факторов среды, нами было проведено экспериментальное воздействие на водяного ослика ионизирующего облучения. Мутагенный эффект этого воздействия проявился в индукции 25,0% хромосомных aberrаций (рис.5). Построение кривой дозы-эффекта выявило 50% поражаемость делящихся клеток *Asellus aquaticus* при воздействии на них ионизирующей радиации в дозе 315 рентген. Помещение водяных осликов *Asellus aquaticus* в водопроводную воду на сутки не выявило изменения частоты хромосомных перестроек по сравнению со спонтанной частотой.

Итак, полученные данные показывают, что использование цитогенетического анализа позволяет, с одной стороны, осуществлять экспресс оценку мутагенности различного рода воздействий на организмы, находящиеся непосредственно в условиях среды их обитания. С другой, – определять конкретный вид воздействия и его силу. В то же время, взятые в анализ представители морских и пресноводных видов отряда Isopoda продемонстрировали возможность использования этих объектов в качестве индикаторных видов для проведения генетического мониторинга в природных условиях. Большое сходство биологии ряда других широко распространенных видов данного отряда, например, почвенных равноногих раков - мокриц (*Porcellio scaber*) или морских обитателей рода *Idotea*, открывает перспективы создания комплексной генетической тест-системы по оценке генетических последствий негативного действия факторов с учетом конкретного типа среды. Это, в свою очередь, позволяет проводить интегральную оценку состояния окружающей среды на основе анализа степени нарушения стабильности генетического материала вида-индикатора.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Даев Е.В., Барабанова Л.В., Бондаренко Л.В., Симоненко В.Д. Ракообразные отряда Isopoda как тест-объект для оценки экологического состояния водной среды. // Вестн. СПбГУ. – 2002.-сер.3, вып.4, №27.- с.60-64
2. Бек Т.А. К биологии группы *Jaera albifrons* (Isopoda, Asellota) на литорали Белого моря. // Вестн. МГУ (биология). – 1988. – сер.16, №3. – с.32-36.
3. Матишов Г.Г., Денисов В.В., Дженюк С.А., Сочнев О.Я. к созданию интегрированной системы морского экологического мониторинга в западной Арктике. // Антропогенное воздействие на природу Севера и его экологические последствия. – Апатиты, 1999. – с.149-159.
4. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ (под ред. Фадеевой О.А.) – Женева, 1989. – 211 с.

SUMMARY

Barabanova L.V., Dukelskaya A.V., Daev E.V. The use of cytogenetic methods in biotesting of North-Western water basin state.

Water pollution is a great problem especially in industrial regions. Genetic risk assessment is an important step of any environmental monitoring as anthropogenic factors are often strong mutagens. Several *Isopoda* species are proposed as bio-testers of mutagenic influence in sea and fresh water in general. It is shown that they are sensitive enough to indicate first signs of hazardous pressure of mutagenic factors. The role of cytogenetic abnormalities as predecessor events of other ecologically significant changes is discussed.

Таблица 3. Частота хромосомных aberrаций в клетках йер из популяций Белого и Баренцева морей в 2003 г.

Популяции Белого и Баренцева морей	Число проанализированных особей	Число проанализированных клеток	Частота хромосомных aberrаций (в %)
Пролив Узкая Салма	16	1311	$5,7 \pm 0,64^{**}$
Губа Яковлева	10	1137	$4,8 \pm 0,63$
55 квартал Картешского берега	19	1603	$4,9 \pm 0,54$
Острова Илейки	10	879	$4,2 \pm 0,68$
Залив Юшковка	10	1048	$3,4 \pm 0,56^{**}$
Бухта Ноговица	9	765	$11,0 \pm 1,13^*$
Кола	9	871	$11,4 \pm 1,08^*$
Абрам-мыс	12	811	$17,3 \pm 1,30^{**}$
Роста	5	336	$17,9 \pm 2,09^{**}$
Сафоново	9	946	$20,0 \pm 1,30^{**}$

* - отличие от контроля

Таблица 4. Частота хромосомных aberrаций в клетках йер ряда популяций Белого моря в 2001, 2002, 2003 годах.

Популяции/год	Пролив Узкая Салма		
2001	$2,0 \pm 0,56$	$1,0 \pm 0,1^*$	-
2002	$2,8 \pm 0,19$	$3,8 \pm 0,71$	$12,2 \pm 0,97$
2003	$3,4 \pm 0,56$	$5,7 \pm 0,64$	$11,0 \pm 1,13$
2005	-	$8,3 \pm 1,23$	$16,3 \pm 1,43$

- достоверные отличия частот хромосомных aberrаций в популяции пролива Узкая Салма в 2003 году по сравнению с другими популяциями в 2002 году, $p < 0,05$.

Таблица 5.

Точка сбора	Число проанализированных особей, из них:		Число проанализированных клеток	Частота хромосомных aberrаций (в %)
	♀ ♀	Эмбрионов		
Ноговица 1	6	52	775	19,2 ± 1,41*
Ноговица 2	6	59	668	16,3 ± 1,43
Р. Кереть	6	77	859	13,0 ± 1,31
Коровья Варака	6	34	712	5,5 ± 0,85
О. Горелый	7	31	745	4,5 ± 0,76
О. Матренин	6	29	710	8,3 ± 1,03
Узкая Салма 1	6	33	504	12,1 ± 1,45
55 Квартал	4	15	163	3,1 ± 1,36
Узкая Салма 2	5	18	503	8,3 ± 1,23
Сухая Салма	2	15	136	6,6 ± 2,13
О. Сидоров	7	41	640	9,0 ± 1,13