

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**



**ИБВВ РАН**



**Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН**

**ВЫПУСК 108(111)**

**2024**

**ОКТАБРЬ–ДЕКАБРЬ**

Выходит 4 раза в год

п. Борок

2024

**THE MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF THE RUSSIAN FEDERATION**

**THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES**



**IBIW RAS**



**Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS**

**ISSUE 108(111)**

**2024**

**OCTOBER–DECEMBER**

The journal is published quarterly

Borok

2024

УДК 574(28)

ББК 28.081

T78

**Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН.** — Борок : ИБВВ РАН — 2024. — Вып. 108(111) — 72 с.

Выпуск посвящен 50-летию лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН. Представлены статьи, касающиеся частных вопросов водной экотоксикологии и отражающие результаты как лабораторных, так и полевых исследований. Рассматриваются результаты изучения накопления ртути в мышцах, состава клеток и их морфофункциональных характеристик в периферической крови рыб, приводятся экспериментальные данные об ответных реакциях ракообразных на действие лантана, кардиосистемы двустворчатых моллюсков на функциональную нагрузку в зависимости от трофического статуса среды их обитания и интенсивности дыхания при воздействии тяжелых металлов, а также влияния диметилдисульфида на биологические показатели тест-организмов различной систематической принадлежности.

Издание предназначено для гидробиологов, экологов, экотоксикологов и широкого круга специалистов в области охраны и использования водных ресурсов, а также аспирантов и студентов биологических, экологических и других естественнонаучных специальностей.

**Редакционная коллегия:**

*С. А. Поддубный (гл. редактор), д.г.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. В. Крылов (зам. гл. редактора), д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. А. Бобров, к.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Б. К. Габриелян, д.б.н., проф., НАН РА НЦ ЗГЭ, Ереван, Армения*

*Ю. В. Герасимов, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. Н. Дзюбан, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Хай Доан Нё, д.ф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам*

*В. Т. Комов, д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*В. И. Лазарева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Н. М. Минеева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Лам Нгуен Нгок, д.ф., проф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам*

*К. Робинсон, д.ф., EAWAG, Цюрих, Швейцария*

*В. П. Семенченко, д.б.н., чл.-кор. НППЦ НАН по биоресурсам, Минск, Беларусь*

*И. Л. Голованова, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Ю. С. Даценко, д.г.н., МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*М. М. Трофимчук, к.б.н., Гидрохимический институт, Ростов-на-Дону, Россия*

Ответственные редакторы: *Г. М. Чуйко, И. И. Томилина*

Ответственный секретарь *А. А. Сажнева*

ISSN 0320-3557 Print  
ISSN 2712-8377 Online

*Учредитель (адрес):* Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук (152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, д. 109, ИБВВ РАН; *Телефон/факс:* (48547)24042; *e-mail:* adm@ibiw.ru).

*Издатель (адрес):* Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук (152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, д. 109, ИБВВ РАН; *Телефон/факс:* (48547)24042; *e-mail:* adm@ibiw.ru).

*Адрес редакции:* 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н,  
ИБВВ РАН  
*тел./факс* (48547) 2-48-09; *e-mail:* trud@ibiw.ru

The issue is dedicated to the 50th anniversary of the Laboratory of Physiology and Toxicology of Aquatic Animals of the Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences. The articles are presented that concern specific issues of aquatic ecotoxicology and reflect the results of both laboratory and field studies. The results of studying mercury accumulation in muscles, cell composition and their morphofunctional characteristics in the peripheral blood of fish are considered, experimental data are given on the response of crustaceans to the action of lanthanum, the cardiac system of bivalve mollusks to the functional load depending on the trophic status of their habitat and the intensity of respiration under the influence of heavy metals, as well as the effect of dimethyl disulfide on the biological parameters of test organisms of different systematic groups.

The publication is intended for hydrobiologists, ecologists, ecotoxicologists, and specialists in the field of protection and use of water resources, as well as students and postgraduates of the faculties of biology and environment.

**Editorial board:**

*S. A. Poddubny (editor), Dr. of geogr., IBIW RAS, Borok, Russia*

*A. V. Krylov (deputy editor), Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia*

*A. A. Bobrov, PhD., IBIW RAS, Borok, Russia*

*Hai Doan Nhu, PhD., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam*

*A. N. Dzuban, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*B. K. Gabrielyan, Dr. of biol., prof., SC ZHE NAS RA, Yerevan, Armenia*

*Yu. V. Gerasimov, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*V. T. Komov, Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia*

*V. I. Lazareva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*N. M. Mineeva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*Lam Nguyen Ngoc, PhD., prof., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam*

*C. Robinson, PhD., EAWAG, Zurich, Switzerland*

*V. P. Semenchenko, Dr. of biol., corr. member NASB, Minsk, Belar*

*I. L. Golovanova, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*Y. S. Datsenko, Dr. of geogr., Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

*M. M. Trofimchuk, Ph.D., Hydrochemical Institute, Rostov-on-Don, Russia*

Editors-in-chief of the volume: **G. M. Chuiko, I. I. Tomilina**

Coordinating editor: **A. A. Sazhneva**

**ISSN 0320-3557 Print**  
**ISSN 2712-8377 Online**

*Founder (address):* Federal State Budgetary Scientific Institution, the Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences (152742, Yaroslavl oblast, Nekouz region, Borok, 109, IBIW RAS;  
*Phone/fax:* (48547)24042; *e-mail:* adm@ibiw.ru).

*Publisher (address):* Federal State Budgetary Scientific Institution, the Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences (152742, Yaroslavl oblast, Nekouz region, Borok, 109, IBIW RAS;  
*Phone/fax:* (48547)24042; *e-mail:* adm@ibiw.ru).

*Editorial address:* 152742, Borok, Yaroslavl region, Nekouz district,  
IBIW RAS  
*tel./fax* (48547) 2-48-09; *e-mail:* trud@ibiw.ru

## СОДЕРЖАНИЕ

<i>В. А. Гремячих, В. Т. Комов, М. И. Базаров, Е. С. Иванова, Д. Э. Баженова</i> ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ РТУТИ В МЫШЦАХ РАЗНОРАЗМЕРНОГО ОКУНЯ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА .....	7
<i>Н. С. Сизов, Е. А. Заботкина</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОСТИСТЫХ РЫБ ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА .....	20
<i>В. А. Любимцев, С. В. Холодкевич, Б. В. Адамович, Ю. Н. Хотянович, Г. М. Чуйко</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОТВЕТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ТЕСТ-НАГРУЗКУ КАРДИОСИСТЕМЫ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ <i>UNIO TUMIDUS</i> , ОБИТАЮЩИХ В ОЗЕРАХ С РАЗНЫМ ТРОФИЧЕСКИМ СТАТУСОМ .....	31
<i>С. В. Сладкова, С. В. Холодкевич</i> ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ <i>DREISSENA POLYMORPHA</i> ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ .....	40
<i>Р. А. Ложкина, М. А. Сысолятина, И. И. Томилина, А. С. Олькова</i> ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ <i>HYALELLA AZTECA</i> НА ДЕЙСТВИЕ ЛАНТАНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА .....	47
<i>Г. М. Чуйко, И. И. Томилина, Н. С. Шевченко, О. А. Угарова, Е. И. Головкина, М. В. Медянкина</i> ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛДИСУЛЬФИДА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЕСТ- ОРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНОЙ СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ .....	58

## CONTENTS

<i>V. A. Gremyachikh, V. T. Komov, M. I. Bazarow, E. S. Ivanova, D. E. Bazhenova</i> SPATIAL VARIABILITY OF THE INTENSITY OF MERCURY ACCUMULATION IN THE MUSCLES OF DIFFERENT-SIZED PERCH FROM THE RYBINSK RESERVOIR ..	7
<i>N. S. Sizov, E. A. Zobotkina</i> COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SOME INDICATORS OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF TELEOST FISHES IN GORKOVSKOE RESERVOIR .....	20
<i>V. A. Lyubimtsev, S. V. Kholodkevich, B. V. Adamovich, Yu. N. Khotyanovitch, G. M. Chuiko</i> COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE RESPONSE TO THE FUNCTIONAL TEST- LOAD OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF <i>UNIO TUMIDUS</i> BIVALVE MOLLUSKS LIVING IN LAKES WITH DIFFERENT TROPHIC STATUS .....	31
<i>S. V. Sladkova, S. V. Kholodkevich</i> RESPIRATORY INTENSITY AS AN INDICATOR OF THE FUNCTIONAL STATE OF BIVALVE MOLLUSKS <i>DREISSENA POLYMORPHA</i> UNDER THE IMPACT OF HEAVY METALS .....	40
<i>R. A. Lozhkina, M. A. Sysolyatina, I. I. Tomilina, A. S. Olkova</i> RESPONSES OF <i>HYALELLA AZTECA</i> TO THE EFFECT OF LANTHANUM IN THE CONDITIONS OF A CHRONIC TRIAL .....	47
<i>G. M. Chuiko, I. I. Tomilina, N. S. Shevchenko, O. A. Ugarova, E. I. Golovkina, M. V. Medyankina</i> THE EFFECT OF DIMETHYL DISULFIDE ON BIOLOGICAL INDICATORS OF TEST- ORGANISMS OF DIFFERENT SYSTEMATIC GROUPS .....	58

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ РТУТИ В МЫШЦАХ РАЗНОРАЗМЕРНОГО ОКУНЯ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

В. А. Гремячих<sup>1,\*</sup>, В. Т. Комов<sup>1,\*\*</sup>, М. И. Базаров<sup>1</sup>, Е. С. Иванова<sup>2</sup>, Д. Э. Баженова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: \*grva@list.ru, \*\*vkotov@ibiw.ru

<sup>2</sup>Череповецкий государственный университет,  
162600 г. Череповец, Вологодская обл., пр-т Луначарского, д. 5

Поступила в редакцию 10.10.2024

Исследована взаимосвязь содержания ртути (Hg) в мышцах окуня *Perca fluviatilis* L., 1758 (Perciformes, Percidae) с длиной рыб из разных плесов Рыбинского водохранилища и нижнего бьефа ГЭС Угличского водохранилища, различающихся по своим физико-химическим характеристикам. Измерение Hg в образцах проводили атомно-абсорбционным методом на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (Люмэкс) без предварительной подготовки проб, пределы обнаружения Hg в биологических образцах — 0.0005–2.0000 мг/кг. Средние концентрации металла варьировали от 0.004 до 0.87 мг/кг сырой массы при средней длине рыб 2.2–45.0 см и различались по плесам. Влияние длины рыб на содержание металла в мышцах характеризовали коэффициентом наклона линии регрессии (показатель интенсивности накопления Hg) и уровнем пересечения линии с осью Y (показатель базового содержания Hg в организмах начала трофической цепи) по каждой указанной группе. Установлено, что интенсивность накопления Hg окунем длиной до 10 см достоверно снижается при дальнейшем увеличении размеров рыб и зависит от участка вылова в пределах Рыбинского водохранилища.

*Ключевые слова:* ртуть, *Perca fluviatilis*, Рыбинское водохранилище.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-7-19

### ВВЕДЕНИЕ

Ртуть (Hg) — химический элемент, соединения которого могут представлять угрозу для существования водных и околородных животных, а также хищников, питающихся этими организмами. Поступившая в атмосферу из локальных природных и антропогенных источников элементарная ртуть (Hg<sup>0</sup>) осаждается на земную поверхность с пылью и осадками (дождь, снег) и поступает в водоемы [Obrist et al., 2018]. В водной среде при анаэробных условиях неорганические соединения Hg преобразуются в более токсичную биодоступную форму, метилированную ртуть (MeHg), которая аккумулируется живыми организмами и в высоких концентрациях накапливается в высших звеньях водной пищевой сети — хищной рыбе [Dewey et al., 2013; Lavoie et al., 2013]. Повышенные уровни Hg в рыбе снижают выживание, рост, а также репродуктивные способности рыбоядных птиц и млекопитающих [Scheuhammer et al., 2007; Hinck et al., 2009; Eagles-Smith et al., 2018]. У людей, употребляющих рыбу в значительных количествах, под воздействием MeHg повышается риск неврологических и сердечно-сосудистых заболеваний, возможно нарушение нормального течения беременности [Grandjean et al., 2005; Mergler et al., 2007; Karagas et al., 2012].

Содержание биодоступной MeHg в водоемах положительно связано с абиотическими факторами окружающей среды, такими как: площадь водно-болотных угодий в пределах

водосборных бассейнов [Grigal, 2002; Gabriel et al., 2009], площадь поверхности водоема [Kidd et al., 2012], отрицательно — с pH [Kamman et al., 2005] и электропроводностью (удельной проводимостью) воды [Julian, Gu, 2014]. В свою очередь концентрация MeHg в поверхностных водах может значимо коррелировать с MeHg в биоте водоема [Clayden et al., 2014]. Содержание Hg у представителей ихтиофауны зависит от трофического уровня и режима питания конкретного вида рыб, возраста и, соответственно, размеров (длины), а также продуктивности водоема [Burger, Gochfeld, 2011; Ward et al., 2012; Dewey et al., 2013; Eagles-Smith et al., 2014]. Высокие концентрации биогенных элементов в воде рек и озер могут снижать количество накопленной рыбами Hg за счет ускоренного роста самих рыб [Karimi et al., 2007; Ward et al., 2010] и комплексного эффекта: рассеивания в первичных продуцентах [Miller et al., 2012] и разбавления на организменном уровне.

Определение содержания Hg в рыбе, как правило, проводится у крупных представителей вида в диапазоне разрешенных для отлова длин с целью информирования и рекомендаций по употреблению ее в пищу [Гремячих и др., 2022 (Gremyachikh et al., 2022); Sackett et al., 2013; Eagles-Smith et al., 2016; Ivanova et al., 2022]. Пределы размерно-массовых показателей в выборках рыб не всегда совпадают в разных исследованиях, что затрудняет интерпретацию

полученных данных и сравнение с литературными данными. Иногда предметом изучения становилась связь содержания Hg в мышцах и длины рыб в широком диапазоне их размеров от молодых до взрослых особей [Burger, Gochfeld, 2011; Backstrom et al., 2020]. Бэкстром с соавторами расширили диапазон длин исследуемых видов рыб, включив в анализ молодь (сеголетков), чтобы определить интенсивность прироста концентрации Hg по мере роста представителей того или иного вида, формализованное уравнением линейной регрессии [Backstrom et al., 2020]. Авторы считают, что применение такого подхода представляет надежную основу прогнозирования безопасного для здоровья населения уровня потребления рыбы, особенно с учетом возможных изменений в рационе объектов питания [Жаков, 1984 (Zhakov, 1984)].

Исследования содержания Hg в мышцах окуня (объект промыслового и любительского лова), обитающего в большом по площади Рыбинском водохранилище, проводятся много лет. К настоящему времени установлена пространственная неоднородность содержания Hg в мышцах окуня из разных участков акватории водоема [Гремячих и др., 2019 (Gremyachikh et al., 2019); Haines et al., 1992; Komov, Gremyachikh, 2022]. Однако данных анализа связи накопления Hg в мышцах с размерами тела окуня из рек и озер России нами в литературных источниках не найдено.

Следует отметить, что водные массы разных плесов Рыбинского водохранилища неодинаковы по физико-химическим характеристикам. Питание водохранилища более чем на 70%

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отлов окуней *Perca fluviatilis*, L., 1758 проводили судовым тралом и ставными сетями в 1997–2024 гг. на участках Волжского, Моложского, Главного и Шекснинского плесов акватории Рыбинского водохранилища (северо-запад европейской части России: северная и южная точки — 56°33' и 58°55' с.ш.; западная и восточная — 37°21' и 41°12' в.д.) и нижнем бьефе ГЭС Угличского водохранилища — НБУВ (57°29' с.ш., 38°16').

Всего было отобрано 640 экз. рыб длиной от 2.2 до 45.0 см: 225 экз. — из Волжского, 82 экз. — Моложского, 223 экз. — Главного, 110 экз. — из Шекснинского плесов и 10 экз. из НБУВ. Пойманную рыбу замораживали (–14°C) и хранили до определения содержания Hg в мышцах. Перед анализом измеряли длину и массу тела рыбы, отбирали образцы мышц из средней дорзальной части тела между боковой линией и спинным плавником. Все исследования на животных проводили в соответствии

осуществляется за счет притока трех рек (Волги, Мологи и Шексны), которые влияют на формирование четырех водных масс, отличающихся по содержанию взвешенного и растворенного органического вещества, концентрации биогенных элементов и основных ионов [Рыбинское водохранилище..., 1972 (Rybinskoe vodohranilishche..., 1972)]. Границы территорий, занимаемых водными массами, непостоянны в течение года. В 1960–1963 гг. они составляли различную часть от общей площади водохранилища: водная масса Главного плеса — 43–86%, Шекснинского — 6–29%, Волжского — 3–20%, Моложского — 4–17%. С весенним половодьем максимальное количество взвесей поступает в Волжский плес, где их содержание достигает 95 мг/л. Меньше — в Моложский и Шекснинский плесы: 20 и 10 мг/л соответственно. До центральной части Главного плеса проникает только тонкодисперсная взвесь в количестве 3–4 мг/л. В воде Волжского плеса концентрации биогенных элементов (азот и фосфор) выше, чем в остальных. Вместе с тем цветность воды максимальна в Моложском плесе, а содержание органического углерода и растворенного органического вещества в Моложском и Шекснинском плесе выше, чем в Волжском и Главном [Структура и функционирование..., 2018 (Struktura i funkcionirovanie..., 2018)].

Цель работы — установить зависимость накопления ртути в мышцах окуня от длины тела как на разных этапах развития рыб, так и между выборками из плесов Рыбинского водохранилища, водные массы которых имеют разное происхождение.

с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и более поздних ее редакциях.

Содержание Hg в мышцах (мг/кг сырой массы) определяли в двух–трех повторностях атомно-абсорбционным методом на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (Люмэкс) без предварительной подготовки проб. Точность аналитических методов измерения контролировали после каждых 30 измерений (относительная разность в процентах <20%) с помощью сертифицированного биологического материала DORM-2 и DOLM-2 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада). Пределы обнаружения на приборе концентраций Hg в биологических образцах — 0.0005–2.0000 мг/кг. Различия данных между повторностями в среднем составили 8.3% (в пределах 0.2–11.6%).

Регрессионный (корреляционный) анализ связи содержания общей Hg в мышцах окуня

с длиной рыб (данном случае L1) проводили интегрально по выборкам со всего водохранилища, его отдельных плесов и по двум размерным категориям в каждой из выше перечисленных групп рыб: особи длиной до 10 см и больше (сеголетки и рыбы старших возрастов). Концентрации общей Hg в мышцах окуня были нормализованы логарифмированием ( $\log Hg$ ). О значимости линейной взаимозависимости содержания металла и длины рыб судили по коэффициентам наклона (КН) линии регрессии (показатель интенсивности накопления Hg) и коэффициентам пересечения (КП) линии с осью Y (показатель базового уровня содержания Hg в организмах начала трофической цепи) по каждой указанной группе рыб и между ними [Backstrom et al., 2020; Gedig et al., 2023].

Данные о длине рыб и концентрации Hg в мышцах представлены средним значением  $\pm$  ошибкой среднего, с указанием min–max, а также медианой с межквартильным размахом

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание Hg в мышцах окуня озерной части Рыбинского водохранилища (4 плеса), а также НБУВ варьировало в пределах 0.004–0.870 мг/кг сырой массы, длина рыб — в пределах 2.2–45.0 см ( $n = 650$  экз.).

Связь логарифмированных значений концентраций Hg в мышцах с длиной рыб для всей выборки окуня Рыбинского водохранилища хорошо описывается нелинейной зависимостью (рис. 1а), из которой следует, что интенсивность накопления металла сеголетками окуня  $L1 \leq 10$  см выше, чем рыбами большей длины  $L1 > 10$  см. В дальнейшем для анализа данных использовали коэффициенты линейной регрессии: а) КН как показатель интенсивности накопления Hg рыбой и б) КП как уровень накопления Hg организмами в начале трофической сети. Выявлены значимые различия в интенсивности накопления Hg по группам рыб с длиной тела до 10 см, больше 10 см и интегральной выборке (рис. 1б). Сходные отличия выявлены по КП с той разницей, что КП всей выборки не отличался статистически значимо от коэффициентов других размерных групп окуня.

В дальнейшем анализ данных проводили по группам особей длиной  $L1 \leq 10$  см,  $L1 > 10$  см и по интегральным выборкам рыб из разных плесов озерной части Рыбинского водохранилища, а также НБУВ (табл. 1, рис. 2).

Окунь Рыбинского водохранилища из группы  $L1 \leq 10$  см из Главного и Моложского плесов был крупнее Шекснинского и Волжского. Среднее содержание и медианы концентраций Hg в мышцах рыб снижались в следующей

(МКР) (верхнее значение 1 и 3 квартилей). По результатам корреляционного анализа связи  $\log Hg$  и длины рыб, а также попарного сравнения корреляционных зависимостей по группам рыб приведены значения КН и КП линий регрессии и соответствующее значение уровня значимости. Различия в буквенных парах, характеризующих взаимосвязь  $\log Hg_{\text{общ.}}$  и L1, обозначают значимые различия в КН (строчные буквы) и КП (заглавные буквы) между регрессиями по разным плесам водохранилища “внутри” отдельных размерных групп рыб. Каждая следующая буква в алфавитном порядке — а, b, с... и А, В, С — соответствует более высокому значению коэффициента. В том случае, если распределение данных отличалось от нормального (критерий Шапиро-Уилка), для оценки значимости различий между выборками использовали медианный критерий Краскел-Уоллиса (различия достоверны при  $p < 0.05$ ) [Sokal, Rohlf, 1995].

последовательности: Моложский → Главный → Волжский → Шекснинский (рис. 2а, б).

Окунь из группы  $L1 > 10$  см из Волжского плеса в среднем был значимо крупнее, чем из Моложского. Окунь из Главного, Шекснинского плесов и НБУВ заняли промежуточное положение. По содержанию Hg в мышцах выборки рыб из разных плесов достоверно не различались.

В мышцах рыб НБУВ концентрация металла была значимо выше, чем в рыбе из Волжского и Моложского плесов (рис. 2д).

По интегральным выборкам окуни из Шекснинского и Главного плесов, имеющие низкие размерные показатели содержали Hg в мышцах меньше, чем окуни из Волжского и Моложского плесов (табл. 1).

Максимальное значение угла наклона линии регрессии содержания Hg от размера рыб из группы  $L1 \leq 10$  см определено для окуней Моложского плеса, промежуточное — Главного и Шекснинского, минимальное — для окуней Волжского плеса (табл. 2, рис. 3а).

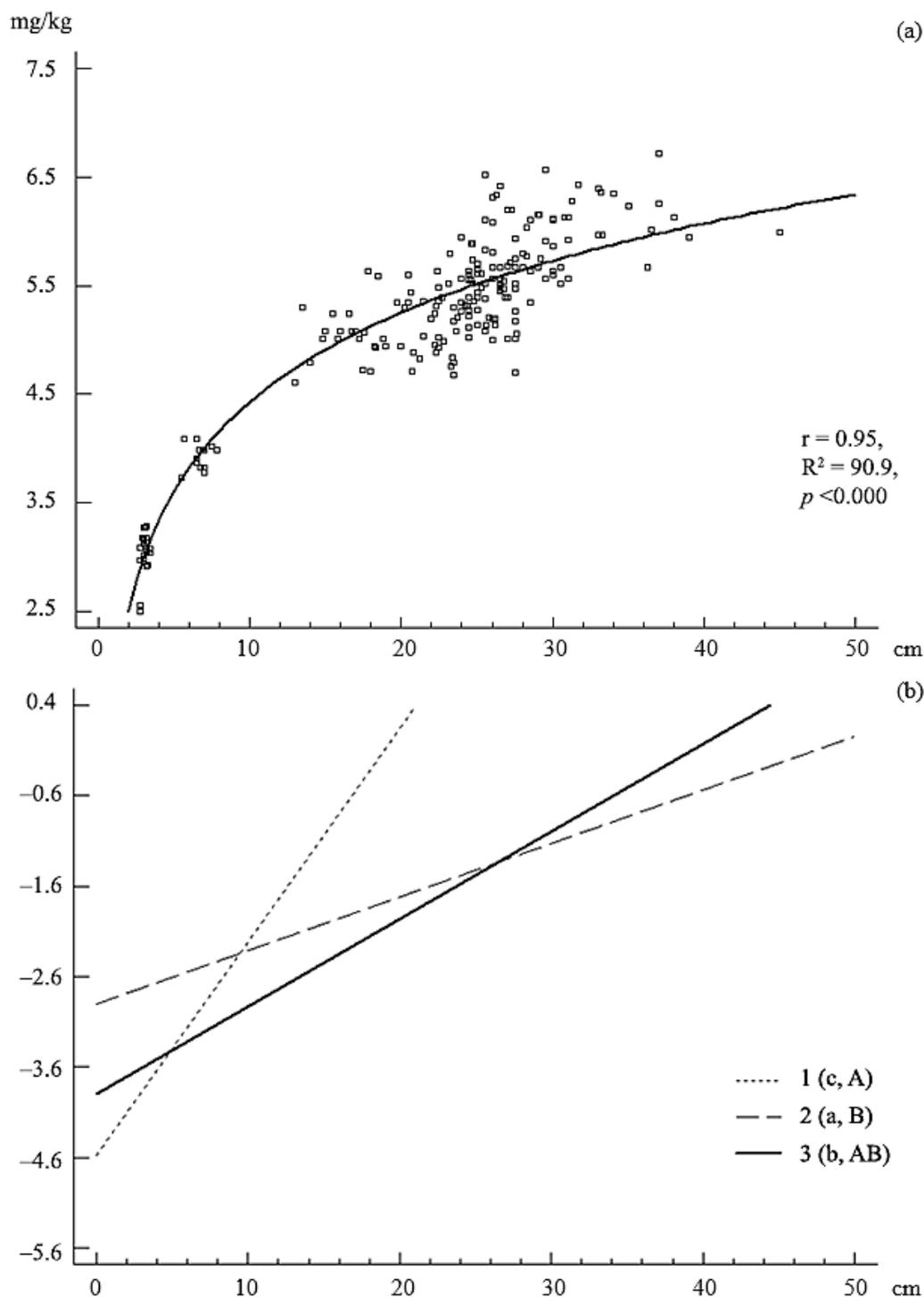
Окуни длиной  $L1 > 10$  см из Моложского и Шекснинского плесов, а также Волжского и Главного по интенсивности аккумуляции металла попарно не различались (табл. 2, рис. 3б).

По интегральным выборкам окуни из Волжского и Моложского, также Главного и Шекснинского плесов по углам наклона линий регрессии содержания Hg в мышцах от длины рыб попарно не отличались (табл. 2, рис. 3с).

Значения КН и КП регрессионных линий взаимосвязи  $\log Hg_{\text{общ.}}$  и L1 окуня длиной  $> 10$  см из 4-х плесов Рыбинского водохранилища и НБУВ составили 0.047–2.511 и 0.088–

2.739 соответственно. По интенсивности накопления Hg выборки окуня не различались, а по уровню накопления Hg организмами в начале трофической сети в местах обитания рыб и, соответственно, уровню биодоступности металла — отличались (рис. 3d).

Коэффициенты угла наклона и Y-пересечения регрессионных линий взаимосвязи  $\log Hg_{\text{общ.}}$  и L1 коррелировали отрицательно  $r = -0.95$ ,  $R^2 = 91.1$ ,  $p < 0.0002$ .



**Рис. 1.** Связь концентраций Hg в мышцах окуня Рыбинского водохранилища с его длиной (L1) по всей выборке (а) и ее линейная аппроксимация по разным размерным группам (b): 1 — окунь  $L1 \leq 10$  см, 2 — окунь  $L1 > 10$  см, 3 — по всей выборке.

**Fig. 1.** The relationship of Hg concentrations in the muscles of the perch of the Rybinsk reservoir with the fish length (L1) throughout the sample (a) and linear approximation in different size groups (b): 1 — perch  $L1 \leq 10$  cm, 2 — perch  $L1 > 10$  cm, 3 — whole sample.

**Таблица 1.** Длина и содержание Hg в мышцах окуня длиной ≤10 см, >10 см и по всей выборке из разных мест отлова на Рыбинском водохранилище и нижнем бьефе Угличской ГЭС

**Table 1.** Fish length and Hg content in the muscles of perch ≤10 cm long, >10 cm long and across the entire sample from different sampling sites in the Rybinsk reservoir and from the tail water of the Uglich hydroelectric power plant

Плесы Reaches	Длина, см / Length, cm								
	L1≤10см			L1>10см			Вся выборка		
	n	Среднее±ошибка среднего, min–max Avg.±st. err.	Медиана (МКР) Median (IQR)	n	Среднее±ошибка среднего, min–max Avg.±st. err.	Медиана (МКР) Median (IQR)	n	Среднее±ошибка среднего, min–max Avg.±st. err.	Медиана (МКР) Median (IQR)
Волжский Volzhsky	53	<u>4.0±0.2</u> 2.8–7.8	<u>3.2</u> (3.0, 3.4)	172	<u>25.4±0.4</u> 13.0–45.0	<u>25.5</u> (22.7, 27.5)	225	<u>20.3±0.7</u> 2.8–45.0	<u>24.1c</u> (14.4, 27.0)
Моложский Molozhsky	38	<u>4.9±0.2</u> 3.5–11.5	<u>4.9</u> (4.4, 5.2)	44	<u>22.8±1.1</u> 11.5–42.5	<u>20.8</u> (17.9, 27.3)	82	<u>14.5±1.2</u> 3.5–42.5	<u>13.3b</u> (4.9, 22.0)
Главный Glavnyj	212	<u>5.4±0.1</u> 3.4–11.5	<u>5.4</u> (4.2, 6.2)	11	<u>25.5±2.0</u> 13.5–34.0	<u>27.0</u> (21.0, 30.0)	223	<u>6.3±0.3</u> 3.4–34.0	<u>5.5a</u> (4.2, 6.3)
Шекснинский Sheksninsky	66	<u>3.7±0.1</u> 2.2–7.2	<u>3.8</u> (3.0, 4.1)	44	<u>24.9±0.9</u> 15.0–42.5	<u>24.0</u> (22.0, 22.5)	110	<u>12.2±1.1</u> 2.2–42.5	<u>4.4a</u> (3.6, 23.0)
НБУВ TWUHPP	—	—	—	10	<u>22.4±1.2</u> 13.6–26.9	<u>22.8</u> (22.2, 24.5)	10	<u>22.4±1.2</u> 13.6–26.9	<u>22.8bc</u> (22.2, 24.5)
Все плесы All reach	369	<u>4.8±0.1</u> 2.2–11.5	<u>4.5</u> (3.8, 5.9)	271	<u>24.8±0.3</u> 11.5–45.0	<u>24.7</u> (21.5, 27.5)	640	<u>13.4±0.4</u> 2.2–45.0	<u>6.5</u> (4.2, 23.0)
Hg, мг/кг сырой массы Hg, mg/kg wet weight									
Волжский Volzhsky	53	<u>0.03±0.002</u> 0.01–0.06	<u>0.024</u> (0.021–0.027)	172	<u>0.27±0.01</u> 0.10–0.82	<u>0.24</u> (0.18–0.33)	225	<u>0.22±0.01</u> 0.01–0.82	<u>0.20bc</u> (0.11, 0.29)
Моложский Molozhsky	38	<u>0.05±0.003</u> 0.02–0.10	<u>0.042</u> (0.026–0.062)	44	<u>0.27±0.01</u> 0.10–0.61	<u>0.25</u> (0.17–0.33)	82	<u>0.16±0.02</u> 0.02–0.61	<u>0.10b</u> (0.04, 0.25)
Главный Glavnyj	212	<u>0.04±0.001</u> 0.004–0.12	<u>0.037</u> (0.022–0.045)	11	<u>0.29±0.04</u> 0.1–0.46	<u>0.31</u> (0.17–0.38)	223	<u>0.05±0.004</u> 0.004–0.46	<u>0.04a</u> (0.02, 0.05)
Шекснинский Sheksninsky	66	<u>0.02±0.001</u> 0.01–0.04	<u>0.020</u> (0.015–0.022)	44	<u>0.32±0.02</u> 0.10–0.72	<u>0.30</u> (0.19–0.43)	110	<u>0.14±0.02</u> 0.01–0.72	<u>0.024a</u> 0.020–0.258
НБУВ TWUHPP	—	—	—	10	<u>0.52±0.08</u> 0.23–0.87	<u>0.49</u> (0.28–0.77)	10	<u>0.52±0.08</u> 0.23–0.87	<u>0.49c</u> (0.28, 0.77)
Все плесы All reaches	369	<u>0.03±0.001</u> 0.01–0.12	<u>0.028</u> (0.020–0.043)	271	<u>0.29±0.01</u> 0.10–0.82	<u>0.26</u> (0.18–0.36)	640	<u>0.14±0.02</u> 0.004–0.82	<u>0.16</u> (0.03, 0.23)

**Примечание.** “—” — данные отсутствуют. Показатели с буквенными индексами (*a, b, c...*) значимо различаются.

**Note.** “—” — no data available. Values with different indexes (*a, b, c...*) differ significantly. IQR = Interquartile Range (Quartile 1 length, Quartile 3 length).

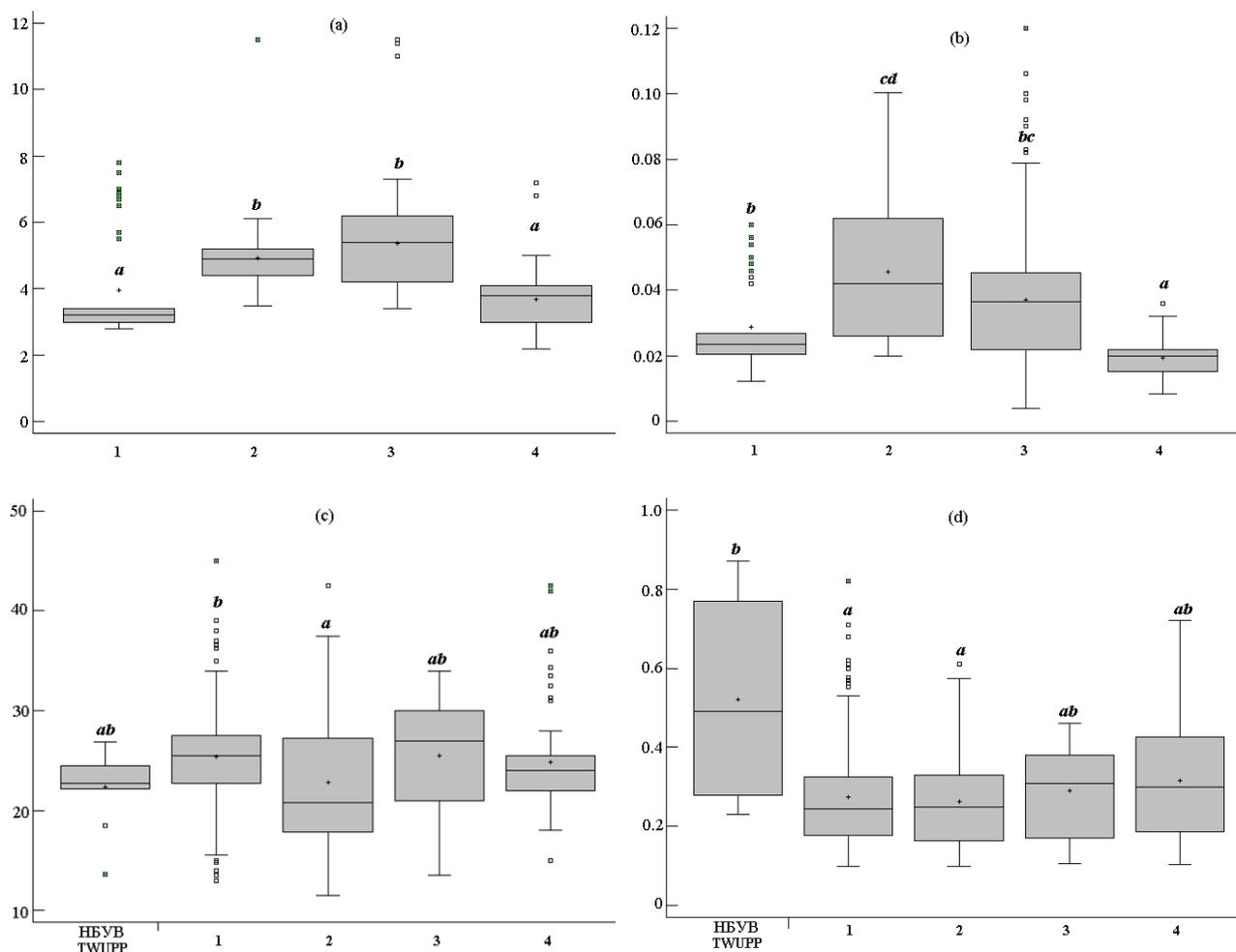
**Таблица 2.** Коэффициенты углов наклона и пересечения, а также *p*-критерии значимости различий, полученные при сравнении линий регрессии по отдельным размерным группам рыб и разным плесам водохранилища

**Table 2.** Regression slopes and intercepts, as well as the *p*-criteria for the significance of differences obtained when comparing regression lines for individual size groups of fish and different areas of the reservoir

Размер рыб Size of fish	Плесы Reaches	Коэффициент наклона, коэффициент пересечения Slope, Intercept	Плесы / Reaches							
			Волжский Volzhsky		Моложский Molozhsky		Главный Glavnyj		Шекснинский Sheksninsky	
			Коэф. наклона Slope	Коэф. пересечения Intercept	Коэф. наклона Slope	Коэф. пересечения Intercept	Коэф. наклона Slope	Коэф. пересечения Intercept	Коэф. наклона Slope	Коэф. пересечения Intercept
L1≤10 cm	Волжский Volzhsky	0.237, -2.972 (a, C)	—	—	<b>&lt;0.0100</b>	<b>&lt;0.0001</b>	0.3770	<b>&lt;0.0170</b>	0.3070	<b>&lt;0.0001</b>
	Моложский Molozhsky	0.443, -3.700 (c, A)	<b>&lt;0.0100</b>	<b>&lt;0.0001</b>	—	—	0.1200	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0398</b>	<b>&lt;0.0001</b>
	Главный Glavnyj	0.353, -3.680 (abc, B)	0.3770	<b>&lt;0.0170</b>	0.1200	<b>&lt;0.0001</b>	—	—	0.9930	0.0626
	Шекснинский Sheksninsky	0.269, -3.366 (ab, B)	0.3070	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0398</b>	<b>&lt;0.0001</b>	0.9930	0.0626	—	—
L1>10 cm	Волжский Volzhsky	0.059, -2.911 (c, A)	—	—	<b>&lt;0.0108</b>	<b>&lt;0.0001</b>	0.8315	0.5224	<b>&lt;0.0207</b>	<b>&lt;0.0141</b>
	Моложский Molozhsky	0.037, -2.057 (ab, C)	<b>&lt;0.0108</b>	<b>&lt;0.0001</b>	—	—	<b>&lt;0.0412</b>	<b>&lt;0.0315</b>	0.9914	0.1977
	Главный Glavnyj	0.062, -2.908(c, AB)	0.8315	0.5224	<b>&lt;0.0412</b>	<b>&lt;0.0315</b>	—	—	<b>&lt;0.0354</b>	0.0998
	Шекснинский Sheksninsky	0.034, -2.110 (a, BC)	<b>&lt;0.021</b>	<b>&lt;0.0141</b>	0.9914	0.1977	<b>&lt;0.0354</b>	0.0998	—	—
По всей выборке For the entire sample	Волжский Volzhsky	0.100, -3.901 (a, B)	—	—	0.3029	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0065</b>	0.7615	<b>&lt;0.0000</b>	<b>&lt;0.0246</b>
	Моложский Molozhsky	0.091, -3.443 (a, C)	0.3029	<b>&lt;0.0001</b>	—	—	<b>&lt;0.0022</b>	<b>&lt;0.0000</b>	<b>&lt;0.0004</b>	<b>&lt;0.0000</b>
	Главный Glavnyj	0.115, -4.045 (b, B)	<b>&lt;0.0065</b>	0.7615	<b>&lt;0.0022</b>	<b>&lt;0.0000</b>	—	—	0.4060	<b>&lt;0.0000</b>
	Шекснинский Sheksninsky	0.118, -4.335 (b, A)	<b>&lt;0.0000</b>	<b>&lt;0.0246</b>	<b>&lt;0.0004</b>	<b>&lt;0.0000</b>	<b>0.4060</b>	<b>&lt;0.0000</b>	—	—

**Примечание.** Коэффициенты углов наклона и пересечения с осью Y, уровень значимости *p*. Полужирным выделены значимые различия между выборками рыб.

**Note.** The coefficients of the angles of inclination and inter section with the Y-axis, the significance level of *p*. Significant differences between the fish samples are highlighted in bold.



**Рис. 2.** Длина и концентрация Hg в мышцах окуня из Волжского (1), Моложского (2), Главного (3), Шекснинского (4) плесов и нижнего бьефа Угличской ГЭС. (а), (б) — по окуню  $L1 \leq 10$  см, (с), (д) — по окуню  $L1 > 10$  см. Показатели с разными буквенными индексами (*a*, *b*, *c*...) значительно различаются.

**Fig. 2.** Fish length and Hg concentration in the muscles of perch from the Volzhsky (1), Molozhsky (2), Glavnyj (3), Sheksninsky (4) reaches and the tail water of the Uglich hydroelectric power plant (TWUHP). a, (b) — for perch  $L1 \leq 10$  cm, (c), (d) — for perch  $L1 > 10$  cm. Values with different indexes (*a*, *b*, *c*...) differ significantly.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

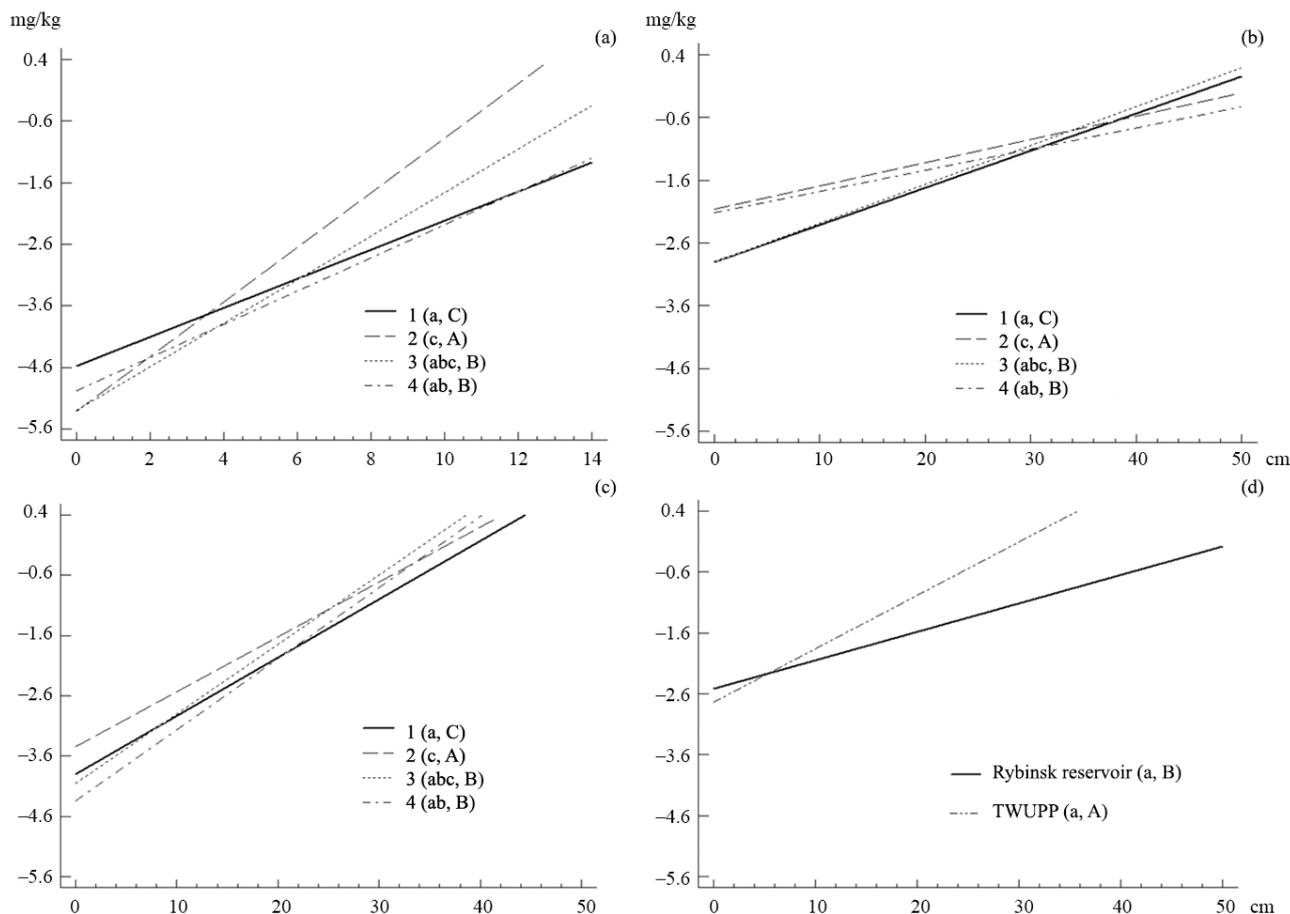
Hg и ее соединения природного и антропогенного происхождения способны быстро испаряться и обогащать атмосферу при температурах, приемлемых для жизни большинства живых организмов. Поэтому включение металла в трофические сети наземных и водных экосистем зависит не столько от географического расположения источника эмиссии, сколько от условий региона, где Hg выпадает на земную поверхность. В результате, высокие уровни содержания Hg, 2 мг/кг сырой массы и выше, зарегистрированы как в мышцах окуня из Братского водохранилища, куда попадали побочные продукты процесса электролиза, содержащие Hg [Леонова, 2006 (Leonova, 2006)], так и в мышцах окуня из озер верховых болот Дарвинского и Рдейского заповедников, где любая хозяйственная деятельность расположена в десятках и сотнях км от охраняемых

территорий [Haines et al., 1992; Комов и др., 2009 (Komov et al., 2009)].

Территории водосборных бассейнов рек, формирующих водные массы Рыбинского водохранилища, неодинаковы по размерам площади и степени заболоченности. С заболоченных территорий, при их наличии, в водоемы поступает значительная часть растворенного органического вещества, которое контролирует ряд важных экологических процессов, в том числе перенос Hg с водным стоком [Mierle, Ingram, 1991]. Моложские водные массы содержат максимальное количество растворенного органического вещества и имеют высокую цветность по сравнению с водными массами других плесов. Интенсивность накопления Hg ( $KH = 0.443$ ) в мышцах окуня с длиной меньше 10 см из Моложского плеса выше, чем в мышцах рыб из других плесов Рыбинского

водохранилища (КН = 0.237–0.353) и выше, чем у молоди окуня из прудов на северо-востоке США (КН = 0.096–0.201) [Backstrom et al., 2020]. С другой стороны, содержание биогенных

элементов, необходимых для альгофлоры, максимально в Волжских водных массах, где накопление Hg молодью окуня одно из самых низких (КН = 0.237).



**Рис. 3.** Линии регрессии нормализованной по натуральному логарифму концентрации общей Hg в мышцах окуня (мг/кг сырой массы) и длины рыбы по разным размерным группам и по Волжскому (1), Моложскому (2), Главному (3), Шекснинскому (4) плесам и НБУВ ( $p < 0.05$ ): (a) — окунь  $L1 \leq 10$  см, (b) — окунь  $L1 > 10$  см, (c) — вся выборка рыб, (d) — окунь  $L1 > 10$  см Рыбинского водохранилища и НБУВ.

**Fig. 3.** Regression lines of the natural log-transformed total Hg concentrations in the muscles of perch (mg/kg of wet weight) by the fish length for different size groups and for Volzhsky (1), Molozhsky (2), Glavnuy (3), Sheksninsky (4) reaches and TWUHP ( $p < 0.05$ ): (a) — perch  $L1 \leq 10$  cm, (b) — perch  $L1 > 10$  cm, (c) — the entire sample of fish, (d) — perch  $L1 > 10$  cm of the Rybinsk reservoir and the TWUHP.

Окунь отличается от большинства других видов рыб широким спектром питания, изменяющемся в процессе развития [MacLean, Magnuson, 1977]. Было показано, что молодь окуня питается преимущественно зоопланктоном, в то время как крупные и половозрелые особи включают в свой рацион крупных беспозвоночных и рыб [Житло, 1939 (Zhitlo, 1939); Жаков, 1984 (Zhakov, 1984)]. Тем не менее у крупных экземпляров окуня (20 см) регистрировали преимущественное питание зоопланктоном, а у мелких экземпляров (<10 см) обнаруживали в желудке и кишечнике не переваренные остатки рыб [Rask, 1984, 1986]. Вероятно, изменение объектов питания у более крупного окуня Рыбинского водохранилища с длиной

тела  $> 10$  см является причиной изменения лидеров и аутсайдеров по накоплению Hg с увеличением размеров. Так, окунь из Волжского и Главного плесов накапливает Hg (КН 0.059 и 0.062) более интенсивно, чем окунь из Моложского и Шекснинского (КН 0.037 и 0.034).

Значительные отличия в интенсивности накопления Hg (КН) в мышцах между группами разных по размеру окуней свидетельствуют о принципиальной разнице в питании и скорости роста рыб длиной до 10 см и больше 10 см. Анализ интегральных выборок по плесам свидетельствует о том, что выявленная статистически значимая разница очень невелика: Волжский и Моложский плесы (КН 0.100 и 0.091), Главный и Шекснинский плесы (КН 0.115 и 0.118).

Использование показателя базового уровня содержания Hg в организмах начала трофической цепи — пересечение линии регрессии с осью Y — для оценки доступности Hg не дало какого-либо полезного эффекта, также как и в некоторых других исследованиях [Richter, Skinner, 2020].

Немногочисленные исследования, посвященные изучению влияния плотин на накопление Hg в мышцах рыб, показали как увеличение содержания Hg в мышцах рыб ниже плотины [Kasper et al., 2012, 2014], так и наоборот — снижение [Tuomola et al., 2008; Sebalho et al., 2017]. Более того, было показано, что на одном и том же водотоке три вида рыб демонстрировали разную реакцию: у одного вида ниже плотины концентрация Hg в мышцах увеличивалась, у другого снижалась, а у третьего статистически

значимо не менялась [Paiva et al., 2024]. Объяснения неодинаковой реакции дискусионны, но в основе указывается процесс биологического стока и повторный переход частиц детрита во взвешенное состояние. В первом случае увеличивается вероятность удлинения трофической цепи, во втором — у частиц детрита появляется еще одна возможность передать ассоциированные с ними Hg живым организмам. Величины углов наклона линий регрессионных уравнений содержания Hg от длины тела окуня ( $L > 10$  см) из озерной части Рыбинского водохранилища и НБУВ (речной участок) статистически значимо не различаются. Что позволяет нам считать удлинение трофической цепи основной причиной увеличения содержания Hg в мышцах окуня, отловленного ниже плотины Угличской ГЭС.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Максимальная интенсивность накопления Hg в мышцах окуня Рыбинского водохранилища зарегистрирована в диапазоне длины тела рыбы от 2 до 10 см. В процессе дальнейшего роста окуня до 40 см интенсивность накопления Hg снижается.

Интенсивность накопления Hg в мышцах окуня из разных плесов значимо различается несмотря на то, что между водными массами в Рыбинском водохранилище барьеров нет. У рыб длиной меньше 10 см самые высокие уровни накопления металла зарегистрированы у окуня из Моложского плеса. У окуня длиной больше

10 см из Волжского и Главного плесов интенсивность накопления значимо выше, чем у окуня из Моложского и Шекснинского плесов.

Среднее содержание Hg в мышцах окуня, отловленного ниже плотины Угличской ГЭС (речной участок Рыбинского водохранилища), почти в два раза больше, чем в мышцах окуня из озерной части водохранилища, а интенсивность накопления металла одинаковая. Это позволяет предположить удлинение трофической цепи в нижнем бьефе плотины за счет биологического стока.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 124032500015-7 “Роль абиотических и биотических факторов в формировании физиолого-биохимических и иммунологических показателей гидробионтов”.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гремячих В.А., Ложкина Р.А., Комов В.Т. Пространственно-временная вариабельность содержания ртути в речном окуне *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 (Perciformes, Percidae) Рыбинского водохранилища на рубеже XX–XXI веков // Трансформация экосистем. 2019. Т. 2, № 2(4). С. 85–95.
- Гремячих В.А., Ложкина Р.А., Котиков Д.Э., Комов В.Т. Концентрации ртути в мышцах разных видов рыб из водоемов Ярославской области и прилегающих территорий // Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2022. Вып. 100(103). С. 35–56. DOI: 10.47021/0320-3557-2022-34-56.
- Жаков Л.А. Формирование и структура рыбного населения озер северо-запада СССР. Москва: Наука, 1984. 144 с.
- Житло Я.И. Исследования по питанию молоди окуня Валдайского озера // Известия ВНИОРХ. 1939. Т. XXII. С. 55–71.
- Комов В.Т., Гремячих В.А., Камшилова Т.Б., Лобус Н.В. Содержание ртути в мышцах окуня из Полистово-Ловатского верхового болотного массива // Труды Государственного природного заповедника Рдейский. 2009. № 1. С. 102–115.
- Леонова Г.А., Калмычков Г.В., Гелетий В.Ф., Андрулайтис Л.Д. Содержание и характер распределения ртути в абиотических и биотических компонентах экосистемы Братского водохранилища // Биология внутренних вод. 2006. № 2. С. 97–104.
- Рыбинское водохранилище и его жизнь. Л.: Наука. 1972. 364 с.
- Структура и функционирование экосистемы Рыбинского водохранилища в начале XXI века / ред. В.И. Лазарева. М.: РАН, 2018. 456 с.
- Backstrom C.H., Buckman K., Molden E., Chen C.Y. Mercury levels in freshwater fish: Estimating concentration with fish length to determine exposures through fish consumption // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2020. Vol. 78. P. 604–621. DOI: 10.1007/s00244-020-00717-y.

- Burger J., Gochfeld M. Mercury and selenium levels in 19 species of saltwater fish from New Jersey as a function of species, size, and season // *Sci. Total. Environ.* Vol. 409. P. 1418–1429. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.12.034.
- Cebalho E.C., Díez S., dos Santos Filho M. et al. Effects of small hydropower plants on mercury concentrations in fish // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017. Vol. 724. P. 22709–22716. DOI: 10.1007/s11356-017-9747-1.
- Clayden M.G., Kidd K.A., Chételat J. et al. Environmental, geographic and trophic influences on methylmercury concentrations in macroinvertebrates from lakes and wetlands across Canada // *Ecotoxicology.* 2014. Vol. 23. P. 273–284. DOI: 10.1007/s10646-013-1171-9.
- Depew D.C., Burgess N.M., Anderson M.R. et al. An overview of mercury concentrations in freshwater fish species: a national fish mercury dataset for Canada // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2013. Vol. 70. P. 436–451.
- Eagles-Smith C.A., Willacker J.J., Flanagan Pritz C.M. Mercury in fishes from 21 national parks in the Western United States — inter- and intra-park variation in concentrations and ecological risk. U.S. Geological Survey Open-File Report 2014-1051. 2014. P. 54.
- Eagles-Smith C.A., Wiener J.G., Eckley C.S. et al. Spatial and temporal patterns of mercury concentrations in freshwater fish across the Western United States and Canada // *Sci. Total Environ.* 2016. Vol. 568. P. 1171–1184. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.229.
- Eagles-Smith C., Silbergeld E.K., Basu N. et al. Modulators of mercury risk to wildlife and humans in the context of rapid global change // *Ambio.* 2018. Vol. 47. P. 170–197. DOI: 10.1007/s13280-017-1011-x.
- Environmental chemistry and toxicology of mercury / Eds. Liu G., Cai Y., O'driscoll N.A. New Jersey: Wiley J. & Sons, INC. 2012. 600 p.
- Gabriel M.C., Kolka R., Wickman T. et al. Evaluating the spatial variation of total mercury in young-of-year yellow perch (*Perca flavescens*), surface water and upland soil for watershed–lake systems within the southern Boreal Shield // *Sci. Total Environ.* 2009. Vol. 407. P. 4117–4126. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.03.019.
- Grandjean P., Cordier S., Kjellström T. et al. Health effects and risk assessments. Dynamics of mercury pollution at regional and global scales. Part IV. NY: Springer, 2005. P. 511–538.
- Grigal D.F. Inputs and outputs of mercury from terrestrial watersheds: a review // *Environ Rev.* 2002. Vol. 10. P. 1–39. DOI: 10.1139/a01-013.
- Haines T.A., Komov V., Jagoe C.H. Lake acidity and mercury content of fish in Darvin national reserve, Russia // *Environ. Pollut.* 1992. Vol. 78. № 1–3. P. 107–112.
- Hinck J.E., Schmitt C.J., Chojnacki K.A., Tillitt D.E. Environmental contaminants in freshwater fish and their risk to piscivorous wildlife based on a national monitoring program // *Environ. Monit. Assess.* 2009. Vol. 152. P. 469–494. DOI: 10.1007/s10666-008-0331-5.
- Ivanova E.S., Eltsova L.S., Komov V.T. et al. Assessment of the consumptive safety of mercury in fish from the surface waters of the Volodga region in northwestern Russia // *Environ Geochem Health.* 2022. Vol. 45(3). P. 863–879. DOI: 10.1007/s10653-022-01254-4.
- Julian P., Gu B. Mercury accumulation in largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède) within marsh ecosystems of the Florida Everglades, USA // *Ecotoxicology.* 2014. Vol. 24. P. 202–214. DOI: 10.1007/s10646-014-1373-9.
- Kamman N., Burgess N.M., Driscoll C.T. et al. Mercury in freshwater fish of Northeast North America: a geographic perspective based on fish tissue monitoring databases // *Ecotoxicology.* 2005. Vol. 14. P. 163–180. DOI: 10.1007/s10646-004-6267-9.
- Karagas M.R., Choi A.L., Oken E. et al. Evidence on the human health effects of low level methyl mercury exposure // *Environ Health Perspect.* 2012. Vol. 120. P. 799–806.
- Karimi R., Chen C.Y., Pickhardt P.C. et al. Stoichiometric controls of mercury dilution by growth // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007. Vol. 104. P. 7477–7482. DOI: 10.1073/pnas.0611261104.
- Kasper D., Forsberg B.R., Amaral J.H.F. et al. Reservoir stratification affects methylmercury levels in river water, plankton, and fish downstream from Balbina hydroelectric dam, Amazonas, Brazil // *Environ. Sci. Technol.* 2014. Vol. 48. P. 1032–1040. DOI: 10.1021/es4042644.
- Kasper D., Palermo E.F.A., Branco C.W.C., Malm O. Evidence of elevated mercury levels in carnivorous and omnivorous fishes downstream from an Amazon reservoir // *Hydrobiologia.* 2012. Vol. 694. P. 87–98. DOI: 10.1007/s10750-012-1133-x.
- Kidd K.A., Muir D.C.G., Evans M.S. et al. Biomagnification of mercury through lake trout (*Salvelinus namaycush*) food webs of lakes with different physical, chemical and biological characteristics // *Sci. Total Environ.* 2012. Vol. 438. P. 135–143. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.08.057.
- Komov V.T., Gremyachikh V.A. Variations in mercury concentrations in the muscles of fish in biotopes within the water bodies of Russia // *Limnol. Freshwater Biol.* 2022. № 3. P. 1280–1282. DOI: 10.31951/2658-3518-2022-A-3-1280.
- Lavoie R.A., Jardine T.D., Chumchal M.M. et al. Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis // *Environ. Sci. Technol.* 2013. Vol. 47. P. 13385–13394. DOI: 10.1021/es403103t.
- MacLean J., Magnuson J.J. Species interactions in percid communities // *J. Fish. Res. Board Can.* 1977. Vol. 34. P. 1941–1951.
- Mergler D., Anderson H.A., Chan L.H. et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern // *AMBIO.* 2007. Vol. 36. P. 3–11.
- Mierle G., Ingram R. The role of humic substances in the mobilization of mercury from watersheds // *Water Air Soil. Pollut.* 1991. Vol. 56. P. 349–357.

- Miller E.K., Chen C., Kamman N. et al. Mercury in the pelagic food web of Lake Champlain // *Ecotoxicology*. 2012. Vol. 21. P. 705–718. DOI: 10.1007/s10646-011-0829-4.
- Obrist D., Kirk J.L., Zhang L. et al. A review of global environmental mercury processes in response to human and natural perturbations: changes of emissions, climate, and land use // *AMBIO*. 2018. Vol. 47. P. 116–140. DOI: 10.1007/s13280-017-1004-9.
- Paiva T.C., Pestana I.A., Oliveira B.C.V. et al. Mercury concentrations and differences in isotopic niches of fish from upstream and downstream of an Amazon reservoir dam // *Ecotoxicology*. 2024. Vol. 33. P. 762–771. DOI: 10.1007/s10646-024-02776-6.
- Richter W., Skinner L.C. Mercury in the fish of New York's Great Lakes: A quarter century of near stability // *Ecotoxicology*. 2020. Vol. 29. P. 1721–1738. DOI: 10.1007/s10646-019-02130-1.
- Rask M. The effect of low pH on perch, *Perca fluviatilis* L. 3. The perch population in small, acidic, extremely humic forest lakes // *Ann. Zool. Fenn.* 1984. Vol. 21. P. 15–22.
- Rask M. The diet and diel feeding activity of perch, *Perca fluviatilis* L., in a small lake in southern Finland // *Ann. Zool. Fenn.* 1986. Vol. 23. P. 49–56.
- Sackett D.K., Cope G.W., Rice J.A., Aday D.D. The influence of fish length on tissue mercury dynamics: implications for natural resource management and human health risk // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2013. Vol. 10. P. 638–659. DOI: 10.3390/ijerph10020638.
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish // *AMBIO*. 2007. Vol. 36(1). P. 12–18.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. *Biometry. The principals and practice of statistics in biological research*. N.Y.: W.H. Freeman and Co, 1995. 887 p.
- Tuomola L., Niklasson T., de Castro e Silva E., Hylander L.D. Fish mercury development in relation to abiotic characteristics and carbon sources in a six-year-old, Brazilian reservoir // *Sci. Total Environ.* 2008. Vol. 390. P. 177–187. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.09.030.
- Ward D.M., Nislow K.H., Chen C.Y., Folt C.L. Reduced trace element concentrations in fast-growing juvenile atlantic salmon in natural streams // *Environ. Sci. Technol.* 2010. Vol. 44. P. 3245–3251. DOI: 10.1021/es902639a.
- Ward D.M., Mayes B., Sturup S. et al. Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes // *Sci. Total Environ.* 2012. Vol. 421–422. P. 230–237. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.01.058.

## REFERENCES

- Backstrom C.H., Buckman K., Molden E., Chen C.Y. Mercury levels in freshwater fish: Estimating concentration with fish length to determine exposures through fish consumption. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2020, vol. 78, pp. 604–621. doi: 10.1007/s00244-020-00717-y.
- Burger J., Gochfeld M. Mercury and selenium levels in 19 species of saltwater fish from New Jersey as a function of species, size, and season. *Sci. Total Environ.*, vol. 409, pp. 1418–1429. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.12.034.
- Cebalho E.C., Díez S., dos Santos Filho M., Muniz C.C., Lázaro W., Malm O., Ara I. Effects of small hydropower plants on mercury concentrations in fish. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2017, vol. 24, pp. 22709–22716. doi: 10.1007/s11356-017-9747-1.
- Clayden M.G., Kidd K.A., Chételat J. et al. Environmental, geographic and trophic influences on methylmercury concentrations in macroinvertebrates from lakes and wetlands across Canada. *Ecotoxicology*, 2014, vol. 23, pp. 273–284. doi: 10.1007/s10646-013-1171-9.
- Depew D.C., Burgess N.M., Anderson M.R. et al. An overview of mercury concentrations in freshwater fish species: a national fish mercury dataset for Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 2013, vol. 70, pp. 436–451.
- Eagles-Smith C., Silbergeld E.K., Basu N. et al. Modulators of mercury risk to wildlife and humans in the context of rapid global change. *AMBIO*, 2018, vol. 47, pp. 170–197. doi: 10.1007/s13280-017-1011-x.
- Eagles-Smith C.A. et al. Spatial and temporal patterns of mercury concentrations in freshwater fish across the Western United States and Canada. *Sci. Total Environ.*, 2016, vol. 568, pp. 1171–1184. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.229.
- Eagles-Smith C.A., Willacker J.J., Flanagan Pritz C.M. Mercury in fishes from 21 national parks in the Western United States — inter- and intra-park variation in concentrations and ecological risk. U.S. Geological Survey Open-File Report 2014–1051. 2014. p. 54.
- Environmental chemistry and toxicology of mercury. New Jersey. Eds. Liu G., Cai Y., O'driscoll N.A. New Jersey, Wiley J. & Sons, INC, 2012. 600 p.
- Gabriel M.C., Kolka R., Wickman T. et al. Evaluating the spatial variation of total mercury in young-of-year yellow perch (*Perca flavescens*), surface water and upland soil for watershed–lake systems within the southern Boreal Shield. *Sci. Total Environ.*, 2009, vol. 407, pp. 4117–4126. doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.03.019.
- Grandjean P., Cordier S., Kjellström T. et al. Dynamics of mercury pollution at regional and global scales. Part IV. *Health effects and risk assessments*. NY, Springer, 2005, pp. 511–538. doi: 10.1007/b105709.
- Gremyachikh V.A., Lozhkina R.A., Komov V.T. Spatial-temporal variability of mercury content in the river perch *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 (Perciformes: Percidae) of the Rybinsk Reservoir at the turn of the XX–XXI centuries. *Transformation ecosystem*, 2019, vol. 2, no. (4), pp. 85–95. (In Russian)
- Gremyachikh V.A., Lozhkina R.A., Kotikov D.E., Komov V.T. Mercury concentrations in muscles of different fish species from water bodies of Yaroslavl region and adjacent territories. *Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS*, 2022, iss. 100(103), pp. 35–56. doi: 10.47021/0320-3557-2022-34-56. (In Russian)

- Grigal D.F. Inputs and outputs of mercury from terrestrial watersheds: a review. *Environ. Rev.*, 2002, vol. 10, pp. 1–39. doi: 10.1139/a01-013.
- Haines T.A., Komov V., Jagoe C.H. Lake acidity and mercury content of fish in Darwin national reserve, Russia. *Environ. Pollut.*, 1992, vol. 78, no. 1–3, pp. 107–112.
- Hinck J.E., Schmitt C.J., Chojnacki K.A., Tillitt D.E. Environmental contaminants in freshwater fish and their risk to piscivorous wildlife based on a national monitoring program. *Environ. Monit. Assess.*, 2009, vol. 152, pp. 469–494. doi: 10.1007/s10661-008-0331-5.
- Ivanova E.S., Eltsova L.S., Komov V.T. et al. Assessment of the consumptive safety of mercury in fish from the surface waters of the Vologda region in northwestern Russia. *Environ. Geochem. Health.*, 2022, vol. 45(3), pp. 863–879. doi: 10.1007/s10653-022-01254-4.
- Julian P., Gu B. Mercury accumulation in largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède) within marsh ecosystems of the Florida Everglades, USA. *Ecotoxicology*, 2014, vol. 24, pp. 202–214. doi: 10.1007/s10646-014-1373-9.
- Kamman N., Burgess N.M., Driscoll C.T. et al. Mercury in freshwater fish of Northeast North America: a geographic perspective based on fish tissue monitoring databases. *Ecotoxicology*, 2005, vol. 14, pp. 163–180. doi: 10.1007/s10646-004-6267-9.
- Karagas M.R., Choi A.L., Oken E. et al. Evidence on the human health effects of low level methyl mercury exposure. *Environ. Health Perspect.*, 2012, vol. 120, pp 799–806.
- Karimi R., Chen C.Y., Pickhardt P.C. et al. Stoichiometric controls of mercury dilution by growth. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2007, vol. 104, pp. 7477–7482. doi: 10.1073/pnas.0611261104.
- Kasper D., Forsberg B.R., Amaral J.H.F., Leitão R.P., Py-Daniel S.S., Bastos W.R., Malm O. Reservoir stratification affects methylmercury levels in river water, plankton, and fish downstream from Balbina hydroelectric dam, Amazonas, Brazil. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, vol. 48, pp. 1032–1040. doi: 10.1021/es4042644.
- Kasper D., Palermo E.F.A., Branco C.W.C., Malm O. Evidence of elevated mercury levels in carnivorous and omnivorous fishes downstream from an Amazon reservoir. *Hydrobiologia*, 2012, vol. 694, pp. 87–98. doi: 10.1007/s10750-012-1133-x.
- Kidd K.A., Muir D.C.G., Evans M.S. et al. Biomagnification of mercury through lake trout (*Salvelinus namaycush*) food webs of lakes with different physical, chemical and biological characteristics. *Sci. Total Environ.*, 2012, vol. 438, pp. 135–143. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.08.057.
- Komov V.T., Gremyachikh V.A. Variations in mercury concentrations in the muscles of fish in biotopes within the water bodies of Russia. *Limnol. Freshwater Biol.*, 2022, no. 3, pp. 1280–1282.
- Komov V.T., Gremyachikh V.A., Kamshilova T.B., Lobus N.V. Mercury content in perch muscles from lakes of Polistovo-Lovatsky up landmarsh massif. *Proceedings of the Rdeisky State Nature Reserve*, 2009, no. 1, pp. 102–115. (In Russian)
- Lavoie R.A., Jardine T.D., Chumchal M.M. et al. Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environ. Sci. Technol.*, 2013, vol. 47, pp. 13385–13394.
- Leonova G.A., Kalmykov G.V., Gelety V.F., Androulaitis L.D. The content and distribution of mercury in the abiotic and biotic components of the ecosystem of the Bratsk Reservoir. *Inland Waters Biol.*, 2006, no. 2, pp. 97–104.
- MacLean J., Magnuson J.J. Species interactions in percid communities. *J. Fish. Res. Board Can.*, 1977, vol. 34, pp. 1941–1951.
- Mergler D., Anderson H.A., Chan L.H. et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *AMBIO*, 2007, vol. 36, pp. 3–11.
- Mierle G., Ingram R. The role of humic substances in the mobilization of mercury from watersheds. *Water Air Soil Pollut.*, 1991, vol. 56, pp. 349–357.
- Miller E.K., Chen C., Kamman N. et al. Mercury in the pelagic food web of Lake Champlain. *Ecotoxicology*, 2012, vol. 21, pp. 705–718. doi: 10.1007/s10646-011-0829-4.
- Obrist D., Kirk J.L., Zhang L. et al. A review of global environmental mercury processes in response to human and natural perturbations: changes of emissions, climate, and land use. *AMBIO*, 2018, vol. 47, pp. 116–140. doi: 10.1007/s13280-017-1004-9.
- Paiva T.C., Pestana I.A., Oliveira B.C.V., Almeida M.G., Malm O., Rezende C.E., Kasper D. Mercury concentrations and differences in isotopic niches of fish from upstream and downstream of an Amazon reservoir dam. *Ecotoxicology*, 2024, vol. 33, pp. 762–771. doi: 10.1007/s10646-024-02776-6.
- Rask M. The diet and diel feeding activity of perch, *Perca fluviatilis* L., in a small lake in southern Finland. *Ann. Zool. Fenn.*, 1986, vol. 23, pp. 49–56.
- Rask M. The effect of low pH on perch, *Perca fluviatilis* L. 3. The perch population in small, acidic, extremely humic forest lakes. *Ann. Zool. Fenn.*, 1984, vol. 21, pp. 15–22.
- Richter W. and Skinner L.C. Mercury in the fish of New York's Great Lakes: A quarter century of near stability. *Ecotoxicology*, 2020, vol. 29, pp. 1721–1738. doi: 10.1007/s10646-019-02130-1.
- Rybinskoe vodoxranilishhe i ego zhizn' [Rybinsk reservoir and its life]. L., Nauka, 1972, 364 p. (In Russian)
- Sackett D.K., Cope G.W., Rice J.A., Aday D.D. The influence of fish length on tissue mercury dynamics: implications for natural resource management and human health risk. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 2013, vol. 10, pp. 638–659. doi: 10.3390/ijerph10020638.
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *AMBIO*, 2007, vol. 36(1), pp. 12–18.

- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. N.Y.: W.H. Freeman and Co. 1995. 887 p.
- Strukture and Funktioning of the Ecosystem in the Rybinsk Reservoir at the beginning XXI Century (ed. V.I. Lazareva). Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences. Moscow: RAN, 2018. 456 p. (In Russian)
- Tuomola L., Niklasson T., de Castro e Silva E., Hylander L.D. Fish mercury development in relation to abiotic characteristics and carbon sources in a six-year-old, Brazilian reservoir. *Sci. Total Environ.*, 2008, vol. 390, pp. 177–187. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.09.030.
- Ward D.M., Mayes B., Sturup S. et al, Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes. *Sci. Total Environ.*, 2012, vol. 421–422, pp. 230–237. doi: 10.1016/j.scito tev.2012.01.058.
- Ward D.M., Nislow K.H., Chen C.Y., Folt C.L. Reduced trace element concentrations in fast-growing juvenile atlantic salmon in natural streams. *Environ. Sci. Technol.*, 2010, vol. 44, pp. 3245–3251. doi. org/10.1021/es902 639a.
- Zhakov L.A. Formation and structure of the fish population of the lakes of the north-west of the USSR. Moscow, Nauka, 1984. 144 p. (In Russian)

## SPATIAL VARIABILITY OF THE INTENSITY OF MERCURY ACCUMULATION IN THE MUSCLES OF DIFFERENT-SIZED PERCH FROM THE RYBINSK RESERVOIR

V. A. Gremyachikh<sup>1\*</sup>, V. T. Komov<sup>1\*\*</sup>, M. I. Bazarov<sup>1</sup>, E. S. Ivanova<sup>2</sup>, D. E. Bazhenova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Papanin Institute of Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences*

*152742 Borok, Russia, e-mail: \*grva@list.ru; \*\*vkomov@ibiw.ru*

<sup>2</sup>*Cherepovets State University, 162600 Cherepovets, Russia*

Revised 10.10.2024

The study investigates the relationship between the mercury (Hg) content in the muscles of the perch *Perca fluviatilis* L., 1758 from different areas of the Rybinsk Reservoir including tail-water of the Uglich hydroelectric power plant, which differ in their physico-chemical characteristics, and the length of the fish. The measurement of Hg was carried out using the atomic absorption method on a RA-915+ mercury analyzer with the PYRO prefix (Lumex), without any preliminary sample preparation. The detection limits for Hg concentrations in biological samples on this device range from 0.0005 to 2.0000 mg/kg. Average metal concentrations ranged from 0.04 to 0.87 mg/kg of wet weight for fish with an average length of 2.2–45.0 cm, and differed by reservoir sections. The magnitude of effect of the fish length on the metal content in fish muscles was determined by the slope of the regression line, which indicates the rate of Hg accumulation, and the intercept of the line on the Y-axis representing the baseline level of Hg in organisms at the beginning of the food chain for each specified group. It was found that the maximum intensity of Hg accumulation is attained in the perch of up to 10 cm long and then significantly decreased in larger fishes, variably depending on the sampling area within the Rybinsk Reservoir.

*Keywords:* mercury, *Perca fluviatilis*, Rybinsk Reservoir

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОСТИСТЫХ РЫБ ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Н. С. Сизов\*, Е. А. Заботкина

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: \*sizownikita@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.09.2024

Проведена сравнительная оценка показателей клеток красной и белой крови 10 видов костистых рыб, обитающих в Горьковском водохранилище. Методом рутинной световой микроскопии на мазках периферической крови исследовали состав и соотношение эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. С помощью цифрового микроскопа определяли морфометрические характеристики эритроцитов: площадь ядра и клетки, индекс формы клетки, ядерно-цитоплазматическое отношение. Проанализировали с помощью кластерного метода сходства выявленных показателей. У всех исследованных видов рыб доля зрелых эритроцитов составила >90%. Среди клеток белой крови преобладали лимфоциты. Наиболее низкие их доли отмечены у подкаменщика и белоглазки (<70%), у других видов их доля была >80%. На межвидовые различия изученных параметров влияет видовая лабильность рыб к насыщению среды кислородом. Наиболее округлые клетки — у рыб толерантных к низкому содержанию кислорода, вытянутые — у активных пловцов, требовательных к насыщению среды кислородом.

*Ключевые слова:* костистые рыбы, Горьковское водохранилище, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-20-30

### ВВЕДЕНИЕ

Система периферической крови — одна из самых чувствительных и лабильных по отношению к изменению внутренних и внешних факторов среды, играющая важную роль в регуляции внутренней среды организма и связи его с окружающей средой. Известно, что биохимические показатели крови способны изменяться в течение нескольких минут после изменения параметров среды [Barton, 2002; Soldatov, 2021].

Кровь выполняет в организме рыб самые разнообразные функции. Основной из них, безусловно, является функция газообмена — перенос кислорода из внешней среды по системе кровеносных сосудов к клеткам всего организма и удаление из организма углекислого газа. Не менее важны иммунная (защитная), транспортная (перенос питательных веществ, гормонов) функции и т.д. [Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)]. Выполнение этих функций осуществляют определенные клетки крови: эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Они производятся в гемопоэтических органах (почке, селезенке, печени), в островках гемопоэтической ткани, расположенных в других органах (кишечнике, сердце) и вокруг крупных кровеносных сосудов [Галактионов, 2005 (Galaktionov, 2005)]. Эритроциты, как правило, в зависимости от стадии зрелости клетки, разделяют на эритробласты, незрелые и зрелые эритроциты [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983); Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)]. Среди лейкоцитов выделяют агранулоциты, к которым относят лимфоциты и моноциты, и

гранулоциты. Состав гранулоцитов различается у разных видов рыб. У некоторых видов (лососевые, камбаловые, сомы, минога *Lampetra fluviatilis* L.) регистрируют только один тип гранулоцитов — нейтрофилы, у большинства видов — два типа — нейтрофилы и эозинофилы, и у немногих видов (осетровые, карп *Cyprinus carpio* L.) — три типа гранулоцитов — нейтрофилы, эозинофилы и базофилы [Ainsworth, 1992]. Название клеткам дали реакции красителей, окрашивающих специфичные гранулы в цитоплазме. Кроме того, у нейтрофилов, как наиболее часто встречающегося и многочисленного типа клеток, также принято выделять несколько стадий зрелости клеток — миелоциты, метамиелоциты (незрелые нейтрофилы), палочко- и сегментоядерные нейтрофилы (зрелые гранулоциты) [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983); Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)].

В зависимости от изменения факторов среды — температуры, уровня кислорода в воде, ее солености, сезона, освещенности — изменяется и соотношение клеток красной и белой крови, обеспечивая наилучшую адаптацию организма к среде. Показано, что на состав клеток влияет также возраст рыб, видовая принадлежность, а также действие токсикантов различной природы [Лапирова, Заботкина, 2003 (Lapirova, Zabotkina, 2003); Заботкина, Лапирова, 2004 (Zabotkina, Lapirova, 2004); Ellis, 1977].

Эритроциты рыб, в отличие от таковых высших позвоночных, содержат ядро, что позволяет клеткам делиться уже после выхода

в сосудистое русло как путем митоза, так и амитоза [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983); Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)]. Прямое деление эритроцитов (амитоз) считают как адаптивной реакцией организма к гипоксии, позволяющей быстро увеличить количество носителей кислорода, так и патологической, отражающей негативное состояние системы кроветворения [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983); Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)].

Рыбы, обитающие в разных по характеристикам биотопах, достоверно различаются

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованы показатели крови у 10 видов рыб, относящихся к 4 отрядам: отр. Карпообразные — укляя (*Alburnus alburnus* L., 1758) (5 экз.), чехонь (*Pelecus cultratus* L.) (4 экз.), синец (*Ballerus ballerus* L.) (3 экз.), густера (*Blicca bjoerkna* L.) (3 экз.), белоглазка (*Abramis sapa* Pallas, 1814) (3 экз.); отр. Окунеобразные — речной окунь (*Perca fluviatilis* L.) (5 экз.), обыкновенный ерш (*Gymnocephalus cernus* L.) (6 экз.), берш (*Sander volgensis* Gmelin, 1788) (3 экз.); отр. Скорпенообразные — обыкновенный подкаменщик (*Gottus gobio* L.) (3 экз.); отр. Сомообразные — сом европейский (*Silurus glanis* L.) (3 экз.). Систематика и названия рыб представлены по Решетникову и Котляру [2022 (Reshetnikov, Kotlyar, 2022)].

Среди исследованных видов обитатели бентали — сом, подкаменщик, белоглазка, густера, ерш; пелагиали — укляя, чехонь, окунь, синец, берш.

Рыбу для исследования (половозрелых внешне здоровых особей) отлавливали мальковым и донным тралом в ходе экспедиций на Горьковском водохранилище в 2016–2019 гг. на научно-исследовательском судне ИБВВ РАН “Академик Топчиев”. После обездвиживания рыб путем оглушения проводили каудэктомию, каплю периферической цельной крови отбирали на предметные стекла и приготавливали из нее мазки. Далее их высушивали на воздухе при комнатной температуре, фиксировали этиловым спиртом (96°) и окрашивали по Романовскому-Гимза азур-эозином [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983)]. Окрашенные мазки просматривали под цифровым микроскопом Keyence VHX 1000 (Keyence, Япония) с объективом Z500 при увеличении  $\times 2000$ .

Для определения состава и соотношения эритроцитов подсчитывали не менее 500 кл. на каждом мазке, результат выражали в %. Все эритроциты ранжировали на 3 типа: эритробласты, незрелые и зрелые эритроциты. Долю тромбоцитов высчитывали относительно эритроцитов.

по соотношению клеток красной и белой крови [Soldatov, 2005]. Но факторы, играющие наиболее важную роль в изменении показателей крови, нуждаются в дополнительных исследованиях.

Цель работы — сравнительный анализ состава и соотношения эритроцитов и лейкоцитов периферической крови обитающих в Горьковском водохранилище 10 видов костистых рыб в зависимости от экологических факторов.

Для анализа лейкограммы на каждом мазке подсчитывали не менее 200 кл., результаты выражали в %. Выделяли следующие типы клеток: гемоцитобласты (недифференцированные предшественники лейкоцитов), агранулоциты (лимфоциты и моноциты) и гранулоциты, содержащие гранулы, представленные лизосомами и пероксисомами (миелоциты, метамиелоциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) [Иванова, 1983 (Ivanova, 1983)].

Долю каждой группы клеток определяли по формуле:

$$M = n/m \times 100\%,$$

где  $M$  — доля определенной формы клеток,  $n$  — число клеток конкретной формы,  $m$  — общее число исследованных клеток [Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004); Заботкина и др., 2015 (Zabotkina et al., 2015)].

Для анализа морфометрических характеристик эритроцитов на каждом мазке измеряли большой и малый диаметры клетки и ядра не менее чем 100 зрелых эритроцитов. Затем рассчитывали площади клетки и ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) и индекс формы клетки.

Расчет объема клетки и ядра эритроцитов осуществляли по формуле:

$$V = a \times b \times 0.785,$$

где  $a$  — большой диаметр эритроцита/ядра, мкм,  $b$  — малый диаметр эритроцита/ядра, мкм,  $V$  — объем эритроцита/ядра, мкм<sup>3</sup>;

Ядерно-цитоплазматическое отношение рассчитывали по формуле:

$$ЯЦО = V_я/V_к,$$

где  $V_я$  — объем ядра, мкм<sup>3</sup>,  $V_к$  — объем клетки, мкм<sup>3</sup>

Расчет индекса формы:

$$I_f = a/b$$

где  $a$  и  $b$  — малый и большой диаметр эритроцита/ядра, мкм.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ Mi-

Microsoft Excel 2016. Результаты выражали в виде средних значений и их ошибок ( $M \pm m$ ). Оценку статистической значимости различий при сравнении полученных данных проводили

помощью  $t$ -теста при уровне вероятности  $p=0.05$ . Для кластерного анализа по методу Уорда [Hammer, Harper, 2001] использовали программу PAST 4.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали широкий диапазон вариативности параметров эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов крови костистых рыб Горьковского водохранилища (табл. 1–4).

**Эритроциты.** *Состав эритроцитов.* При изучении состава красных клеток в периферической крови рыб было обнаружено до 1.12% эритробластов у всех видов рыб, за исключением белоглазки, густеры и берша

(табл. 1). Наибольшее их количество было выявлено у уклей. Количество незрелых эритроцитов колебалось от 1 до 8% и было наименьшим у сома и наибольшим — у берша, синца и подкаменщика. Доля зрелых эритроцитов у всех исследованных видов рыб превышала 90%. Наименьшая доля зрелых клеток обнаружена в периферической крови синца, берша и подкаменщика.

**Таблица 1.** Соотношение различных форм эритроцитов в периферической крови исследованных рыб

**Table 1.** The ratio of different forms of erythrocytes in the peripheral blood of the studied fish

Вид Species	Эритробласты, % Erythroblasts, %	Незрелые эритроциты, % Immature erythrocytes, %	Зрелые эритроциты, % Mature erythrocytes, %
Уклея / Bleak	1.12±1.01	6.44±0.67	92.44±1.64
Чехонь / Sabrefish	0.2±0.1	1.55±0.48	98.25±0.58
Синец / Bluegill	0.7±0.09	8.16±1.08	91.14±0.99
Белоглазка / Wight-eye	0	4.32±1.10	95.68±1.10
Густера / Silver bream	0	5.88±2.17	94.12±2.17
Берш / Bersh	0	8.23±2.15	91.77±2.15
Ерш / Ruff	0.67±0.83	5.77±0.27	93.57±0.71
Окунь / Perch	0.92±0.31	5.48±0.78	93.60±0.96
Сом / Catfish	0.20±0.20	0.61±0.17	99.19±0.17
Подкаменщик / Sculpin	0.40±0.20	7.87±6.22	91.73±6.42

*Цитометрические характеристики клеток.* При анализе цитометрических параметров эритроцитов было выявлено, что наибольший объем имеют эритроциты чехони, а наименьший — окуня и ерша. Относительно крупные эритроциты у синца, густеры и белоглазки (табл. 2). Наибольший размер ядер эритроцитов отмечен у чехони, наименьший — у уклей и окуня. Так как гемоглобин, необходимый для осуществления газообмена в организме, находится в цитоплазме эритроцитов, для правильной функциональной оценки клеток важно знать ядерно-цитоплазматическое отношение и индекс формы клеток (табл. 2). Наименьшим ядерно-цитоплазматическим отношением (т.е. большую часть клетки занимает цитоплазма) обладают подкаменщик, сом и укляя, наибольшим — чехонь (табл. 2). По индексу формы большинство изученных видов рыб имеют эритроциты вытянутой формы ( $I_f$  от 0.63 до 0.72), но есть и виды с более округлыми клетками, например, окунь и укляя ( $I_f = 0.84$  и 0.87 соответственно).

Анализ сходства исследованных параметров эритроцитов позволил разделить исследованные виды рыб на несколько групп:

- по объему клеток: группа 1 — сом, подкаменщик, берш; группа 2 — синец, густера, белоглазка; группа 3 — укляя; группа 4 — ерш, окунь; группа 5 — чехонь (рис. 1a);
- по объему ядра: группа 1 — укляя, ерш и окунь; группа 2 — сом, синец, подкаменщик, берш; группа 3 — белоглазка, густера; группа 4 — чехонь (рис. 1b);
- по ядерно-цитоплазматическому отношению: группа 1 — укляя, сом, подкаменщик, группа 2 — синец, берш, белоглазка; группа 3 — чехонь и густера; группы 4 и 5 — ерш и окунь (рис. 1c);
- по индексу формы: группа 1 — укляя и окунь; группа 2 — сом, ерш и берш; группа 3 — синец и подкаменщик, группа 4 — чехонь, белоглазка и густера (рис. 1d);
- по комплексу всех показателей: группа 1 — окунь, укляя, ерш; группа 2 — сом, синец, подкаменщик, берш; группа 3 — белоглазка, густера; группа 4 — чехонь (рис. 1e).

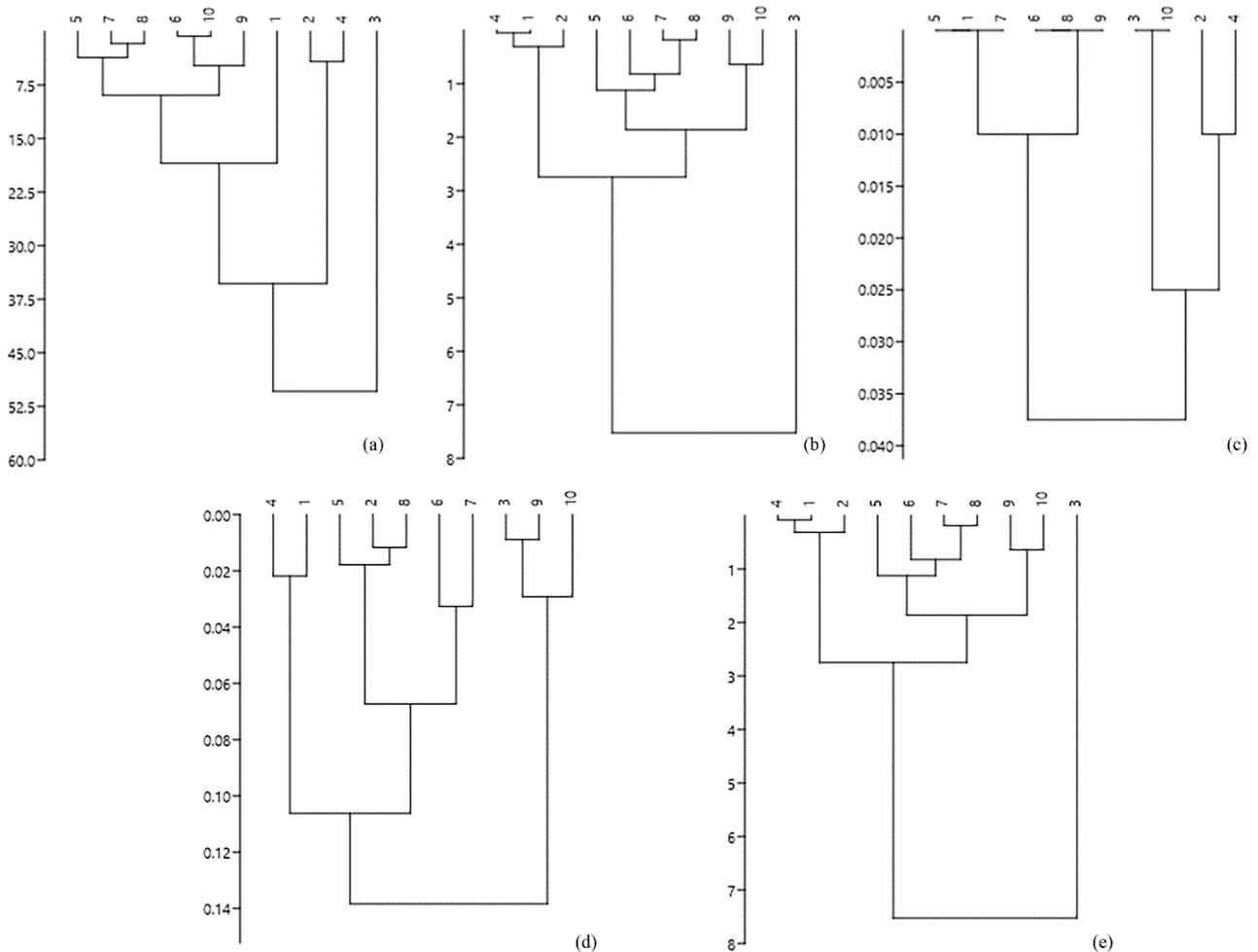
**Таблица 2.** Морфометрические параметры эритроцитов исследованных рыб

**Table 2.** Morphometric parameters of erythrocytes of the studied fish

Вид Species	Размеры эритроцита, мкм Erythrocyte size, $\mu\text{m}$		Объем эритроцита, мкм <sup>3</sup> Erythrocyte volume, $\mu\text{m}^3$	Размеры ядра эритроцита, мкм Erythrocyte nucleus size, $\mu\text{m}$		Объем ядра эритроцита, мкм <sup>3</sup> Erythrocyte nucleus volume, $\mu\text{m}^3$	Я/ц отношение Y/c ratio	Индекс формы, I <sub>ф</sub> Shape index, I <sub>f</sub>
	Длина, <i>l</i> Length, <i>l</i>	Ширина, <i>h</i> Width, <i>h</i>		Длина, <i>l</i> Length, <i>l</i>	Ширина, <i>h</i> Width, <i>h</i>			
Уклея Bleak	9.29±1.39	8.04±1.34	58.63±1.46	3.32±0.78	2.45±0.74	6.39±0.45	0.11±0.004	0.87±0.11
Чехонь Sabrefish	15.43±1.12	9.66±0.80	117.01±0.7	6.98±0.72	4.37±0.58	23.94±0.33	0.21±0.002	0.63±0.03
Синец Bluegill	12.16±0.76	8.41±0.68	80.28±0.41	4.14±0.59	2.90±0.49	9.42±0.23	0.12±0.005	0.69±0.02
Белоглазка Wight-eye	13.04±1.07	8.28±0.91	84.76±0.76	4.66±0.7	2.77±0.56	10.13±0.30	0.12±0.002	0.63±0.04
Густера Silver bream	12.40±0.96	8.18±0.69	79.62±0.52	4.37±0.42	3.14±0.46	10.77±0.15	0.14±0.005	0.66±0.06
Берш Bersh	10.95±0.99	8.49±0.57	72.98±0.44	3.97±0.55	2.79±0.44	8.69±0.19	0.12±0.005	0.78±0.06
Ерш Ruff	8.17±1.03	6.43±1.01	41.24±0.82	3.51±0.48	2.42±0.46	6.67±0.17	0.16±0.003	0.79±0.11
Окунь Perch	7.48±0.97	6.31±1.02	37.05±0.78	3.62±0.36	2.23±0.40	6.34±0.11	0.17±0.004	0.84±0.11
Сом Catfish	10.82±0.93	8.26±0.88	70.16±0.64	3.71±0.66	2.66±0.58	7.75±0.30	0.11±0.004	0.76±0.02
Подкаменщик Sculpin	11.46±1.08	8.3±0.73	74.67±0.62	3.94±0.48	2.75±0.49	8.51±0.18	0.11±0.002	0.72±0.01

**Примечание.** Здесь и далее: Я/ц отношение — ядерно-цитоплазматическое отношение; I<sub>ф</sub> — индекс формы; M±m — среднее±ошибка среднего.

**Note.** Here and below: Y/c ratio is the nuclear-cytoplasmic ratio; I<sub>f</sub> is the form index; M±m is the mean±error of the mean.



**Рис. 1.** Дендрограмма сходства видов рыб по (а) — объему эритроцитов, (б) — объему ядра, (с) — по ядерно-цитоплазматическому отношению, (д) — по индексу формы, (е) — по объединенному коэффициенту корреляции (все параметры вместе). 1 — уклея, 2 — ерш, 3 — чехонь, 4 — окунь, 5 — сом, 6 — синец, 7 — подкаменщик, 8 — берш, 9 — белоглазка, 10 — густера.

**Fig. 1.** Dendrogram of similarity of fish species by (a) — erythrocyte volume, (b) — erythrocyte nucleus volume, (c) — nuclear-cytoplasmic ratio, (d) — shape index, (e) — combined correlation coefficient. 1 — bleak, 2 — ruff, 3 — sabrefish, 4 — perch, 5 — catfish, 6 — bluegill, 7 — sculpin, 8 — bersh, 9 — white-eye, 10 — silver bream.

Показательно, что наиболее часто в одну группу попадают сом и подкаменщик, белоглазка и густера, чехонь представляет отдельную, наиболее рано отделившуюся группу. Попадание в одну группу по морфометрическим показателям клеток красной крови густеры и белоглазки кажется логичным, так как оба вида относятся к бентофагам, обитают в сходных условиях, и имеют сходные параметры насыщения крови кислородом [Zarudnova et al., 2015], в то время как сом и подкаменщик оба относятся к бентофагам, но отличаются местами обитания и требованием к кислороду в среде.

Известно, что по количеству кислорода, необходимого для нормального дыхания рыбам, их разделяют на 4 группы [Никольский, 1963 (Nikol'ski, 1963)]:

1. Рыбы, требующие очень больших концентраций растворенного кислорода, нормальные условия для них 10–15 мг/л (подкаменщик и другие обитатели быстрых, холодных рек).

2. Рыбы, требующие больших концентраций растворенного кислорода 7–10 мг/л (хариус, голавль).

3. Рыбы, требующие сравнительно небольших концентраций растворенного кислорода, благополучно живущие даже при 5.5 мг/л (плотва, окунь, ерш, белоглазка, синец и др.).

4. Рыбы, выдерживающие очень слабое насыщение воды кислородом — 0.7 мг/л (лινь, караси, сом).

Согласно этой классификации, окунь, ерш, белоглазка и густера, имеющие сходные требования к насыщению среды кислородом,

должны находиться в близких группах. Вместе с тем, гемоглобин этих рыб имеет разную способность к связыванию кислорода при снижении pH среды, что, по-видимому, играет решающую роль в способности рыб переносить по-разному изменение условий существования [Zaprudnova et al., 2015] и играет роль в том числе в морфологических особенностях эритроцитов.

По типу питания исследованные рыбы делятся на хищников (сом, чехонь, окунь, берш), бентофагов (белоглазка, подкаменщик, густера, ерш) и планктофагов (укляя, синец).

По месту обитания — на обитателей литорали (укляя, чехонь), пелагиали (синец, окунь, берш) и бентали (подкаменщик, сом, густера, белоглазка, ерш).

Отмечено, что у большинства видов рыб, толерантных к низкому насыщению воды кислородом, наблюдаются меньшие объемы клетки, а в условиях экстремальной гипоксии — обратное явление: объем эритроцитов возрастает [Андреева, 2014 (Andreeva, 2014)].

Чехонь имеет наиболее крупные и вытянутые по форме эритроциты, сильно отличающиеся по этим параметрам от других исследованных видов. Эту рыбу отличают сходные значения по устойчивости гемоглобина к кислотности среды, полунасыщению крови кислородом с такими видами как густера и лещ [Zaprudnova et al., 2015], и крупные по размеру эритроциты обеспечивают потребности в кислороде при активном движении рыб.

Флеровой Е.А. с соавторами [2020 (Flerova et al., 2020)], показано, что у окуневых рыб в заказнике “Ярославский” отмечено статистически значимое превышение уровней гематокрита и количества эритроцитов в периферической крови, а, соответственно, и объема эритроцитов, по сравнению с карповыми видами рыб. В нашем исследовании, напротив, у рыб семейства окуневых объем эритроцитов, рассчитанный по морфометрическим характеристикам клеток, оказался меньше по сравнению с таковым карповых. Это можно объяснить как различием методического подхода к вычислению объемов клеток, так и различиями условий обитания рыб в малых реках и толще Горьковского водохранилища.

Известно, что вытянутость эритроцитов у рыб свидетельствует об их возрасте, т.к. в течение жизни они имеют свойство вытягиваться [Passantino et al., 2004]. У исследованных нами видов рыб индекс формы варьировал в широких пределах (от 0.63 до 0.87), но это, вероятно, следствие отличия жизнен-

ных условий разных видов рыб, а не их возраста.

Так как гемоглобин находится в цитоплазме [Житенева и др., 2004 (Zhiteneva et al., 2004)], то имеет значение такой параметр, как ядерно-цитоплазматическое отношение. Чехонь обладает не только самыми крупными и вытянутыми эритроцитами, но они характеризуются и самым большим значением ЯЦО, т.е. крупным ядром. Такие рыбы как сом и подкаменщик, наоборот, обладают большим объемом цитоплазмы в эритроцитах относительно ядра, что может свидетельствовать об их потребностях в кислороде.

*Лейкоциты.* При изучении лейкоцитарного профиля периферической крови у исследованных рыб установлено, что клетки белой крови представлены агранулоцитами и гранулоцитами. Агранулоциты преимущественно состоят из лимфоцитов (от 67 до 98.5%) и небольшого количества моноцитов, доля которых не превышает 1.1% у всех видов, за исключением густеры, берша, подкаменщика и сома, у которых моноциты отсутствуют (табл. 3). Гранулоциты представлены зрелыми (палочкоядерные, сегментоядерные) и незрелыми (миелоциты, метамиелоциты) формами нейтрофилов. Присутствие незрелых форм клеток в крови рыб не считается патологией в отличие от высших млекопитающих [Головина и др., 2007 (Golovina et al., 2007)]. Нейтрофилы обнаружены в крови всех видов рыб, но наибольшее их количество отмечено в крови белоглазки (25.5%) и подкаменщика (14.25%) (табл. 3). Также в крови всех рыб, за исключением берша и сома, обнаружены эозинофилы, относительное количество которых не превышало 1.75% (табл. 3). Так как подкаменщик и белоглазка в нашем исследовании были выловлены на границах своих ареалов [Utzing et al., 1998; Kakareko et al., 2008], это может свидетельствовать о неблагоприятности среды обитания для них.

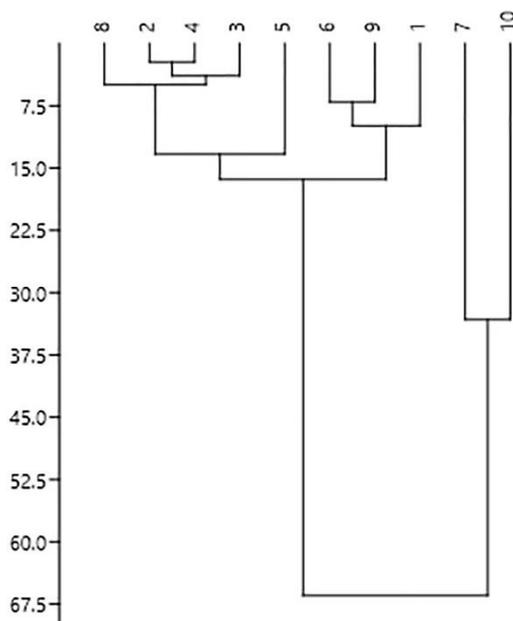
Анализ дендрограммы сходства лейкоцитарных профилей выделил несколько групп рыб: 1 — берш, ерш, окунь, чехонь; 2 — синец, густера, укляя; 3 — подкаменщик, белоглазка; 4 — сом (рис. 2).

Кластерный анализ данных по лейкоцитам показал, что рыбы разделяются на группы, которые соответствуют их потребностям в кислороде. Наиболее оксифильные представители Окунеобразных (окунь, ерш, берш) оказались в одной группе с чехонью, относящейся к Карпообразным. Остальные Карпообразные (синец, густера, укляя) вошли в другую группу, за исключением белоглазки,

которая оказалась в группе с подкаменщиком (Скорпенообразные). Сом, относящийся к бентофагам и хищникам, несмотря на относительно невысокие требования к насыщению воды кислородом, согласно кластерному анализу, находится ближе к первой группе, в которую входят окуневые и чехонь (рис. 2).

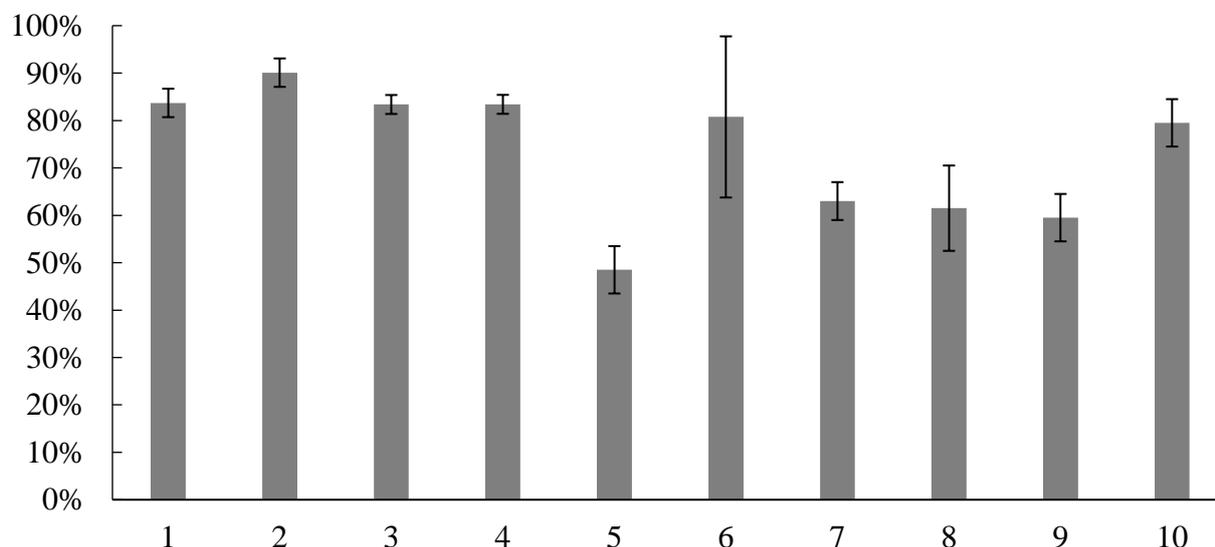
**Тромбоциты.** Доля тромбоцитов в крови исследованных рыб колебалась от 48 до 90% (рис. 3). Наименьшее количество тромбоцитов отмечено в крови сома и белоглазки, наибольшее — в крови ерша. Размах данных между видами показывает, что доля тромбоцитов систематически никак не связана. Тромбоциты играют важную роль в свертывании крови [Fischer et al., 1998], они также, вероятно, влияют на эритропоэз [Singh, Srivastava, 2010].

Установлено, что доля тромбоцитов может меняться у окуня при воздействии токсикантов различной природы или загрязнении среды [Zabotkina et al., 2009; Lapirova, Zabotkina, 2010].



**Рис. 2.** Дендрограмма сходства лейкоцитарных профилей исследованных видов рыб. 1 — уклея, 2 — ерш, 3 — чехонь, 4 — окунь, 5 — сом, 6 — синец, 7 — подкаменщик, 8 — берш, 9 — белоглазка, 10 — густера.

**Fig. 2.** Dendrogram of similarity of leukocyte profiles of the studied fish species. 1 — bleak, 2 — ruff, 3 — sabrefish, 4 — perch, 5 — catfish, 6 — bluegill, 7 — sculpin, 8 — bersh, 9 — silver bream, 10 — white-eye.



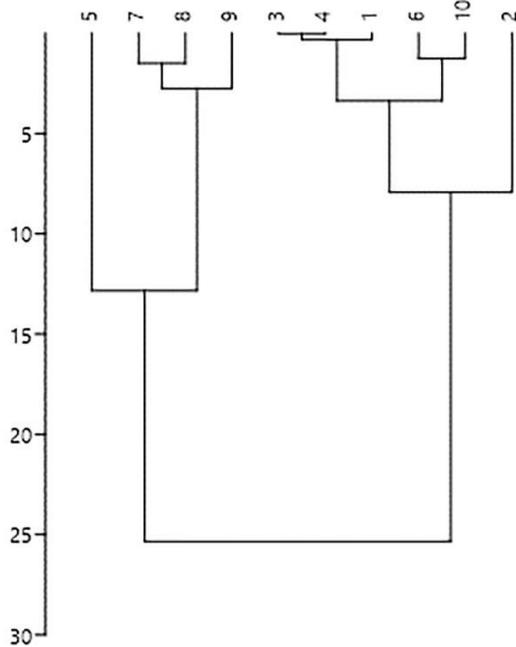
**Рис. 3.** Относительное количество тромбоцитов в периферической крови костистых рыб Горьковского водохранилища (%). 1 — уклея, 2 — ерш, 3 — чехонь, 4 — окунь, 5 — сом, 6 — синец, 7 — подкаменщик, 8 — берш, 9 — белоглазка, 10 — густера.

**Fig. 3.** Relative number of platelets in the peripheral blood of teleost fish in the Gorky Reservoir (%). 1 — bleak, 2 — ruff, 3 — sabrefish, 4 — perch, 5 — catfish, 6 — bluegill, 7 — sculpin, 8 — bersh, 9 — white-eye, 10 — silver bream.

**Таблица 3.** Состав лейкоцитов периферической крови исследованных рыб, %

**Table 3.** Composition of leukocytes in the peripheral blood of the studied fish, %

Вид Species	Лимфоциты Lymphocytes	Гемоцитобласты Hemocytoblasts	Моноциты Monocytes	Миелоциты Myelocytes	Метамиелоциты Metamyelocytes	Палочкоядерные нейтрофилы Band nuclear neutrophils	Сегментоядерные нейтрофилы Segment nuclear neutrophils	Эозинофилы Eosinophils
Уклея Bleak	87.70±2.47	1.90±0.53	1.10±0.56	2.90±0.65	3.50±0.59	2.00±0.61	0.80±0.38	0.30±0.24
Чехонь Sabrefish	92.13±1.63	0.75±0.25	0.88±0.38	1.63±0.62	0.25±0.38	2.00±0.75	0.75±0.50	1.62±1.19
Синец Bluegill	88.50±0.50	1.00	0.25±0.25	0	4.00±0.50	5.00±0.50	0	1.25±0.75
Белоглазка Wight-eye	66.05±8.32	0	0.25±0.25	2.29±0.23	5.09±0.06	26.07±8.98	0	0.25±0.25
Густера Silver bream	86.33±5.78	0	0	1.67±0.89	3.00±1.00	6.33±3.44	0.83±1.11	1.83±0.89
Берш Bersh	92.50±4.50	2.00±0.50	0	3.50±0.17	0.50±0.02	1.50±0.08	0	0
Ерш Ruff	92.59±1.24	0.83±0.22	0.92±0.28	2.00±0.50	1.17±0.67	1.08±0.44	0.58±0.28	0.83±0.33
Окунь Perch	92.70±1.04	1.50±0.20	0.90±0.32	2.40±0.32	1.10±0.68	0.80±0.24	0	0.60±0.16
Сом Catfish	98.50±4.85	0	0	0.50±0.20	0	1.00±0.05	0	0
Подкаменщик Sculpin	67.00	0.00	0.00	0.00	16.75±3.25	14.25±3.25	0.25±0.25	1.75±0.25



**Рис. 4.** Дендрограмма сходства доли тромбоцитов в периферической крови исследованных видов рыб. 1 — уклея, 2 — ерш, 3 — чехонь, 4 — окунь, 5 — сом, 6 — синец, 7 — подкаменщик, 8 — берш, 9 — белоглазка, 10 — густера.

**Fig. 4.** Dendrogram of the similarity of the proportion of platelets in the peripheral blood of the studied fish species. 1 — bleak, 2 — ruff, 3 — sabrefish, 4 — perch, 5 — catfish, 6 — bluegill, 7 — sculpin, 8 — bersh, 9 — white-eye, 10 — silver bream.

Проведенный анализ состава и соотношения клеток красной и белой крови, морфометрических показателей эритроцитов позволил установить, что образ жизни рыб, их подвижность, тип питания и потребность к насыщению среды кислородом оказывают влияние на изученные показатели. Активные хищники и пловцы имеют сходные гематологические показатели.

Установлено, что на изученные параметры эритроцитов и лейкоцитов в большей степени оказывает влияние видовая лабильность рыб к насыщенности среды кислоро-

По доле тромбоцитов в периферической крови исследованные виды рыб делятся на 5 групп: 1 — сом, 2 — подкаменщик, берш, белоглазка, 3 — чехонь, окунь, уклея, 4 — синец, густера, 5 — ерш (рис. 4). Скорее всего, попадание в сходные группы связано с двигательной активностью рыб.

В литературе немного сведений об уровнях тромбоцитов или о влиянии факторов среды на их количество [Ortiz, Esteban, 2024]. Сходные доли тромбоцитов зарегистрированы у активных и засадных хищников и донных, двигателью неактивных бентофагов (подкаменщик, берш и белоглазка). В одну группу попадают рыбы, имеющие сходные требования к насыщенности среды кислородом (чехонь и окунь). Можно предположить, что наиболее высокие доли тромбоцитов у уклеи и ерша могут быть защитным приспособлением рыб к возможным травмам. Это самые мелкие из изученных видов рыб, которые являются объектами питания для многих видов хищных рыб. Соответственно сом как наиболее крупная хищная рыба имеет значительно более низкую долю тромбоцитов по сравнению с другими видами.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наибольшие размеры и объем клеток и ядер наблюдали у активных пловцов, очень чувствительных к недостатку кислорода в среде, или видов, обитающих в условиях дефицита кислорода, т.е. увеличение размеров клеток можно считать компенсаторной реакцией. Лейкограммы исследованных видов рыб показали, что большие доли лимфоцитов оказались в крови рыб, более чувствительных к насыщенности среды кислородом, а наиболее высокие доли тромбоцитов отмечены у рыб, которые могут быть потенциальными объектами питания.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания №124032500015-7.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева А.Ю. Морфофункциональные характеристики эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях гипоксии (эксперименты in vitro). Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. С-Пб, 2014. 24 с.
- Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология. М.: ИКЦ "Академкнига", 2005. 408 с.
- Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н. и др. Ихтиопатология. М.: Мир, 2007. 448 с.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-на-Дону: "Эверест", 2004. 312 с.
- Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б. Влияние пестицидов на иммунофизиологическое состояние рыб // Успехи современной биологии. 2004. Т. 124. № 4. С. 354–361.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 80 с.

- Лапинова Т.Б., Заботкина Е.А. Влияние тяжелых металлов на иммунофизиологический статус рыб // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123. № 4. С. 401–408.
- Никольский Г.В. Экология рыб. М.: Высшая школа, 1963. 370 с.
- Решетников Ю.С., Котляр А.Н. Словарь названий рыб на шести языках. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2022. 838 с.
- Флерова Е.А., Богданова А.А., Паюта А.А. и др. Гематологические показатели рыб малых рек государственного природного заказника “Ярославский” // Труды ВНИРО. 2020. Т. 179. С. 78–89. DOI: 10.36038/2307-3497-2020-179-78-89.
- Ainsworth A.J. Fish granulocytes: Morphology, distribution, and function // *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1992. Vol. 2. P. 123–148. DOI: 10.1016/0959-8030(92)90060-b.
- Barton B.A. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids // *Integr. Comp. Biol.* 2002. Vol. 42. № 3. P. 517–525. DOI: 10.1093/icb/42.3.517.
- Ellis A.E. The leucocytes of fish: A review // *J. Fish Biol.* 1977. Vol. 11. № 5. P. 453–491. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1977.tb04140.x.
- Fischer U., Ototake M., Nakanishi T. Life span of circulating blood cells in ginbuna crucian carp (*Carassius auratus langsdorffii*) // *Fish & Shellfish Immunol.* 1998. Vol. 8. № 5. P. 339–349. DOI: 10.1006/fsim.1998.0144.
- Hammer Ø., Harper D.A.T. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontol. Electron.* 2001. Vol. 4. № 1. 14 p.
- Kakareko T., Kobak J., Terlecki J., Hadowski M. External morphology and growth rate of white-eye bream *Ballerus sapa* (Cyprinidae, Teleostei) in a lowland dam reservoir on the lower Vistula River (Wloclawek Reservoir, central Poland) // *Folia Zool.* 2008. Vol. 57. № 4. P. 435–451.
- Лапинова Т.Б., Заботкина Е.А. Comparative analysis of the indices of immunophysiological state in bream *Abramis brama* (L.) from parts of the Rybinsk Reservoir with different extents of pollution // *Inland Water Biol.* 2010. Vol. 3. P. 181–186. DOI: 10.1134/S1995082910020136.
- Ortiz M., Esteban M.Á. Biology and functions of fish thrombocytes. A review // *Fish Shellfish Immunol.* 2024. Vol. 148. e109509. DOI: 10.1016/j.fsi.2024.109509.
- Passantino L., Altamura M., Cianciotta A., Jirillo F., Ribaud M.R., Jirillo E., Passantino G.F. Maturation of fish erythrocytes coincides with changes in their morphology, enhanced ability to interact with *Candida albicans* and release of cytokine-like factors active upon autologous macrophages // *Immunopharm. Immunotox.* 2004. Vol. 26. № 4. P. 573–585. DOI: 10.1081/iph-200042323.
- Singh N.N., Srivastava A.K. Haematological parameters as bioindicators of insecticide exposure in teleosts // *Ecotoxicology.* 2010. Vol. 19. P. 838–854. DOI: 10.1007/s10646-010-0465-4.
- Soldatov A.A. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2005. Vol. 41. P. 272–281. DOI: 10.1007/s10893-005-0060-0.
- Soldatov A.A. Functional Effects of the Use of Anesthetics on Teleostean Fishes (Review) // *Inland Water Biol.* 2021. Vol. 14. № 1. P. 67–77. DOI: 10.1134/S1995082920060139.
- Utzinger J., Roth C., Peter A. Effects of environmental parameters on the distribution of bullhead *Cottus gobio* with particular consideration of the effects of obstructions // *J. Appl. Ecol.* 1998. Vol. 35. № 6. P. 882–892. DOI: 10.1111/j.1365-2664.1998.tb00006.x.
- Заботкина Е.А., Лапинова Т.Б., Назарова Е.А. Influence of cadmium ions on some morphofunctional and immunophysiological parameters of perch (*Perca fluviatilis*, Perciformes, Percidae) underyearlings // *J. Ichthyol.* 2009. Vol. 49. P. 111–118.
- Запрудникова Р.А., Камшилов И.М., Чалов Y P. Functional properties of hemoglobin during the adaptation of fish to low environmental pH // *Inland Water Biol.* 2015. Vol. 8. P. 188–194. DOI: 10.1134/S1995082915020157.

## REFERENCES

- Ainsworth A.J. Fish granulocytes: Morphology, distribution, and function. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1992, vol. 2, pp. 123–148. doi: 10.1016/0959-8030(92)90060-b.
- Andreeva A.Yu. Морфологические характеристики эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях гипоксии (экспериментально in vitro) [Morphofunctional characteristics of erythrocytes of *Scorpaena porcus* L. under hypoxic conditions (in vitro experiments)]. *Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.* Sankt-Petersburg, 2014. 24 p. (In Russian)
- Barton B.A. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.*, 2002, vol. 42, no. 3, pp. 517–525. doi: 10.1093/icb/42.3.517.
- Ellis A.E. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish Biol.*, 1977, vol. 11, no. 5, pp. 453–491. doi: 10.1111/j.1095-8649.1977.tb04140.x.
- Fischer U., Ototake M., Nakanishi T. Life span of circulating blood cells in ginbuna crucian carp (*Carassius auratus langsdorffii*). *Fish & Shellfish Immunol.*, 1998, vol. 8, no. 5, pp. 339–349. doi:10.1006/fsim.1998.0144.
- Флерова Е.А., Богданова А.А., Паюта А.А. et al. Гематологические показатели рыб малых рек государственного природного заказника “Ярославский” [Hematological indices of fish from small rivers of the state nature reserve “Yaroslavsky”]. *Труды ВНИРО*, 2020, vol. 179, pp. 78–89. doi: 10.36038/2307-3497-2020-179-78-89. (In Russian)
- Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология [Evolutionary Immunology]. Moscow: IKC “Akademkniga”, 2005. 408 p. (In Russian)

- Golovina N.A., Strelkov Yu.A., Voronin V.N. et al. Ihtiopatologiya [Ichthyopathology]. Moscow, Mir, 2007. 448 p. (In Russian)
- Hammer Ø., Harper D.A.T. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, 2001, vol. 4, no. 1. 14 p.
- Ivanova N.T. Atlas kletok krovi ryb [Atlas of Fish Blood Cells]. Moscow, Izd. Legkaya i pishchevaya promyshlennost', 1983. 80 p. (In Russian)
- Kakareko T., Kobak J., Terlecki J., Hadowski M. External morphology and growth rate of white-eye bream *Ballerus sapa* (Cyprinidae, Teleostei) in a lowland dam reservoir on the lower Vistula River (Wloclawek Reservoir, central Poland). *Folia Zool.*, 2008, vol. 57, no. 4, pp. 435–451.
- Lapirova T.B., Zobotkina E.A. Comparative analysis of the indices of immunophysiological state in bream *Abramis brama* (L.) from parts of the Rybinsk Reservoir with different extents of pollution. *Inland Water Biol.*, 2010, vol. 3, pp. 181–186. doi: 10.1134/S1995082910020136.
- Lapirova T.B., Zobotkina E.A. Vliyanie tyazhelykh metallov na immunofiziologicheskij status ryb [The influence of heavy metals on the immunophysiological status of fish]. *Usp. Sovr. Boil.*, 2003, vol. 123, no. 4, pp. 401–408. (In Russian)
- Nikol'skij G.V. Ekologiya ryb [Fish ecology]. Moscow, Izd. Vysshaya shkola, 1963 370 p. (In Russian).
- Ortiz M., Esteban M.A. Biology and functions of fish thrombocytes. A review. *Fish Shellfish Immunol.*, 2024, vol. 148, e109509. doi: 10.1016/j.fsi.2024.109509.
- Passantino L., Altamura M., Cianciotta A. et al. Maturation of fish erythrocytes coincides with changes in their morphology, enhanced ability to interact with *Candida albicans* and release of cytokine-like factors active upon autologous macrophages. *Immunopharm. Immunotox.*, 2004, vol. 26, no. 4, pp. 573–585. doi: 10.1081/iph-200042323.
- Reshetnikov Yu.S., Kotlyar A.N. Dictionary of fish names in six languages [Slovar` nazvanij ryb na shesti yazykah]. Moscow, Tovarishhestvo nauchnykh izdanij KMK, 2022. 838 p.
- Soldatov A.A. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, 2005, vol. 41, pp. 272–281. doi: 10.1007/s10893-005-0060-0.
- Singh N.N., Srivastava A.K. Haematological parameters as bioindicators of insecticide exposure in teleosts. *Ecotoxicology*, 2010, vol. 19, pp. 838–854. doi: 10.1007/s10646-010-0465-4.
- Soldatov A.A. Functional Effects of the Use of Anesthetics on Teleostean Fishes (Review). *Inland Water Biol.*, 2021, vol. 14, no. 1, pp. 67–77. doi: 10.1134/S1995082920060139.
- Uttinger J., Roth C., Peter A. Effects of environmental parameters on the distribution of bullhead *Cottus gobio* with particular consideration of the effects of obstructions. *J. Appl. Ecol.*, 1998, vol. 35, no. 6, pp. 882–892. doi: 10.1111/j.1365-2664.1998.tb00006.x.
- Zobotkina E.A., Lapirova T.B., Nazarova E.A. Influence of cadmium ions on some morphofunctional and immunophysiological parameters of perch (*Perca fluviatilis*, Perciformes, Percidae) underyearlings. *J. Ichthyol.*, 2009, vol. 49, pp. 111–118. (In Russian)
- Zobotkina E.A., Lapirova T.B. Vliyanie pesticidov na immunofiziologicheskoe sostoyanie ryb [The influence of pesticides on the immunophysiological state of fish]. *Usp. Sovr. Boil.*, 2004, vol. 124, no. 4, pp. 354–361. (In Russian)
- Zaprudnova R.A., Kamshilov I.M., Chalov Y.P. Functional properties of hemoglobin during the adaptation of fish to low environmental pH. *Inland Water Biol.*, 2015, vol. 8, pp. 188–194. doi: 10.1134/S1995082915020157.
- Zhiteneva L.D., Makarov E.V., Rudnickaya O.A. Osnovy ihtiogematologii (v sravnitel'nom aspekte) [Fundamentals of ichthyematology (in comparative aspect)] Rostov-on-Don, "Everest", 2004. 312 p. (In Russian)

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SOME INDICATORS OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF TELEOST FISHES IN GORKOVSKOE RESERVOIR

N. S. Sizov\*, E. A. Zobotkina

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

*152742 Borok, Russia, e-mail: \*sizownikita@yandex.ru*

Revised 24.09.2024

A comparative assessment of the indices of red and white blood cells of 10 species of bony fish inhabiting in the Gorky reservoir was carried out. The composition and ratio of erythrocytes, leukocytes and platelets were studied using routine light microscopy on peripheral blood smears. The morphometric characteristics of erythrocytes were studied using a digital microscope: the area of the nucleus and the cell, the cell shape index, and the nuclear-cytoplasmic ratio. An analysis of the similarity of the studied indices was carried out using the cluster analysis method.

*Keywords:* bony fish, Gorky Reservoir, erythrocytes, leukocytes, platelets

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОТВЕТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ТЕСТ-НАГРУЗКУ КАРДИОСИСТЕМЫ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ *UNIO TUMIDUS*, ОБИТАЮЩИХ В ОЗЕРАХ С РАЗНЫМ ТРОФИЧЕСКИМ СТАТУСОМ

В. А. Любимцев<sup>1,\*</sup>, С. В. Холодкевич<sup>1,2,\*\*</sup>, Б. В. Адамович<sup>3</sup>, Ю. Н. Хотянович<sup>3</sup>, Г. М. Чуйко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, 197110 Санкт-Петербург, Корпусная ул., д. 18; e-mail: \*lyubimcev55@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: \*\*kholodkevich@ibiw.ru

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, 220030 Минск, Беларусь, пр-т Независимости, 4  
Поступила в редакцию 10.10.2024

Путем измерения частоты сердечных сокращений изучена реакция кардиосистемы пресноводного двустворчатого моллюска *Unio tumidus* на гипоксическую и солевую функциональную нагрузку в зависимости от трофического статуса среды его обитания. На примере двух его популяций, обитающих в литоральной зоне олиго-мезотрофного оз. Нарочь и эвтрофного оз. Баторино (Республика Беларусь), показано, что при обоих исследованных стресс-воздействиях значения одних показателей частоты сердечных сокращений демонстрируют выраженную тенденцию к повышению, других — к понижению с увеличением степени трофности озера, а некоторые остаются без изменений. Выявленные особенности следует учитывать при использовании показателей частоты сердечных сокращений для оценки экотоксикологического состояния водных объектов.

**Ключевые слова:** кардиоактивность, метод функциональной нагрузки, двустворчатые моллюски, *Unio tumidus*, оценка экотоксикологического состояния, пресноводный объект, трофический статус.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-31-39

### ВВЕДЕНИЕ

Понятие “здоровье водной экосистемы” включает в себя одновременно устойчивость протекающих в ней биологических процессов и наличие достаточной продуктивности (интенсивности трофических процессов), соответствующей конкретной климатической зоне и гидрохимическим характеристикам воды рассматриваемого водоема. Для контроля здоровья экосистемы водного объекта традиционно используются методы биоиндикации, основанные, с одной стороны, на изучении изменений видового разнообразия и видового богатства (оценки устойчивости) [Depledge, Galloway, 2005], а с другой — изменений биомассы, численности и скорости роста ключевых видов гидробионтов (оценка продуктивности). Как правило, для каждого водоема эти характеристики имеют свои границы нормы. В условиях Северо-Запада Российской Федерации и Беларуси в большинстве пресноводных водоемов скорость трофических процессов лимитируется, в основном, температурой воды. Однако ее вариабельность в течение одного вегетационного периода (май–октябрь) и межгодовая изменчивость делает крайне сложным оценку видового разнообразия и продуктивности по небольшому количеству наблюдений, особенно для планктонных форм гидробионтов (фито- и зоопланктон). Кроме того, методами биоиндикации фиксируются изменения в экосистеме, которые произошли после

длительного периода воздействия неблагоприятного фактора или их комплекса, что снижает их ценность для ранней и оперативной диагностики состояния здоровья водного объекта. Этим ограничениям лишены методы, основанные на использовании биомаркеров морфофункционального состояния гидробионтов, регистрируемых на суборганизменном и организменном уровнях [Curtis et al., 2000; Лукьянова, 2001 (Luk'yanova, 2001); Чуйко и др., 2018 (Chuiiko et al., 2018); Холодкевич, 2022 (Kholodkevich, 2022)].

В качестве индикаторных тест-организмов для этой задачи хорошо подходят двустворчатые моллюски, например, *Unio tumidus* Philipsson, 1788 (сем. Unionidae). Этот моллюск обладает крупными размерами (длина раковины до 110 мм), отличается относительно долгой продолжительностью жизни (до 22 лет), в течение которой приурочен к одному месту локализации из-за малой подвижности, и является активным фильтратором. Так, по данным А.Ф. Алимова [1981 (Alimov, 1981)], одна взрослая особь *U. tumidus* в среднем фильтрует воду со скоростью 35.91 л/сут при фильтрационной активности 12 ч/сут. Источником пищи для моллюсков *U. tumidus* являются взвешенный в воде детрит и мелкие планктонные организмы. Вместе с водой и пищей в организм моллюска поступают загрязняющие вещества, которые интенсивно биоаккумулируются в нем.

При этом интенсивность фильтрации воды зависит от температуры, массы и размеров моллюска и снижается с повышением концентрации взвешенного вещества [Каратаев, Бурлакова, 1994 (Karataev, Burlakova, 1994)]. Все это позволяет по биомаркерам функционального состояния его организма оценивать текущее состояние экосистемы водоема или отдельных его участков.

Среди биомаркеров особого внимания заслуживает такой показатель организма моллюсков, как средняя интенсивность фильтрационной активности, регистрируемая по среднесуточным значениям частоты сердечных сокращений (ЧСС). Для повышения чувствительности ответа и информативности биомаркера его сочетают с функциональной нагрузкой на организм, в качестве которой используют кратковременное воздействие таких биологически значимых

факторов, как гипоксический или осмотический стресс, что позволяет оценивать функциональное состояние моллюсков и здоровья экосистемы на их основе [Kholodkevich et al., 2019; Холодкевич, 2022 (Kholodkevich, 2022)].

Для полноценного использования биомаркеров прежде всего необходимо знать диапазон варьирования его значений в норме и в условиях адаптации к различным природным факторам [Чуйко и др., 2018 (Chuiiko et al., 2018)]. На функциональное состояние моллюсков может влиять также и трофический статус водоема, в котором они обитают.

Цель исследования — сравнение показателей динамики параметров кардиоактивности при различной функциональной тест-нагрузке у моллюсков *Unio tumidus*, обитающих в Нарочанских озерах (Республика Беларусь) с различным трофическим статусом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моллюсков *Unio tumidus* для экспериментов отлавливали вручную в литоральной зоне озер Нарочь (54°51.144' с.ш., 26° 46.554' в.д.) и Баторино (54°50.918' с.ш., 26°57.208' в.д.), находящихся в исключительной природоохранной зоне Государственного Национального парка “Нарочанский” (Республика Беларусь) в период 12–16.07.2022 г. (рис. 1). Исходя из имеющихся данных, эти озера схожи основными гидрохимическими характеристиками и многолетним отсутствием источников техногенного загрязнения, но имеют различный трофический статус, который не изменился за последние 30 лет: оз. Нарочь — олиго-мезотрофное, оз. Баторино — эвтрофное [Каратаев и др., 1995 (Karataev et al., 1995); Бюллетень экологического..., 2021 (Byulleten' ekologicheskogo..., 2021)].

После отлова моллюсков в течение 30 мин доставляли в полиэтиленовых емкостях (50 л) в лабораторию Нарочанской биологической станции Белорусского государственного университета, расположенной непосредственно в береговой зоне оз. Нарочь. В лаборатории моллюсков извлекали из воды, измеряли стандартными методами длину, высоту и ширину ( $l$ ,  $h$  и  $b$ , мм) раковины, рассчитывали величину интегрального метрического индекса ЛНВ, который равен произведению этих метрических параметров и косвенно отражает объем раковины ( $\text{см}^3$ ), определяли возраст по числу годовых колец на раковине [Методы изучения..., 1994 (Metody izucheniya..., 1994)] и фиксировали на ней в области проекции сердца держатель волоконно-оптического зонда для регистрации кардиоактивности.

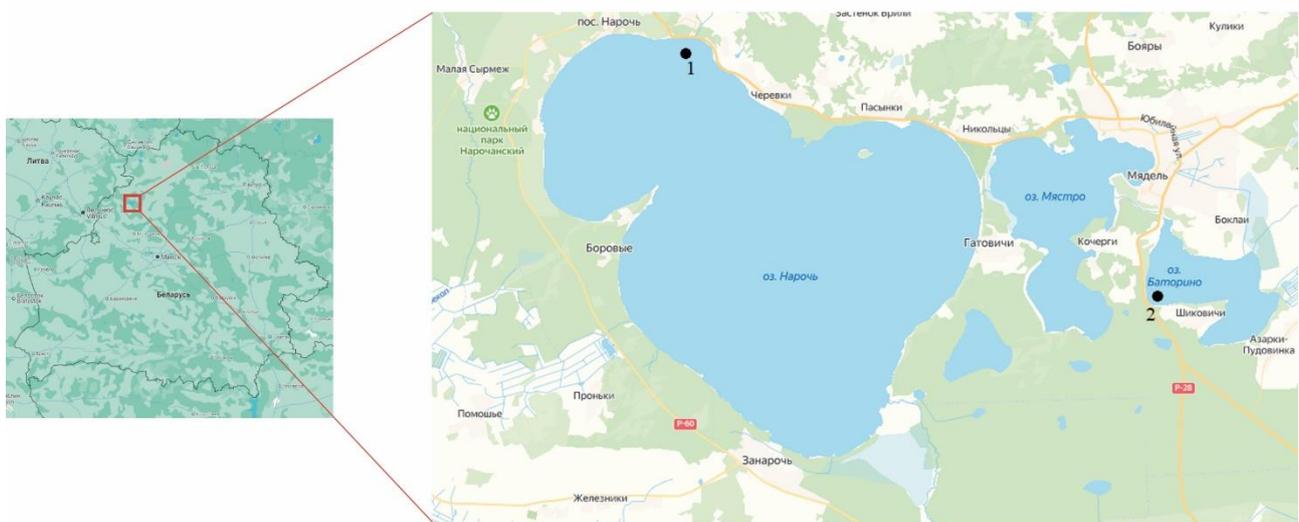


Рис. 1. Локализация исследуемых озер и места отлова моллюсков. 1 — оз. Нарочь, 2 — оз. Баторино.

Fig. 1. Localization of the studied lakes and places of catching mollusks. 1 — Lake Naroch, 2 — Lake Batorino.

Для экспериментов отбирали моллюсков возрастом 3–4 года с диапазоном варьирования по длине раковины из озер Нарочь и Баторино соответственно 42.3–60.9 и 57.2–69.9 мм. Всего

для экспериментов было отобрано из оз. Нарочь 15 экз., из оз. Баторино — 9 экз. Индивидуальные и средние значения размерных характеристик приведены в таблице 1.

**Таблица 1.** Размеры раковин двустворчатых моллюсков *Unio tumidus* из озер Нарочь и Баторино, для которых были определены значения всех параметров ЧСС

**Table 1.** The size of the shells of the bivalve mollusks *Unio tumidus* from Lake Naroch and Lake Bathorino, for which the values of all heart rate (HR) parameters were determined

№ п.п.	оз. Нарочь / Naroch Lake				оз. Баторино / Bathorino Lake			
	<i>l</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	LHB	<i>l</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	LHB
1	42.3	15.4	20.9	13.6	58.1	21.7	26.3	33.1
2	45.4	14.5	21.2	13.9	57.2	21.7	30.3	37.6
3	47.5	16.6	22.1	17.4	61.5	23.3	31	44.4*
4	43.6	17.8	24.5	19.0	66.6	23.9	28.3	45.0*
5	45.1	18.6	23.4	19.6	63.5	24.1	32.5	49.7*
6	47.1	18.4	22.7	19.7	69.9	24.3	29.7	50.4
7	48.0	17.4	25.3	21.1	69	25.7	35.2	62.4
8	48.6	18.3	25.8	22.9	67.3	29.4	32.9	65.1*
9	50.1	18.4	24.9	23.0	63.7	29.5	34.8	65.4
10	48.3	20.4	24.9	24.5	—	—	—	—
11	46	18.4	29.9	25.3	—	—	—	—
12	50.2	18.5	29.8	27.7	—	—	—	—
13	54	18.8	37.9	38.5	—	—	—	—
14	59.7	22.7	29.8	40.4	—	—	—	—
15	60.9	18	37.1	40.7	—	—	—	—
$\bar{x} \pm SD$	49.1±5.4	18.1±1.9	26.7±5.3	24.5±8.9	64.1±4.5 <sup>a</sup>	24.8±2.9	31.2±2.9	50.3±11.8 <sup>a</sup>

**Примечание.** *l* — длина, *h* — высота, *b* — ширина, мм; LHB — интегральный метрический индекс, представляющий произведение  $l \times h \times b$  и косвенно характеризующий объем раковины моллюска, см<sup>3</sup>; “\*” — значение ЧСС не определялось из-за недостаточного оптического пропускания раковины моллюска.  $\bar{x} \pm SD$  — средние значения и стандартные отклонения. <sup>a</sup> — различия между соответствующими значениями у моллюсков из разных озер статистически значимы (Student t-test,  $p \leq 0.05$ ). “—” — нет данных.

**Note.** *l* — the length, *h* — the height, *b* — the width, mm; LHB — an integral metric index representing the product of  $l \times h \times b$  and indirectly characterizing the volume of the mollusk shell, cm<sup>3</sup>; “\*” — HR value was not determined due to insufficient optical transmittance of the mollusk shell.  $\bar{x} \pm SD$  — mean values and standard deviations. <sup>a</sup> — the differences between the corresponding values in mollusks from different lakes are statistically significant (Student t-test,  $p \leq 0.05$ ). “—” — not date.

Сбор моллюсков, определение их размеров и фиксация держателей волоконно-оптического зонда проводили с технической помощью и при непосредственном участии сотрудников Лаборатории водной экологии биологического факультета Белорусского государственного университета и Нарочанской биологической станции. В лаборатории процедура подготовки моллюсков к эксперименту вне воды (манипуляционно-гипоксический стресс) занимала ~1 ч. Затем группы подготовленных таким образом моллюсков помещали по 8 экз. индивидуально в пластиковые аквариумы с 2 л воды из места их вылова при  $t=23-25^{\circ}\text{C}$  и концентрации растворенного кислорода на уровне насыщения 7.8–8.3 мг/л, поддерживаемой с помощью принудительной аэрации. Кардиоритм одновременно по 16 моллюсков измеряли с использованием систем типа БиоАргус, производимых в Санкт-Петербурге фирмой ООО НПФ “Экоконтур” [http://ecocontour.ru/]. Регистрация

ЧСС начиналась сразу после помещения моллюсков в аквариумы и проводилась с помощью двух систем типа БиоАргус, содержащих по восемь лазерных волоконно-оптических фотоплетизмографов в каждой [Холодкевич, 2022 (Kholodkevich, 2022)]. Процедура от вылова и до начала измерения ЧСС завершалась в течение 2–3 ч, в этот период моллюски не успевали полностью профильтровать всю привезенную природную воду.

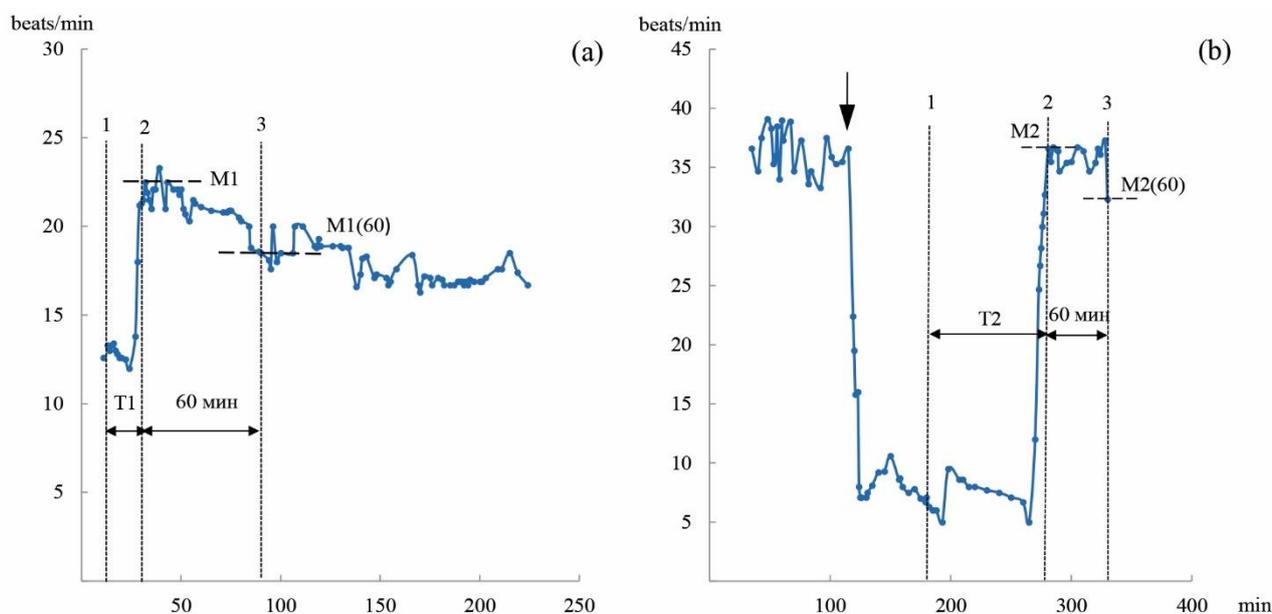
Эксперименты с функциональной нагрузкой начинали после стабилизации ЧСС, прошедшей у большинства моллюсков после их акклимации к лабораторным условиям в течение 2–12 ч. О завершении периода акклимации после нахождения моллюсков на воздухе в процессе прикрепления держателей зондов и перемещения их в экспериментальные аквариумы судили по повышению ЧСС с 5–10 до 17–30 уд/мин и стабилизации на этом уровне, когда они открывали створки, выдвигали наружу

сифоны и переходили к активной фильтрации воды и дыханию.

В качестве тест-воздействия при тестировании моллюсков было использовано кратковременное (60 мин) повышение солёности до 10 г/л (10‰) за счёт добавления небольшого объёма (0.2 л) концентрированного (100 г/л) раствора хлорида натрия. Возврат к исходной солёности также проводился без дополнительного механического стрессирования моллюсков (слив всей воды из аквариума с помощью сифона и наполнение аквариума исходной природной водой). В течение 2–12 ч от времени возвращения моллюсков в воду и до дозирования соли большинство моллюсков переходило к активной фильтрации воды, что приводило к повышению ЧСС от 5–10 до 17–30 уд/мин. В результате повышения солёности до 10‰ через 10–20 мин наблюдалось снижение ЧСС до значений 5–10 уд/мин, связанное с закрытием его створок (аналог реакции избегания у подвижных организмов, обусловленный стрессовым

воздействием), а при смене воды на исходную — такие же изменения, как и при первоначальном погружении в воду после приблизительно одночасовой экспозиции моллюсков вне воды в процессе процедуры фиксации держателей волоконно-оптических датчиков. В ходе эксперимента, кроме ЧСС, регистрировали следующие показатели, отражающие разные стороны динамики ответа кардиосистемы моллюска на различные тест-воздействия (рис. 2):

T1 — период времени от момента помещения моллюсков в воду после их нахождения вне воды, на протяжении которого у них закрыты створки раковины и ЧСС = 5–10 уд/мин, до начала быстрого (примерно за 1 мин) повышения ЧСС до 17–30 уд/мин и открытия створок; характеризует период времени, необходимый для восстановления нормальной фильтрационной активности и перехода на внешнее дыхание после нахождения моллюска на воздухе в течение 60 мин.



**Рис. 2.** Пример динамики изменения ЧСС у моллюска *Unio tumidus* из оз. Нарочь: (а) — в течение первых 3.5 ч при возврате моллюска в природную воду после проведения манипуляций вне воды; (б) — при солевой функциональной нагрузке (солевой тест). Вертикальная стрелка — начало солевого теста. Вертикальные точечные линии: 1 — момент возврата моллюска в воду после 60 мин нахождения вне воды (а) или после солевого теста (б); 2 — момент достижения максимального значения ЧСС, 3 — момент через 60 мин после достижения максимального значения ЧСС. Горизонтальная пунктирная линия: M1 и M2 — уровень среднего за 5 мин регистрации максимального значения ЧСС, M1(60) и M2(60) — уровень значения ЧСС, наблюдаемый через 60 мин после регистрации максимального значения ЧСС. T1 и T2 — время задержки стадии быстрого роста ЧСС относительно времени возвращения моллюска в природную воду после нахождения вне воды (а) и при солевом тесте (б).

**Fig. 2.** Example of the dynamics of HR changes in the mollusk *Unio tumidus* from Lake Naroch: (a) — during the first 3.5 hours when the mollusk is returned to natural water after manipulation out of water; (b) — with a salt functional load (salt test). Vertical arrow — the beginning of the salt test. Vertical dotted lines: 1 — the moment the clam returns to the water after 60 min being out of water (a) or after the salt test (b); 2 — the moment when the maximum HR value is reached, 3 — the moment 60 min after the maximum HR value is reached. Horizontal dotted line: M1 and M2 — the level of the average for 5 min of registration of the maximum HR value, M1(60) and M2(60) — the level of the HR value observed 60 min after registration of the maximum HR value. T1 and T2 are the delay time of the stage of rapid HR growth relative to the time of return of the mollusk to natural water after being out of water (a) and during the salt test (b).

M1 — среднее максимальное за 5 мин непрерывной регистрации значение ЧСС (гиперкомпенсация), достигаемое в течение 3–40 мин в результате быстрого увеличения ЧСС после его стабильно низкого уровня во время нахождения моллюска на воздухе в течение 1 ч; характеризует максимальное значение ЧСС, которое каждая особь способна показать в данных условиях при возврате в природную воду.

M1(60) — среднее за 5 мин регистрации значение ЧСС через 60 мин после достижения им величины M1. Выбор интервала времени в 60 мин, после которого начинается регистрация величин M1(60) обусловлен тем, что в течение этого периода в подавляющем большинстве случаев наблюдалось более или менее значимое монотонное снижение ЧСС.

T2 — показатель, аналогичный T1, но при возврате моллюсков в природную воду после солевой функциональной нагрузки (10% NaCl); характеризует период времени, необходимый для раскрытия створок и восстановления нормальной фильтрационной и дыхательной активности после нахождения моллюска в условиях солевой функциональной нагрузки в течение 1 ч.

M2 — показатель, аналогичный M1, но регистрируемый при возврате моллюсков в природную воду после солевой функциональной нагрузки (10% NaCl); характеризует максимальное значение ЧСС, которое каждая особь способна показать в данных условиях при возврате в природную воду.

M2(60) — показатель, аналогичный M1(60), но регистрируемый при возврате моллюсков в природную воду после солевой функциональной нагрузки.

По результатам измерений для каждого моллюска индивидуально рассчитывали значения безразмерных величин  $(M1-M1(60))/M1$  и  $(M2-M2(60))/M2$ . Эти величины характеризуют долю, на которую снижается ЧСС моллюска в течение первых 60 мин после раскрытия створок и восстановления нормальной фильтрационной и дыхательной активности после нахождения на воздухе или после солевой функциональной нагрузки, т.е. косвенно показывает, как быстро моллюск переходит в оптимальный режим расходования энергии.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты измерения кардиоактивности моллюсков показали, что ЧСС в норме равняется 17–30 уд/мин, а при экстремальных воздействиях (нахождение на воздухе во время процедуры фиксирования держателя оптоволоконного зонда, солевая функциональная нагрузка и др.) снижается до 5–10 уд/мин

Особенность регистрации ЧСС у моллюсков состоит в изменении во времени формы импульсов, вызванных периодическими изменениями интенсивности рассеянного света в различных фазах циклов сокращения сердца. Это связано с различиями взаимного положения разных тканей, расположенных в зоне сердца при различных углах раскрытия створок у двустворчатых моллюсков. При изменении угла раскрытия наблюдаются значительные изменения формы этих импульсов даже в течение нескольких минут при хорошей повторяемости формы импульсов в периоды, когда угол раскрытия створок не изменялся. Поэтому обработка сигналов с визуальным контролем повторяемости этой формы проводилась в течение последовательных 20-секундных интервалов на основе определения длительности целого количества таких повторяющихся импульсов (2–12 циклов) и вычисления среднего значения времени междарного интервала для каждого из последовательных 20-секундных интервалов. При сравнении средних значений междарного интервала для последовательных 20-секундных интервалов в периоды хорошей повторяемости формы импульсов достигалась повторяемость полученных “мгновенных” значений ЧСС ( $\pm 0.5$  уд/мин).

Поскольку выборки моллюсков из двух озер при одинаковом возрасте (3 г.) отличались по размерным характеристикам (табл. 1), это могло быть причиной возможных различий в средних значениях исследуемых показателей ЧСС. С целью проверки этой гипотезы для значений показателей ЧСС, демонстрирующих статистически значимые различия у моллюсков из двух озер, на их объединенной выборке был проведен регрессионный анализ.

Результаты эксперимента представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонения ( $\bar{x} \pm SD$ ). Статистическую значимость различий между средними оценивали методом t-критерия Стьюдента для независимых величин при  $p = 0.05$ . Для расчетов использовали программный пакет Microsoft Excel.

в связи с закрытием створок раковины (аналог реакции избегания у активных животных) независимо от озера, где они обитают. Однако анализ других характеристик выявил некоторые различия (табл. 2).

Так, для величин T1 и T2 наблюдается тенденция к повышению у моллюсков из оз. Нарочь

(олиго-мезотрофное) по сравнению с таковыми из оз. Баторино (эвтрофное). Однако эти различия для T1 не являются статистически значимыми. Вместе с тем, у моллюсков из обоих озер средние значения T1 после их нахождения на воздухе статистически значимо ниже, чем T2 после солевой функциональной нагрузки.

**Таблица 2.** Показатели ЧСС моллюсков из озер Нарочь и Баторино после их пребывания на воздухе и солевой нагрузки

**Table 2.** Heart rate indicators of mollusks from the lakes Naroch and Batorino after their exposure to air and salt load

Параметры ЧСС Heart rate parameters	оз. Нарочь Lake Naroch (n = 15)	оз. Баторино Lake Batorino (n = 5)
Нахождение вне воды (манипуляционно-гипоксический стресс) Being out of water (manipulation-hypoxic stress)		
T1	8.4±4.2	17.2±8.6
M1	25.4±1.0	21.5±1.2 <sup>a</sup>
M1(60)	26.9±1.4	21.2±1.0 <sup>a</sup>
(M1-M1(60))/M1	-0.06±0.04	0.04±0.02
Солевая функциональная нагрузка Salt functional load		
T2	99±16 <sup>b</sup>	135±22 <sup>b</sup>
M2	27.1±0.58	18.8±2.0 <sup>a</sup>
M2(60)	23.8±1.3 <sup>b</sup>	16.6±2.0 <sup>a</sup>
(M2-M2(60))/M2	0.120±0.04 <sup>b</sup>	0.142±0.10 <sup>b</sup>

**Примечание.** Представлены средние значения и стандартных отклонений ( $\bar{x} \pm SD$ ); n — число моллюсков в выборке, экз.; T1 и T2 выражены в минутах, а M1, M1(60), M2 и M2(60) — в единицах сокращения сердца в минуту (уд/мин). Различия статистически значимы (Student t-test,  $p \leq 0.05$ ) между значениями аналогичных показателей при сравнении моллюсков: <sup>a</sup> — из двух озер, <sup>b</sup> — после нахождения вне воды и солевого теста.

**Note.** The average values and standard deviations ( $\bar{x} \pm SD$ ) are presented; n is the number of mollusks in the sample, ind.; T1 and T2 are expressed in minutes, M1, M1(60), M2 and M2(60) are in units of heart contraction per minute (beats/min). The differences are statistically significant (Student t-test,  $p \leq 0.05$ ) between the values of similar indicators when comparing mollusks: <sup>a</sup> — from two lakes, <sup>b</sup> — after being out of water and test to salt exposure.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что анализ динамики кардиоактивности моллюсков после солевого функционального теста позволяет оценить степень антропогенной нагрузки в местах их обитания [Kholodkevich et al., 2019]. Вместе с тем, природные факторы неантропогенного происхождения также потенциально могут влиять на кардиоактивность моллюсков. В нашем случае антропогенное влияние на экологическое состояние исследуемых озер может быть исключено, т.к. они

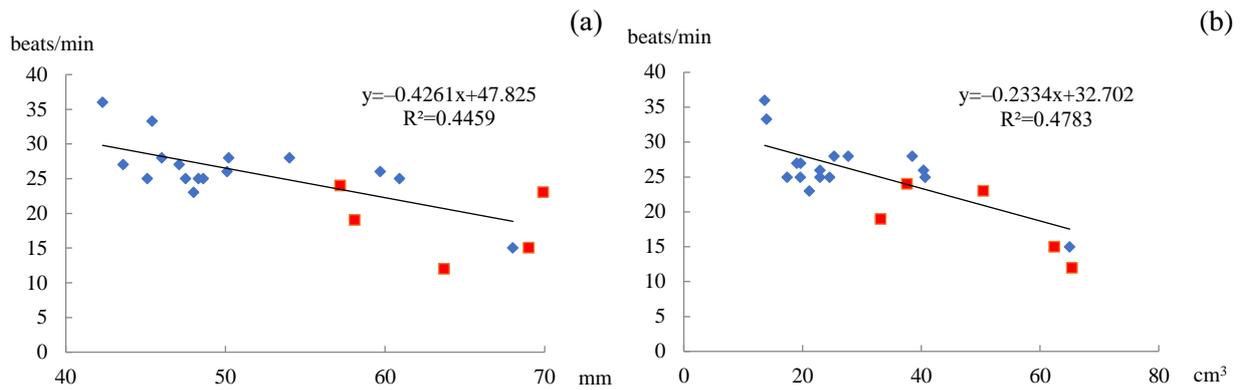
Аналогичное сравнение значений M1 (нахождение на воздухе) и M2 (солевая нагрузка) у моллюсков из обоих озер выявило, что первый показатель у них статистически значимо не различается, а второй — значимо выше у особей из оз. Нарочь (t-критерий Стьюдента = 4.23,  $p \leq 0.05$ ). Остальные показатели кардиоактивности моллюсков не имели статистически значимых различий ни между озерами, ни между разными условиями действия стресс-факторов (нахождение на воздухе, солевая нагрузка).

В то же время значения (M1-M1(60))/M1 и (M2-M2(60))/M2, показывающие как быстро моллюск переходит в оптимальный режим расходования энергии, между озерами не различались. Однако после солевого теста этот показатель у моллюсков из обоих озер был статистически значимо выше, чем после их пребывания на воздухе.

Выборки моллюсков из двух озер при одинаковом возрасте (3 г.) отличались по размерным характеристикам: в олиго-мезотрофном оз. Нарочь средние значения всех показателей были статистически значимо ниже, чем в эвтрофном оз. Баторино. Это могло быть причиной выявленных различий в средних значениях показателя M2. Для проверки этой гипотезы на объединенной выборке моллюсков из обоих озер был проведен регрессионный анализ зависимости индивидуальных значений показателя M2 от длины раковины (l) и интегрального метрического индекса ЛНВ (рис. 3).

Анализ показал, что значение параметра M2 снижается пропорционально увеличению размерных характеристик моллюсков (l, ЛНВ) независимо от озера их обитания. Эта зависимость хорошо описывается одним уравнением линейной регрессии для каждого параметра со средним значением коэффициента детерминации ( $R^2 = 0.46-0.48$ ) для моллюсков из обоих озер. Полученные результаты свидетельствуют о том, что размер моллюсков влияет на величину показателя M2.

расположены в природоохранной зоне Государственного Национального парка “Нарочанский” (Республика Беларусь), где ограничена хозяйственная деятельность и отсутствуют источники техногенного загрязнения. Поэтому содержание основных загрязняющих веществ в них не различается [Каратаев и др., 1995 (Karataev et al., 1995); Бюллетень экологического..., 2021 (Byulleten' ekologicheskogo..., 2021)].



**Рис. 3.** График зависимости показателя кардиоактивности M2 от размерных характеристик раковины моллюска *U. tumidus* из оз. Нарочь (синие ромбы) и из оз. Баторино (красные квадраты): (a) — длина раковины, мм; (b) — показатель ЛНВ ( $l \times h \times b$ ),  $\text{cm}^3$ .

**Fig. 3.** A graph of the dependence of the cardioactivity index M2 on the dimensional characteristics of the shell of the mollusk *U. tumidus* from Lake Naroch (blue diamonds) and from Lake Batorino (red squares): (a) — the length of the shell, mm; (b) — the LHV index ( $l \times h \times b$ ),  $\text{cm}^3$ .

Тем не менее, анализ полученных результатов показывает, что после обоих исследованных стресс-воздействий на моллюсков (нахождение на воздухе, солевой тест) значения показателей T1 и T2 при регистрации динамики их ЧСС демонстрируют выраженную тенденцию к повышению, а M1 и M2, M1(60) и M2(60) — к понижению с увеличением степени трофности озера, а остальные показатели не различаются. После прекращения стресс-воздействия и перемещения в исходную природную воду моллюски, обитающие в эвтрофных условиях с высокой обеспеченностью пищей (высокая концентрация одноклеточных микроводорослей, детрита и бактерий) и имеющие высокую скорость роста в связи с интенсивным питанием, могут оставаться с закрытыми створками раковин более длительный период времени (T1, T2), а уровень гиперкомпенсации (M1, M2) и последующего снижения ЧСС за 60 мин (M1(60), M2(60)) у них ниже, чем у особей из олиго-мезотрофных условий. Физиологическими причинами такой реакции моллюсков из эвтрофного оз. Баторино могут быть пониженная пищевая мотивация в связи с их большей упитанностью, что выражается в более крупных размерах особей при одинаковом возрасте

по сравнению с моллюсками из олиго-мезотрофного оз. Нарочь. Можно предположить, что моллюски, обитающие в олиго-мезотрофных условиях с пониженной обеспеченностью пищей, после любого стресс-воздействия быстрее переходят к активной фильтрации, т.к. пищевая мотивация и пищевая активность у них будет выше, что и отражается в соответствующих показателях ЧСС.

В то же время по размерным характеристикам моллюски из эвтрофного оз. Баторино были крупнее, чем из олиго-мезотрофного оз. Нарочь, что могло дополнительно снизить у них величину M2. Тенденция снижения величины ЧСС с увеличением размеров животных — общая закономерность и не только для моллюсков [Xing et al., 2019]. Однако в рамках данного исследования разделить влияние на показатели ЧСС размера моллюсков и трофического статуса озера не представляется возможным. Однако можно с большой уверенностью говорить, что первичной причиной различий в показателях ЧСС являются особенности пищевого поведения моллюсков, обусловленных разницей их физиологического состояния в озерах с разным трофическим статусом.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложенный методический подход к экспресс-оценке текущего функционального состояния (фильтрационной активности) по кардиоактивности показал, что для обитающих в идентичной климатической зоне популяций пресноводных двустворчатых моллюсков *Unio tumidus* наблюдаются различные стратегии пищевых поведенческих адаптаций, связанные с меньшей обеспеченностью пищей в олиго-мезотрофном оз. Нарочь и с большей — в эвтрофном оз. Баторино.

Наблюдаемые различия регистрируемых в ходе солевого теста значений показателя M2 ЧСС у одновозрастных моллюсков связаны с разницей их средних размеров, вызванных неодинаковой скоростью роста и упитанностью в озерах с разным трофическим статусом. Данную особенность реакции кардиосистемы моллюсков следует учитывать при ее использовании для оценки экотоксикологического состояния водных объектов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по темам № г.р. FFZF-2022-0011, 121050500046-8 и 124032500015-7.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алимов А.Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Л.: Наука, 1981. 248 с.  
 Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино / Под ред. Михеевой Т.М. Минск: БГУ, 2021. 95 с.  
 Каратаев А.Ю., Бурлакова Л.Е. Питание. Скорость фильтрации // Место вида в биоценозах. II. Дрейссена. *Dreissena polymorpha* (Pall.) (Bivalvia, Dreissenidae). Систематика, экология, практическое значение. М.: Наука, 1994. С. 132–137.  
 Каратаев А.Ю., Самойленко В.М., Бурлакова Л.Е., Карташевич З.К., Рачевский А.Н. Рекомендации по восстановлению озер, подверженных интенсивному антропогенному воздействию. Минск: БГУ, 1995. 73 с.  
 Лукьянова О.Н. Молекулярные биомаркеры: Оценка состояния морских беспозвоночных при хроническом загрязнении среды. Владивосток: Изд-во ДВГАЭУ, 2001. 192 с.  
 Методы изучения двустворчатых моллюсков // Труды Зоологического института АН СССР. 1994. Т. 219. 208 с.  
 Холодкевич С.В. Опыт скрининговых исследований здоровья экосистем морских и пресноводных акваторий на основе оперативной оценки состояния обитающих в них двустворчатых моллюсков методом функциональной нагрузки. Проблемы и перспективы развития // Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2022. Вып. 100(103). С. 97–118. DOI: 10.47021/0320-3557-2022-97-118.  
 Чуйко Г.М., Томилина И.И., Холмогорова Н.В. Комплексная оценка биологических и химических систем: учебное пособие. Ярославль: ЯрГУ, 2018. 140 с.  
 Curtis T.M., Williamson R., Depledge M.H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper // *Mar. Biol.* 2000. Vol. 136. P. 837–846.  
 Depledge M.H., Galloway T.S. Healthy animals, healthy ecosystems // *Front. Ecol. Environ.* 2005. Vol. 3(5). P. 251–258. DOI: 10.2307/3868487.  
 Kholodkevich S.V., Sharov A.N., Chuiko G.M. et al. Quality assessment of freshwater ecosystems by the functional state of bivalve mollusks // *Water Resour.* 2019. Vol. 46. № 2. P. 249–257. DOI: 10.1134/S0097807819020064.  
 Xing Q., Zhang L., Li Y. et al. Development of Novel Cardiac Indices and Assessment of Factors Affecting Cardiac Activity in a Bivalve Mollusc *Chlamys farreri* // *Front. Physiol.* 2019. Vol. 10. Art. 293. DOI: 10.3389/fphys.2019.00293.

## REFERENCES

- Alimov A.F. Funkcional'naya ekologiya presnovodnyh dvustvorchatyh mollyuskov [Functional ecology of freshwater bivalves]. Leningrad, Nauka, 1981. 248 p. (In Russian).  
 Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino [Bulletin of the ecological state of lakes Naroch, Myastro, and Batorino (ed. T.M. Miheeva)]. Minsk, BGU, 2021. 95 p. (In Russian).  
 Chuiko G.M., Tomilina I.I., Kholmogorova N.V. Comprehensive assessment of biological and chemical systems: a textbook. Yaroslavl, YaGU, 2018. 140 p. (In Russian).  
 Curtis T.M., Williamson R., Depledge M.H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper. *Mar. Biol.*, 2000, vol. 136, pp. 837–846.  
 Depledge M.H., Galloway T.S. Healthy animals, healthy ecosystems. *Front. Ecol. Environ.*, 2005, vol. 3(5), pp. 251–258. doi: 10.2307/3868487.  
 Karataev A.Yu., Burlakova L.E. Mesto vida v biocenozah. II. Drejssena. *Dreissena polymorpha* (Pall.) (Bivalvia, Dreissenidae). Sistematika, ekologiya, prakticheskoe znachenie Pitaniye. *Skorost' fil'tracii* [Filtration rate]. Moscow, Nauka, 1994, pp. 132–137. (In Russian).  
 Karataev A.Yu., Samojlenko V.M., Burlakova L.E. et al. Rekomendacii po vosstanovleniyu ozer, podverzhennyh intensivnomu antropogennomu vozdejstviyu [Recommendations for restoration of the lakes exposed to intense anthropogenic impact]. Minsk, BGU, 1995. 73 p. (In Russian).  
 Kholodkevich S.V. The experience of screening studies on the marine and freshwater ecosystem “health” based on an operational state assessment of bivalves by the method of functional load. Problems and prospects of development. *Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS*, 2022, is. 100(103), pp. 97–118. doi: 10.47021/0320-3557-2022-97-118.  
 Kholodkevich S.V., Sharov A.N., Chuiko G.M. et al. Quality assessment of freshwater ecosystems by the functional state of bivalve mollusks. *Water Resour.*, 2019, vol. 46, no. 2, pp. 249–257. doi: 10.1134/S0097807819020064.  
 Luk'yanova O.N. Molecular biomarkers: Assessment of the state of marine invertebrates in chronic environmental pollution. Vladivostok, Publishing house of DVFU, 2001. 192 p. (In Russian).  
 Metody izucheniya dvustvorchatyh mollyuskov (eds. G.L. Shkorbatova, Ya.I. Starobogatova). *Trudy Zoologicheskogo instituta AN SSSR*, 1994, vol. 219. 208 p.  
 Xing Q., Zhang L., Li Y. et al. Development of Novel Cardiac Indices and Assessment of Factors Affecting Cardiac Activity in a Bivalve Mollusc. *Chlamys farreri*. *Front. Physiol.*, 2019, vol. 10, art. 293. doi: 10.3389/fphys.2019.00293.

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE RESPONSE TO THE FUNCTIONAL TEST-LOAD OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF *UNIO TUMIDUS* BIVALVE MOLLUSKS LIVING IN LAKES WITH DIFFERENT TROPHIC STATUS**

**V. A. Lyubimtsev<sup>1,\*</sup>, S. V. Kholodkevich<sup>1,2,\*\*</sup>, B. V. Adamovich<sup>3</sup>, Yu. N. Khotyanovitch<sup>3</sup>, G. M. Chuiko<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety of the RAS,  
197110 St. Petersburg, e-mail: \*lyubimcev55@mail.ru*

<sup>2</sup>*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: \*\*kholodkevich@ibiw.ru*

<sup>3</sup>*The Belarusian State University, 220030 Minsk, Belarus*

Revised 10.10.2024

The response of the cardiac system of the freshwater bivalve *Unio tumidus* to hypoxic and salt functional loads depending on the trophic status of its habitat was studied by measuring the heart rate (HR). Using the example of two of its populations inhabiting the littoral zone of the oligo-mesotrophic Lake Naroch and the eutrophic Lake Batorino (Republic of Belarus), it was shown that under both studied stress effects, the values of some HR indicators demonstrate a pronounced tendency to increase, others to decrease with an increase in the trophic state of the lake, and some remain unchanged. The identified features should be taken into account when using HR indicators to assess the ecotoxicological state of water bodies.

*Keywords:* cardioactivity, functional load test, bivalves, *Unio tumidus*, ecotoxicological assessment, freshwater bodies, trophic status

## ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ *DREISSENA POLYMORPHA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

С. В. Сладкова<sup>1,\*</sup>, С. В. Холодкевич<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук,  
Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН,  
197110 Санкт-Петербург, Корпусная ул., д. 18, e-mail: \*sladkova\_sv1@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н

Поступила в редакцию 11.10.2024

Проведено экспериментальное изучение воздействия тяжелых металлов — кадмия ( $Cd^{2+}$ ), меди ( $Cu^{2+}$ ) и цинка ( $Zn^{2+}$ ), на интенсивность аэробного метаболизма (дыхания) двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), количественно оцениваемое по скорости потребления кислорода. Установлено, что кратковременное токсическое воздействие тяжелых металлов на функциональное состояние моллюсков приводит к снижению ими скорости потребления кислорода, а при длительном — к замыканию створок раковины и полному угнетению аэробного дыхания. Наиболее токсичным для моллюсков является  $Cd^{2+}$ , для которого показан концентрационно-зависимый эффект. Изменение скорости потребления кислорода моллюсками предлагается использовать в качестве биомаркера функционального состояния моллюсков и экотоксикологической оценки качества среды их обитания.

*Ключевые слова:* интенсивность дыхания, скорость потребления кислорода, функциональное состояние, тяжелые металлы, *Dreissena polymorpha*.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-40-46

### ВВЕДЕНИЕ

Способность изменять энергетический обмен в стрессовых условиях выработана у животных в процессе эволюции и является их важнейшей преадаптацией к изменению условий среды [Бигон и др., 1989 (Bigon et al., 1989)]. Изменение скорости аэробного метаболизма — один из наиболее общих физиологических ответов на стресс, вызванных загрязнением среды обитания, т.к. он интегрирует в себе изменения скорости обменных процессов на молекулярном уровне [Моисеенко, 2009 (Moiseenko, 2009)]. Поэтому интенсивность аэробного метаболизма гидробионтов, измеряемая по скорости дыхания (потребления кислорода) обитающих в водной экосистеме биоиндикаторных организмов, может служить интегральным показателем качества водной среды [Колупаев, 1992 (Kolupaev, 1992); Spicer, Weber, 1991; Martin et al., 2007; Yancheva et al., 2017]. Преимущество использования этого показателя, изменение которого, как правило, связано с попыткой организма избежать или компенсировать неблагоприятные воздействия, заключается в возможности обнаружения начальных эффектов влияния загрязнителей на живой организм. Подход, заключающийся в измерении потребления кислорода при максимальной физической нагрузке ( $V_{O_2max}$ ), используется для оценки функциональных возможностей кардиореспираторной системы животных и человека [Dlugosz et al., 2013; Sharov et al., 2023]. Мак-

симальная скорость потребления кислорода ( $V_{O_2max}$ ) обычно устанавливает верхний предел интенсивности работы (например, скорости передвижения), которую животное может выдерживать без усталости, и является критерием аэробной мощности. Например, для людей рекомендуется регулярно оценивать кардиореспираторную функцию, количественно измеряемую как  $V_{O_2max}$ , и использовать ее в качестве клинического показателя жизнедеятельности [Ross et al., 2016].

Находясь в условиях загрязнения среды обитания, двустворчатые моллюски демонстрируют две стратегии поведения. Одна заключается в попытке адаптироваться с помощью компенсаторных механизмов, которые требуют дополнительной энергии и, соответственно, увеличения скорости потребления кислорода. Вторая предполагает изолирование от внешней среды за счет закрытия створок и длительного нахождения в таком состоянии, что сопряжено с уменьшением скорости потребления кислорода. Выбор стратегии зависит от многих факторов, в том числе и от концентрации токсиканта в среде [Salánki et al., 2003; Molnar, Fong, 2012; Sladkova et al., 2019]. При этом обе стратегии приводят к истощению энергетических ресурсов организма, что сказывается на функциональном состоянии моллюсков. Это истощение выявляется с помощью дополнительной функциональной нагрузки, например, вынужденной физической активно-

сти, требующей повышенных затрат энергии. Для двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) в качестве такой активности можно рассматривать двигательную активность раскрывания створок и активную фильтрацию при помещении их в воду после экспозиции на воздухе. При этом экспозиция на воздухе выполняет функцию стрессового фактора и приводит к закрытию створок, а последующее помещение в чистую воду приводит к открытию створок и активной фильтрации воды, что можно рассматривать в качестве вынужденной активности.

Тяжелые металлы (ТМ) являются токсичными, не поддающимися биологическому разложению стойкими загрязнителями окружающей среды. На сегодняшний день загряз-

нение природных экосистем ТМ, особенно кадмием, остается одной из серьезных экологических проблем во всем мире [Моисеенко, 2019 (Moiseenko, 2009)]. Моллюски, в том числе двустворчатые, часто используются в качестве подходящих “биомониторов” загрязнения среды ТМ, поскольку они ведут малоподвижный образ жизни и являются активными фильтраторами [Naimo, 1995; Camusso et al., 2001; Ogunola, 2017; Klimova et al., 2020].

Цель работы — экспериментальное изучение влияния разных концентраций ТМ на функциональное состояние двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), оцениваемое по интенсивности аэробного дыхания.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моллюсков *Dreissena polymorpha* для эксперимента отлавливали в южной части Волжского плеса Рыбинского водохранилища вблизи пос. Борок (58°02.4' с.ш., 38°17.4' в.д.) в июне 2020 г. Одинакового размера моллюсков массой  $1.1 \pm 0.2$  г по 20 экз. помещали в 12 пластиковых контейнеров (20 л) с отстоянной водопроводной водой и акклимировали к лабораторным условиям в течение 7 сут в климатической комнате при температуре 17°C и режиме освещенности 12 ч света/12 ч темноты. На 8-е сут в десять контейнеров из расчета двух повторностей были добавлены соли следующих ТМ в соответствующих концентрациях, рассчитанных по иону металлу:  $\text{CdCl}_2$  — 0.1 и 0.5 мг/л,  $\text{CuCl}_2$  — 0.035 и 0.35 мг/л,  $\text{ZnCl}_2$  — 0.2 и 2 мг/л. Минимальные значения меди и цинка выбирались исходя из содержания по данным многолетних наблюдений этих металлов в сточных водах мегаполиса (на примере г. Санкт-Петербург). Кадмий использован в качестве модельного токсиканта. Контролем служили моллюски, находящиеся в двух контейнерах без добавления ТМ. В течение периода акклимации и во время проведения эксперимента моллюсков кормили суспензией одноклеточных водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer, 1890 из лабораторной культуры, добавляя раз в трое суток 1 мл суспензии плотностью  $\sim 5 \times 10^7$  кл./л. На следующий день после кормления воду с заданными концентрациями ТМ меняли на аналогичную, тем самым постоянно поддерживая расчетную концентрацию металлов в растворах.

Через 24, 72 ч и 10 сут экспозиции к ТМ и в контроле у моллюсков индивидуально определялась скорость потребления кислорода. Для этого по 6 моллюсков изымали из экс-

периментальных контейнеров и по одному размещали в пластиковые прозрачные респирометры объемом 100 мл. В течение 5 мин моллюсков выдерживали без воды для стимулирования последующей дыхательной активности, а затем респирометр заполняли аэрированной (до насыщения) отстоянной водопроводной водой без пузырьков воздуха и герметично закрывали крышкой, в которую вставлены полярографический электрод кислородомера и лопасть для механического перемешивания воды (рис. 1). Респирометры опускали в емкость с водой во избежание возможного попадания воздуха при перемешивании и измеряли концентрации растворенного в воде кислорода. Длительность нахождения моллюсков в респирометре составляла 120 мин, концентрация кислорода в респирометре в течение 30 мин измерялась каждые 5 мин, а далее — каждые 10 мин. Концентрацию кислорода измеряли портативным оксиметром HI 9142 (Hanna Instruments, Германия) с автоматической температурной компенсацией и погрешностью измерения 2.5% (рис. 1). В момент измерения воду перемешивали для равномерного распределения растворенного кислорода в респирометре в течение 2 мин. За это время показания оксиметра полностью стабилизировались. Предварительно, в качестве фона, аналогичным образом измеряли динамику концентрации кислорода в респирометре без моллюска.

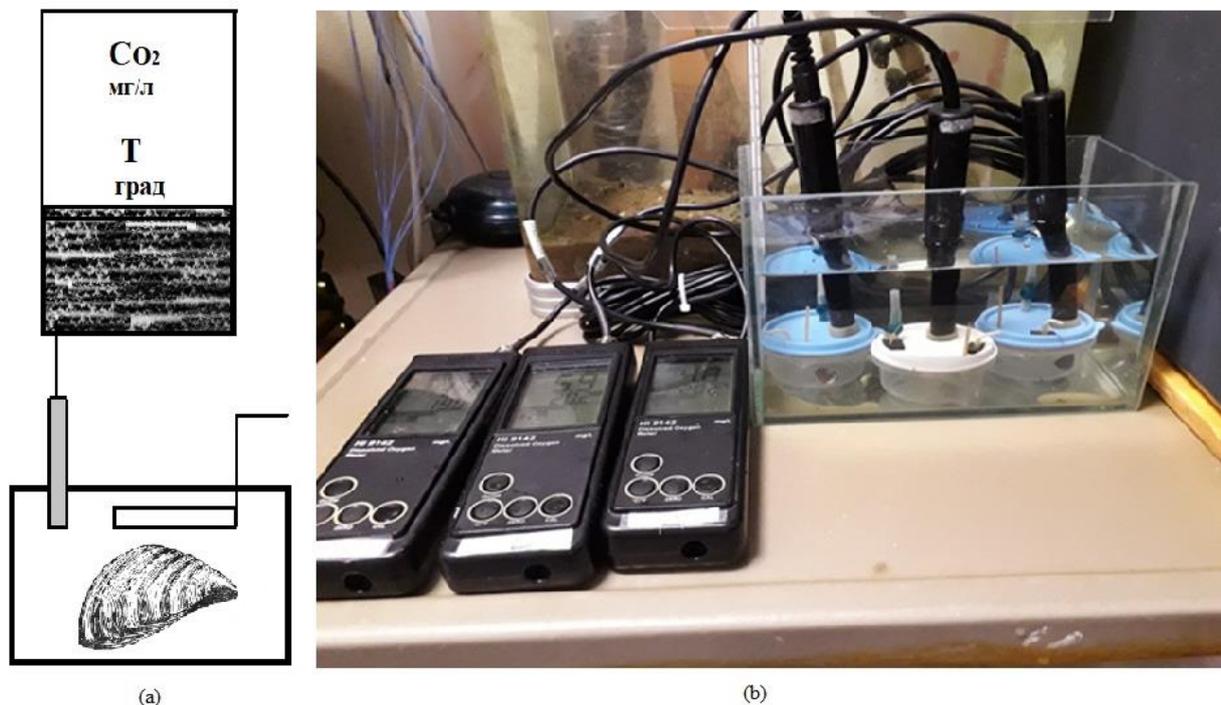
После окончания экспериментов моллюсков обсушивали на фильтровальной бумаге, а затем мгновенно умерщвляли путем помещения на несколько минут в жидкий азот. Далее мягкие ткани моллюсков извлекали из раковины и измеряли их влажную массу. Интенсивность потребления кислорода каж-

дым моллюском рассчитывалась в  $\text{мгO}_2/\text{ч}\times\text{г}$  влажной массы по формуле:

$$V_{\text{O}_2} = 60[\text{C}_{\text{O}_2}(t_1) - \text{C}_{\text{O}_2}(t_2)]V/(t_1 - t_2)W,$$

где  $V_{\text{O}_2}$  — скорость потребления кислорода ( $\text{мгO}_2/\text{ч}\times\text{г}$ ),  $t_1, t_2$  — время начала и конца интервала (мин),  $\text{C}_{\text{O}_2}(t)$  — концентрация кислорода в среде в момент времени  $t$  ( $\text{мг/л}$ ),  $V$  — объем сосуда (л),  $W$  — влажная масса (г).  $\text{C}_{\text{O}_2}(t_2)$  — корректируется на величину фона, если величина фона превышает 5%.

Все полученные данные обрабатывали статистически и представляли в виде среднего арифметического  $\pm$  стандартная ошибка ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ). Для анализа различий использовали t-критерий Стьюдента для независимых величин. За достоверные принимались различия средних значений при уровне значимости  $p \leq 0.05$ .



**Рис. 1.** Блок-схема (а) и общий вид экспериментальной установки для измерения скорости потребления кислорода одновременно у трех моллюсков (б).

**Fig. 1.** Measuring the rate of oxygen consumption in zebra mussels: block diagram of the method (a) and general view of the experimental setup for measuring respiration simultaneously in three mollusks (b).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

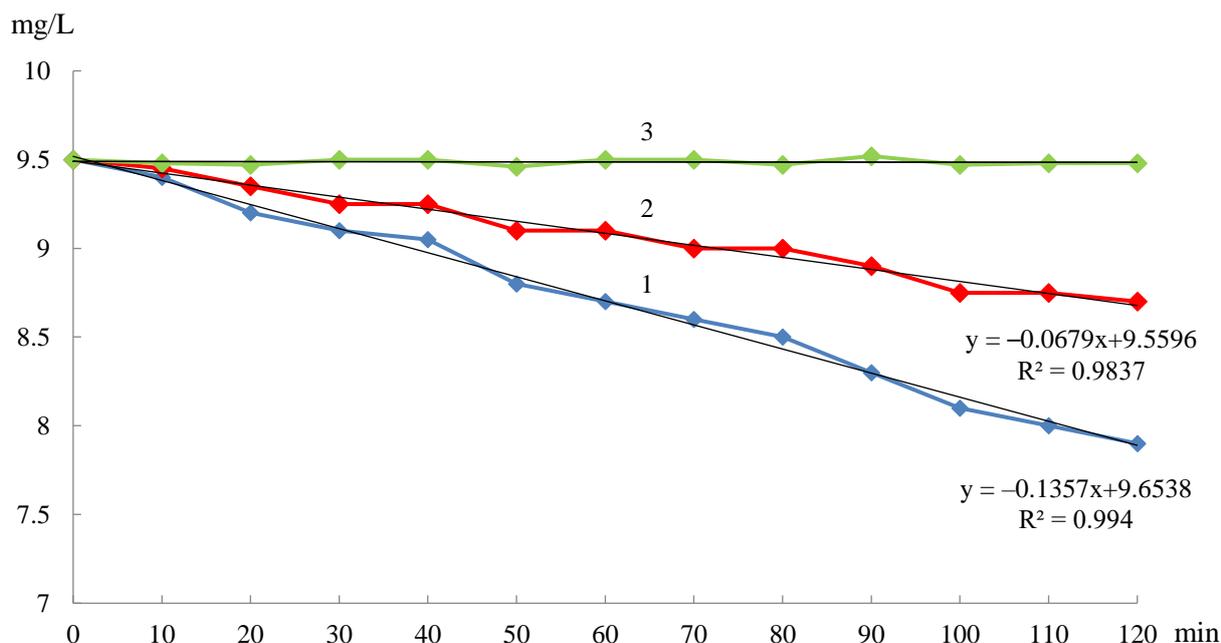
Образцы типичной динамики концентрации кислорода в респирометре с моллюсками из контроля и после экспонирования в растворах с разными концентрациями ТМ представлены на рис. 2.

Во время измерения концентрации кислорода у моллюсков из контроля створки их раковин были открыты и сифоны выдвинуты наружу. Динамика снижения концентрации кислорода в воде респирометра в течение всего времени измерения носила линейный характер, из чего следует, что скорость потребления кислорода моллюсками была стабильно равномерной. Интенсивность потребления кислорода у них равнялась  $0.413\text{--}0.448 \text{ мгO}_2/\text{ч}\times\text{г}$ , мало изменяясь в течение 10 сут эксперимента (см. таблицу).

Через 24 ч экспозиции во всех вариантах солей ТМ линейность динамики снижения концентрации кислорода в респирометре с моллюсками сохранялась, однако угол наклона ли-

нии тренда уменьшался (рис. 2). При этом интенсивность потребления ими кислорода снижалась пропорционально увеличению концентрации металла (см. таблицу). Однако статистически значимо это снижение было только в растворах кадмия, а для остальных металлов — на уровне устойчивой тенденции.

Через 72 сут экспозиции моллюсков в обеих концентрациях кадмия при их тестировании в респирометре створки раковины оставались закрытыми во время измерения, и концентрация кислорода в воде практически не изменялась (рис. 2). Потребление кислорода у них отсутствовало (см. таблицу). При экспозиции в разных концентрациях солей меди и цинка моллюски сохранили пониженный уровень потребления кислорода, сходный с тем, что они демонстрировали через 24 ч. Статистическая значимость снижения, в основном, была на уровне тенденции.



**Рис. 2.** Типичная динамика концентрации кислорода в воде респирометра: 1 (синяя линия) — с моллюском из контроля, 2 (красная линия) — с моллюском, экспонированном в растворе с солью металла (на примере моллюска №1, содержащегося 24 ч в воде с концентрацией 0.5 мг/л  $Cd^{2+}$ ), 3 (зеленая линия) — без моллюска и с моллюском с закрытыми створками при разных вариантах экспозиции к растворам солей металлов. Даны также сплошные прямые линии тренда зависимости концентрации кислорода от времени и уравнения их аппроксимации.

**Fig. 2.** Typical dynamics of oxygen concentration in a respirometer. The blue line (1) is the change in oxygen concentration in the control water with the mollusk, the red line (2) is in water containing metals (using the example of mollusk №1, kept for 24 hours in water with a concentration of 0.5 mg/L  $Cd^{2+}$ ) the green line (3) is in the control water without the mollusk and in water contaminated with metals with the mollusk with closed valves. The black lines show the trend lines.

Скорость потребления кислорода моллюсками *D. polymorpha* при экспозиции в течение 10 сут в растворах солей ТМ

Oxygen consumption rate of mollusks *D. polymorpha* during exposure for 10 days in solutions of ТМ

Вариант эксперимента Experiment option	Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	$V_{O_2}$ , мг $O_2$ /ч $\times$ Г <sub>в.в</sub>		
		24 ч	72 ч	10 сут
Контроль	0	0.45±0.11	0.44±0.09	0.41±0.02
Cd	0.1	0.35±0.12	0	0
	0.5	0.25±0.03	0	0
Cu	0.035	0.38±0.15	0.41±0.11	0
	0.35	0.22±0.11	0.29±0.12	0
Zn	0.2	0.41±0.13	0.32±0.07	0
	2	0.22±0.11	0.16±0.12	0

Через 10 сут экспонирования во всех вариантах растворов солей исследованных металлов моллюски в респирометре оставались с закрытыми створками раковин в течение все-

го времени тестирования, концентрации кислорода практически не изменялась (рис. 2). Потребление кислорода у них отсутствовало (см. таблицу).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что экспонированные в растворах ТМ моллюски на фоне функциональной нагрузки, связанной с их извлечением из воды и нахождением в течении 5 мин на воздухе, демонстрируют биологический ответ, проявляющийся в снижении интенсивности их дыхания в чистой

воде. Проявление этого эффекта зависит от концентрации и длительности экспозиции в растворах ТМ, но концентрационно-зависимый эффект наблюдается только при воздействии  $Cd^{2+}$ .

В целом можно сделать вывод, что острое (до 72 ч), а особенно длительное

(10 сут) воздействие ТМ может приводить к ухудшению функционального состояния моллюсков, что проявляется в снижении интенсивности их аэробного дыхания вплоть до полного его прекращения и невозможности оценить его при полном смыкании створок раковины. Полное смыкание створок у моллюсков связано не с физиологическими реакциями адаптации или защитной поведенческой реакцией. Вероятно, это является результатом токсического воздействия металлов на молекулярном уровне, вызывающим нарушения систем регуляции и угнетение аэробного метаболизма, поскольку дальнейшее пребывание в растворах металлов привело к гибели моллюсков. В работе [Salánki, 1992] показано, что ТМ ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) влияют на проницаемость различных ионных каналов, приводя к выраженному изменению активности аддуктора приводящих мышц, которые поддерживают фильтрующую активность, закрывая и открывая раковины. Анализ всех полученных нами результатов позволяет сказать, что кадмий наиболее токсичен для двустворчатых моллюсков, что согласуется с литературными данными. Показано, что пороговая концентрация, приводящая к полному смыканию створок у перловицы обыкновенной *Unio pictorum* в течение 2 ч, составляет для кадмия и меди 1.8 и 68 мг/л соответственно [Попов и др., 2011 (Pоров et al., 2011)]. Возможно, это объясняется тем, что атомный радиус кадмия

практически полностью совпадает с ионным радиусом двухвалентного кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ), поэтому кадмий, “маскируясь” под кальций (важнейший регулятор многих внутриклеточных процессов) осуществляет свое блокирующее воздействие на кальциевые потоки в нейронах и мышцах моллюсков [Kits, Mansvelde, 1996]. Кроме того, во многих работах показано, что ТМ оказывают ингибирующее влияние на отдельные группы участвующих в транспорте кислорода ферментов, приводящее к глубокой перестройке метаболизма в целом [Naimo, 1995; Love et al., 1995; Molnar, Fong, 2012]. Катион  $\text{Cd}^{2+}$  может воздействовать на дыхательную систему на всех уровнях организации, включая само клеточное дыхание [Spicer, Weber, 1991]. Под воздействием  $\text{Cd}^{2+}$  в схожих концентрациях 0.1 и 1.0 мг/л выявлялись нарушения энергетического обмена у моллюсков, в том числе ингибирование активности цитохромоксидазы [Mizrahi, Achituv, 1989; Neuberger-Cywiak et al., 2005].

Отсутствие дозозависимого эффекта скорости потребления кислорода при воздействии  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  подтверждает гипотезу, что в сублетальных концентрациях эссенциальные металлы действуют на дыхательную систему преимущественно за счет нарушения функции жабр. Это нарушение приводит к развитию внутренней гипоксии, однако репарация может быть осуществлена даже при “высоких” сублетальных концентрациях.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что ТМ оказывают угнетающее воздействие на функциональное состояние моллюсков *D. polymorpha*, которое можно выявлять по изменению интенсивности аэробного метаболизма, количественно определяемому по интенсивности потребления кислорода при активной фильтрации. Токсическое воздействие ТМ (кадмия, меди, цинка) на

функциональное состояние моллюсков, оцениваемое по интенсивности аэробного энергообмена, зависит от конкретного металла и его концентрации, а также от длительности воздействия. Показатель снижения скорости потребления кислорода моллюсками можно использовать в качестве биомаркера для оценки токсичности среды.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122041100085-8) “Научные основы оценки здоровья экосистем Северо-Запада России и предупреждения угроз экологической безопасности”, а также в рамках плановой темы № 121050500046-8 при частичной поддержке приоритетного проекта “Оздоровление Волги” по теме № АААА-А18-118052590015-9.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бигон М., Хартер Дж., Таунсенд Дж. Экология: Особи, популяции и сообщества. М.: Мир, 1989. Т. 1. 667 с.  
 Колупаев Б.И. Дыхание гидробионтов в токсичной среде. Казань: КГУ, 1992. 127 с.  
 Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.  
 Моисеенко Т.И. Биодоступность и экотоксичность металлов в водных системах: критические уровни загрязнения // Геохимия. 2019. Т. 64. № 7. С. 675–688. DOI: 10.1134/S0016702919070085.  
 Попов А.Н., Фоминых А.С., Ушакова О.С. и др. Определение чувствительности моллюсков, инсталлированных в системе оперативного мониторинга токсичности воды “Simbio” к воздействию загрязняющих веществ.

- Сообщение 1. Ионы тяжелых и цветных металлов в интервале концентраций 0–20 ПДК для культурно-бытовых водных объектов // Водное хозяйство России. 2011. № 2. С. 72–82.
- Camusso M., Balestrini R., Binelli A. Use of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) to assess trace metal contamination in the largest Italian subalpine lakes // *Chemosphere*. 2001. Vol. 44. P. 263–270.
- Dlugosz E.M., Chappell M.A., Meek T.H. et al. Phylogenetic analysis of mammalian maximal oxygen consumption during exercise // *J. Exp. Biol.* 2013. Vol. 216, № 24. P. 4712–4721. DOI: 10.1242/jeb.088914.
- Kits K.S., Mansvelder H.D. Voltage gated calcium channels in molluscs: classification, Ca<sup>2+</sup> dependent inactivation, modulation and functional roles // *Invert. Neurosci.* 1996. Vol. 2. P. 241–250.
- Klimova Ya.S., Chuiko G.M., Pesnya D.S., Ivanova E.S. Biomarkers of Oxidative Stress in Freshwater Bivalve Mollusks (Review) // *Inland Water Biology*. 2020. Vol. 13. № 4. P. 681–690. DOI: 10.1134/S1995082920060073.
- Lowe D.M., Fossato V.U., Depledge M.H. Contaminant induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1995. Vol. 129. P. 189–196.
- Martin J.S., Saker M.L., Teles L.F., Vasconcelos V.M. Oxygen consumption by *Daphnia magna* Strauss as a marker of chemical stress in the aquatic environment // *Environ. Toxicol. Chem.* 2007. Vol. 26. № 9. P. 1987–1991.
- Mizrahi L., Achituv Y. Effect of heavy metals ions on enzyme activity in the mediterranean mussel, *Donax trunculus* // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1989. Vol. 42. P. 854–859.
- Molnar N., Fong P.P. Toxic effects of copper, cadmium, and methoxychlor shown by neutral red retention assay in two species of freshwater mollusks // *Open Environ. Pollut. Toxicol. J.* 2012. Vol. 3. P. 65–71.
- Naimo T.J. A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels // *Ecotoxicology*. 1995. Vol. 4. P. 341–362.
- Neuberger-Cywiak L., Achituv Y., Garcia E.V. Sublethal Effects of Zn<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> on Respiration Rate, Ammonia Excretion, and O:N Ratio of *Donax trunculus* (Bivalvia; Donacidae) // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2005. Vol. 75. P. 505–514.
- Ogunola O.S. Physiological, Immunological, Genotoxic and Histopathological Biomarker Responses of Molluscs to Heavy Metal and Water-Quality Parameter Exposures: A Critical Review // *J. Oceanogr. Mar. Res.* 2017. Vol. 5. P. 158. DOI: 10.4172/2572-3103.1000158.
- Ross R., Blair S. N., Ross A. et al. Importance of assessing cardiorespiratory fitness in clinical practice: A case for fitness as a clinical vital sign: a scientific statement from the American Heart Association // *Circulation*. 2016. Vol. 134. P. e653–e699. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000461.
- Salánki J. Heavy metal induced behaviour modulation in mussels: possible neural correlates // *Acta Biol. Hungarica*. 1992. № 43. P. 375–386.
- Salánki J., Farkas A., Kamardina T., Rózsa K. S. Molluscs in biological monitoring of water quality // *Toxicol. Lett.* 2003. Vol. 140–141. P. 403–410.
- Sharov A.N., Sladkova S.V., Kamardin N.N. et al. Cadmium in the Eastern Gulf of Finland: Concentrations and Effects on the Mollusk *Limecola balthica* // *Geochemistry Int.* 2022. Vol. 60. № 7. P. 702–710. DOI: 10.1134/S0016702922060076.
- Sladkova S.V., Kamardin N.N., Sharov A.N. The effect of Cd on the respiratory activity of *Limecola balthica* (Linnaeus, 1758) of the Koporye Bay of the Gulf of Finland. 2019. <http://www.gulfoffinland.fi/>
- Spicer J.I., Weber R.E. Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals // *Comp. Biochem. Physiol. C.* 1991. Vol. 100. № 3. P. 339–342.
- Yancheva V., Mollov I., Velcheva I. et al. Lysosomal membrane stability and respiration rate in zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) as biomarkers for ex situ heavy metal exposure // *Period. Biol.* 2017. Vol. 119. № 4. P. 229–237. DOI: 10.18054/pb.v119i4.4715.

## REFERENCES

- Bigon M., Harter J., Townsend J. Ecology: Individuals, Populations and Communities. Moscow, Mir, 1989, vol. 1. 667 p. (In Russia)
- Camusso M., Balestrini R., Binelli A. Use of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) to assess trace metal contamination in the largest Italian subalpine lakes. *Chemosphere*, 2001, vol. 44, pp. 263–270.
- Dlugosz E.M., Chappell M.A., Meek T.H. et al. Phylogenetic analysis of mammalian maximal oxygen consumption during exercise. *J. Exp. Biol.*, 2013, vol. 216, no. 24, pp. 4712–4721. doi: 10.1242/jeb.088914.
- Kits K.S., Mansvelder H.D. Voltage gated calcium channels in molluscs: classification, Ca<sup>2+</sup> dependent inactivation, modulation and functional roles. *Invert. Neurosci.*, 1996, vol. 2, pp. 241–250.
- Klimova Ya.S., Chuiko G.M., Pesnya D.S., Ivanova E.S. Biomarkers of Oxidative Stress in Freshwater Bivalve Mollusks (Review). *Inland Water Biol.*, 2020, vol. 13, no. 4, pp. 681–690. doi: 10.1134/S1995082920060073.
- Kolupaev B.I. Respiration of hydrobionts in a toxic environment. Kazan, KSU, 1992. 127 p. (In Russia)
- Lowe D.M., Fossato V.U., Depledge M.H. Contaminant induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1995, vol. 129, pp. 189–196.
- Martin J.S., Saker M.L., Teles L.F., Vasconcelos V.M. Oxygen consumption by *Daphnia magna* Strauss as a marker of chemical stress in the aquatic environment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2007, vol. 26, no. 9, pp. 1987–1991.
- Mizrahi L., Achituv Y. Effect of heavy metals ions on enzyme activity in the mediterranean mussel, *Donax trunculus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1989, vol. 42, pp. 854–859.
- Moiseenko T.I. Aquatic ecotoxicology. Theoretical and applied aspects. Moscow, Nauka, 2009. 400 p. (In Russia)

- Moiseenko T.I. Bioavailability and ecotoxicity of metals in aquatic systems: critical pollution levels. *Geochemistry Int.*, 2019, vol. 64, no. 7, pp. 675–688. doi: 10.1134/S0016702919070085.
- Molnar N., Fong P.P. Toxic effects of copper, cadmium, and methoxychlor shown by neutral red retention assay in two species of freshwater mollusks. *Open Environ. Pollut. Toxicol. J.*, 2012, vol. 3, pp. 65–71.
- Naimo T.J. A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology*, 1995, vol. 4, pp. 341–362.
- Neuberger-Cywiak L., Achituv Y., Garcia E.V. Sublethal Effects of Zn<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> on Respiration Rate. Ammonia Excretion. and O:N Ratio of *Donax trunculus* (Bivalvia; Donacidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2005, vol. 75, pp. 505–514.
- Ogunola O.S. Physiological, Immunological, Genotoxic and Histopathological Biomarker Responses of Molluscs to Heavy Metal and Water-Quality Parameter Exposures: A Critical Review. *J. Oceanogr. Mar. Res.*, 2017, vol. 5, p. 158. doi: 10.4172/2572-3103.1000158.
- Popov A.N., Fominykh A.S., Ushakova O.S. et al. Determination of sensitivity of mollusks installed in the operational water toxicity monitoring system “Symbio” to the effects of pollutants. Message 1. Ions of heavy and non-ferrous metals in the concentration range of 0–20 MAC for cultural and domestic water bodies. *Water management of Russia*, 2011, no. 2, pp. 72–82. (In Russia)
- Ross R., Blair S.N., Ross A. et al. Importance of assessing cardiorespiratory fitness in clinical practice: A case for fitness as a clinical vital sign: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 2016, vol. 134, pp. e653–e699. doi: 10.1161/CIR.0000000000000461.
- Salánki J. Heavy metal induced behaviour modulation in mussels: possible neural correlates. *Acta Biol. Hungarica*, 1992, no. 43, pp. 375–386.
- Salánki J., Farkas A., Kamardina T., Rózsa K.S. Molluscs in biological monitoring of water quality *Toxicol. Let.*, 2003, vol. 140–141, pp. 403–410.
- Sharov A.N., Sladkova S.V., Kamardin N.N. et al. Cadmium in the Eastern Gulf of Finland: Concentrations and Effects on the Mollusk *Limecola balthica*. *Geochemistry Int.*, 2022, vol. 60, no. 7, pp. 702–710. doi: 10.1134/S0016702922060076.
- Sladkova S.V., Kamardin N.N., Sharov A.N. The effect of Cd on the respiratory activity of *Limecola balthica* (Linnaeus, 1758) of the Koporye Bay of the Gulf of Finland. 2019. <http://www.gulfoffinland.fi/>
- Spicer J.I., Weber R.E. Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 1991, vol. 100, no. 3, pp. 339–342.
- Yancheva V., Mollov I., Velcheva I. et al. Lysosomal membrane stability and respiration rate in zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771) as biomarkers for ex situ heavy metal exposure. *Period. Biol.*, 2017, vol. 119, no. 4, pp. 229–237. doi: 10.18054/pb.v119i4.4715.

## RESPIRATORY INTENSITY AS AN INDICATOR OF THE FUNCTIONAL STATE OF BIVALVE MOLLUSKS *DREISSENA POLYMORPHA* UNDER THE IMPACT OF HEAVY METALS

S. V. Sladkova<sup>1,\*</sup>, S. V. Kholodkevich<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety of the RAS, 197110 St. Petersburg, Russia, e-mail: \*sladkova\_sv1@mail.ru

<sup>2</sup>Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, 152742 Borok, Russia

Revised 11.10.2024

An experimental study of the effect of heavy metals cadmium (Cd<sup>2+</sup>), copper (Cu<sup>2+</sup>) and zinc (Zn<sup>2+</sup>) on the physiological state of the bivalve mollusks *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) was conducted. assessed by the intensity of aerobic metabolism (respiration). determined quantitatively by the rate of oxygen consumption. It was found that short-term toxic effects of heavy metals on the functional state of mollusks lead to a decrease in the rate of oxygen consumption. and with a long-term effect — to closure of the shell and complete inhibition of aerobic respiration. The most toxic for mollusks is Cd<sup>2+</sup> for which a dose-dependent effect has been shown. The indicator of a decrease in the rate of oxygen consumption by mollusks is used in the work as a biomarker for assessing the toxicity of the environment.

**Keywords:** respiratory rate, oxygen consumption rate, functional state, heavy metals, *Dreissena polymorpha*

## ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ *HYALELLA AZTECA* НА ДЕЙСТВИЕ ЛАНТАНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Р. А. Ложкина<sup>1,\*</sup>, М. А. Сысолятина<sup>2</sup>, И. И. Томилина<sup>1</sup>, А. С. Олькова<sup>2,\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: \*lozhkina.roza@yandex.ru

<sup>2</sup>Вятский государственный университет,

610000 г. Киров, ул. Московская, д. 36, e-mail: \*\*morgan-abend@mail.ru

Поступила в редакцию 12.09.2024

Изучены ответные реакции лабораторной культуры *Hyaella azteca* на действие растворов сульфата лантана в диапазоне концентраций 0.16–160 мкмоль/л в условиях хронического эксперимента. Показано, что смертность *H. azteca* возрастала при увеличении концентрации  $\text{La}^{3+}$  в растворе. Последовательное повышение концентраций  $\text{La}^{3+}$  приводило к закономерному увеличению потребления пищи. К наиболее информативной тест-функции при оценке токсичности  $\text{La}^{3+}$  можно отнести длину и массу *H. azteca*, не информативным — длину и количество члеников антенн.

**Ключевые слова:** лантан, биотестирование, выживаемость, рост, пищевое поведение, *Hyaella azteca*, хроническая токсичность.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-47-57

### ВВЕДЕНИЕ

Редкоземельные элементы (РЗЭ) — семейство из 17 химических элементов III группы короткой формы периодической системы. По химическим свойствам и совместному нахождению в природе делятся на иттриевую (Y, La, Gd–Lu) и цериевую (Ce–Eu) подгруппы, по атомной массе — на легкие (La–Eu) и тяжелые (Gd–Lu) лантаноиды. Лантан — серебристо-белый мягкий металл, имеет атомную массу 138.9 а.е.м., ионный радиус 1.061 пм, активно реагирует с кислородом и влагой, образуя оксидную пленку на своей поверхности [Henderson, 2013]. Кларк составляет 35 мг/кг, то есть по сравнению со многими тяжелыми металлами и другими РЗЭ лантан является достаточно распространенным элементом в земной коре [Кабата-Пендиас, 1989 (Kabata-Pendias, 1989)]. Встречается в основном в составе комплексных минералов — в монаците и бастнезите, в которых лантану принадлежит 25% и 38% минералов соответственно [Gupta, Krishnamurthy, 1992].

Активное использование РЗЭ с середины XX века, в том числе лантана, привело к широкомасштабным поискам и разработке соответствующих полезных ископаемых во всем мире. Благодаря уникальным физико-химическим свойствам РЗЭ используются в автомобильных каталитических преобразователях, керамике, жидком каталитическом крекинге, присадках к стеклу и средствах для их полировки, сплавах для аккумуляторов, люминофорах. Физико-химические свойства лантана нашли применение во многих областях: производство никель-металлогидридных аккумуляторов, высокопрочных и проводящих медных сплавов, потенциометрических датчиков газообразного хлора,

высокотемпературных лантано-циркониевых покрытий, катализаторов крекинга нефти, электронно-плотных индикаторов в молекулярной биологии, а карбонат лантана даже предложен в качестве лекарственного средства [Zhi et al., 2020]. Таким образом, потребности современных производств привели к интенсификации добычи РЗЭ и их мировому обороту, который, по оценкам экспертов, будет только увеличиваться в ближайшие десятилетия [Vlinoва et al., 2018; Figueiredo et al., 2022].

Добыча и применение РЗЭ неизбежно приводит к их значительным выбросам в окружающую среду и создает угрозы для водных экосистем. В природных водах из районов добычи РЗЭ их концентрации были обнаружены на уровне наномоль и миллимоль [Liu et al., 2019; Wang et al., 2022]. Несмотря на то, что за последнее десятилетие знания в области экотоксикологии РЗЭ значительно расширились, сохраняется неопределенность в отношении их реальной опасности и риска для пресноводных водоемов. В России до сих пор не установлены нормативы безопасного содержания большинства РЗЭ в компонентах окружающей среды. Предельно-допустимые концентрации для питьевой воды установлены для Eu (0.3 мг/л) и Sm (0.024 мг/л) [СанПиН 2.1.4.1074-01, 2010 (SanPiN 2.1.4.1074-01, 2010)], рекомендован норматив La для пресной воды (0.01 мг/л) [Рыбальский, 1989 (Rybal'skiy, 1989)].

Имеется лишь ограниченная информация о фактической взаимосвязи между отдельными РЗЭ и экотоксикологическими реакциями в стандартных лабораторных тестах и существовании регулярных и предсказуемых

закономерностей токсичности в ряду РЗЭ (выражаемой, например,  $LC_{50}$ ). В связи с вышеизложенным соединения лантана можно отнести к веществам, которые требуют детального изучения их экотоксикологических свойств.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали лантан сернокислый 8-водный  $La_2(SO_4)_3 \cdot 8H_2O$ . Исследуемые концентрации в диапазоне 0.16–160 мкмоль/л (эквивалент 0.0006–0.6 мг/л) получали путем последовательного разведения насыщенного раствора  $La_2(SO_4)_3 \cdot 8H_2O$  с концентрацией 160 мкмоль/л отстоянной водопроводной водой (рН 7.0–7.5, общая жесткость 4.0–4.5 мМэкв/л  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ ). Эта же вода использовалась в качестве контроля. Растворимость лантана в воде — 2.33 г/100 см<sup>3</sup> при 20°C<sup>1</sup>. При выборе диапазона концентраций ориентировались на опубликованные данные о влиянии сульфата лантана на выживаемость, продолжительность жизни, рост, развитие, плодовитость ветвистоусых рачков [Ложкина, Томилина, 2016 (Lozhkina, Tomilina, 2016); Сысолятина, Олькова, 2022 (Sysolyatina, Ol'kova, 2022)].

В качестве тест-объекта использовали амфипод *Hyalella azteca*, Saussure, 1858 из лабораторной культуры. Эксперименты проводили в соответствии со стандартной методикой [Рыбина и др., 2019 (Rybina et al., 2019); Ingersoll, Nelson, 1990] с модификацией в части увеличения оцениваемых тест-функций. Новорожденных амфипод в возрасте 1–3 сут пропускали через набор стандартных сит Standard Sieve Series, USA № 30 (600 μm) и № 50 (300 μm) для отбора особей размером не более 3 мм. Молодь амфипод отбирали пипеткой на 2 см<sup>3</sup> по одному экземпляру и помещали по 10 особей в стеклянные химические стаканы с 200 мл тестируемой среды. Животных кормили штампами из листьев клена остролистного *Acer platanoides* L., 1753 диаметром 1.8 см, предварительно вымоченными в воде для освобождения от танинов в количестве 3 экз. на 1 стакан. Продолжительность эксперимента — 40 сут.

Гибель животных оценивали по полной иммобилизации особей (плавательные движения отсутствуют и не возобновляются при легком прикосновении пипетки) ежедневно. В контроле гибель рачков (7%) соответствовала требованиям методики. Растворы и выведенные листья клена меняли каждые 10 сут на свежие.

Цель работы — оценить спектр ответных реакций амфипод *Hyalella azteca* на действие возрастающих концентраций лантана в условиях хронического эксперимента.

В момент смены среды регистрировали линейные размеры выживших особей и массу выеденных листьев клена. Показатель трофической активности оценивали через уменьшение массы листьев клена (в % начальной массы). Линейные размеры амфипод измеряли под биноклем с использованием шкалы окуляр-микрометра на 14, 28 сутки и на момент завершения эксперимента. Длину тела измеряли вдоль дорзальной поверхности от основания первой антенны до конца третьей уropоды конечности последнего брюшного сегмента. Индивидуальную массу выживших амфипод определяли по линейным размерам согласно формуле [Ingersoll et al., 2008]:

$$M = (0.177 \times L - 0.0292)^3,$$

где  $M$  — масса в мг,  $L$  — длина в мм.

На момент завершения эксперимента выживших особей фиксировали 70%-ным спиртом для оценки морфологических параметров — количество члеников и длины 1 и 2 антенн.

Эксперименты проводили в трех повторностях. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру воды —  $22 \pm 1^\circ C$ , рН 7.5–8.0, растворенный кислород — на уровне насыщения путем принудительной аэрации, световой режим (920 lux) при освещении лампами дневного света в режиме 16 ч свет:8 ч ночь. Контрольную группу тест-животных содержали в аналогичных условиях в отстоянной водопроводной воде без добавления  $La^{3+}$ .

Результаты представлены в виде  $\bar{x} \pm SD$ , где  $\bar{x}$  — среднее значение за весь период эксперимента,  $SD$  — среднее квадратичное отклонение параметра. Статистическую значимость различий оценивали методом дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при  $p = 0.05$  [Sokal, Rohlf, 1995]. Корреляционный анализ между исследованными параметрами, значения которых не имели нормального распределения (Shapiro-Wilktest), проводили с использованием непараметрического коэффициента Спирмена ( $r_s$ ,  $p = 0.05$ ).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

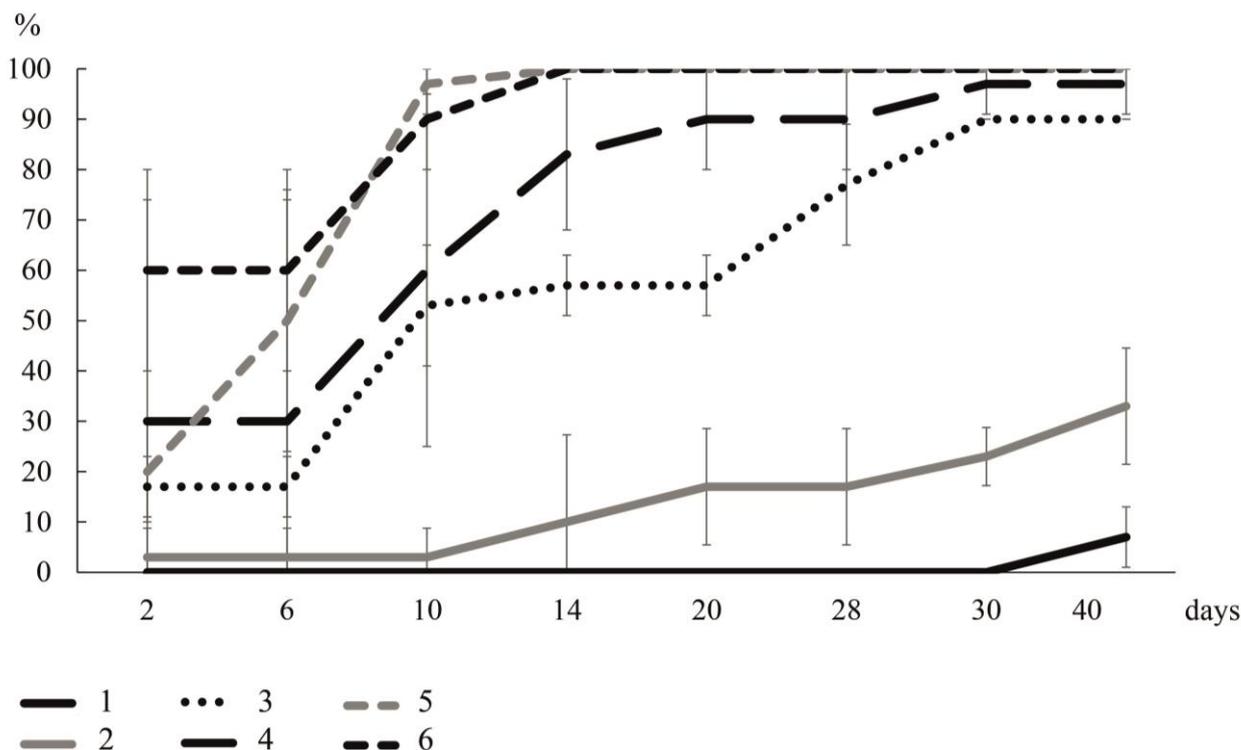
В остром опыте определена концентрация, вызывающая гибель 50% амфипод за 48 ч экспозиции —  $LC_{50} = 100$  мкмоль/л. Смертность

*H. azteca* в растворах с добавлением  $La^{3+}$  закономерно возрастала с ростом концентрации действующего вещества (рис. 1). На вторые

<sup>1</sup> [http://dictionary.sensagent.com/Solubility\\_table/en-en/](http://dictionary.sensagent.com/Solubility_table/en-en/)

сутки эксперимента зафиксировано острое токсическое действие  $\text{La}^{3+}$  в концентрации 160 мкмоль/л. На 14-е сутки эксперимента отмечена 100% смертность амфипод в концентрациях 16 и 160 мкмоль/л. На момент завершения

эксперимента минимальные значения (близкие к контролю) смертности рачков зарегистрированы в растворе с концентрацией 0.16 мкмоль/л.



**Рис. 1.** Влияние  $\text{La}^{3+}$  на смертность *H. azteca* в условиях хронического эксперимента. 1 — контроль, 2 — 0.16 мкмоль/л, 3 — 0.8 мкмоль/л, 4 — 1.6 мкмоль/л, 5 — 6 мкмоль/л, 6 — 16 мкмоль/л, 7 — 160 мкмоль/л.

**Fig. 1.** Effect of  $\text{La}^{3+}$  exposure on mortality of *H. azteca* under chronic experiment conditions. 1 — control, 2 — 0.16  $\mu\text{mol/L}$ , 3 — 0.8  $\mu\text{mol/L}$ , 4 — 1.6  $\mu\text{mol/L}$ , 5 — 6  $\mu\text{mol/L}$ , 6 — 16  $\mu\text{mol/L}$ , 7 — 160  $\mu\text{mol/L}$ .

Минимальные размеры амфипод на 14, 28 и 40 сутки эксперимента были отмечены в контроле, во всех экспериментальных растворах данный показатель был выше (рис. 2). Эта закономерность была выявлена на 14-е сут в высоких концентрациях 160 и 16 мкмоль/л, которые в дальнейшем оказали максимальное токсическое действие на смертность особей. Вероятно, это связано с пространственным и пищевым преимуществом особей, оставшихся в живых. Максимальные размеры амфипод по сравнению с контролем зафиксированы в растворах с концентрацией  $\text{La}^{3+}$  0.8 мкмоль/л во все периоды их измерений. Особи в растворах с наименьшей из тестируемых концентраций на 14-е сут не отличались по размерам от контрольных, но наблюдалась тенденция к увеличению их размеров, а к концу эксперимента эти отличия были статистически значимы.

Максимальная масса совокупности выживших особей зарегистрирована в контроле

с постепенным ее снижением по мере увеличения концентрации  $\text{La}^{3+}$  (табл. 1).

В качестве дополнительного параметра при завершении эксперимента (40 сут) оценивали длину 1 и 2 антенны (рис. 4) и количество члеников антенн (рис. 5). Минимальные размеры первой антенны отмечены в контроле и у особей, экспонируемых в концентрации 0.16 мкмоль/л (рис. 4a). Тенденция увеличения длины антенн зафиксирована при повышении действующей концентрации. Максимальная длина второй антенны отмечена в растворе  $\text{La}^{3+}$  с концентрацией 0.8 мкмоль/л (рис. 4b). Статистически значимых различий по длине второй антенны в других вариантах опыта по сравнению с контрольными значениями не наблюдали.

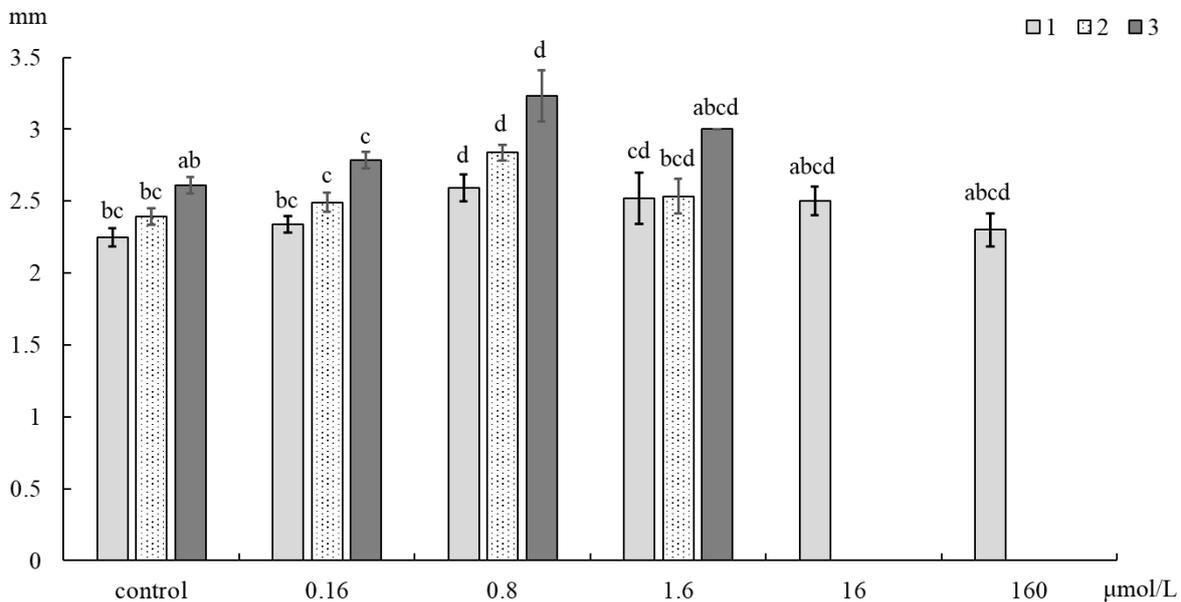
При расчете массы на одну особь, статистически значимые максимальные значения зарегистрированы в концентрации 0.8 мкмоль/л, в то время как в контроле и концентрации 0.16 мкмоль/л они были минимальными (рис. 3).

**Таблица 1.** Масса выживших особей *H. azteca* при действии  $\text{La}^{3+}$  на момент завершения эксперимента\***Table 1.** Weight of surviving individuals of *H. azteca* under  $\text{La}^{3+}$  exposure at the end of the experiment\*

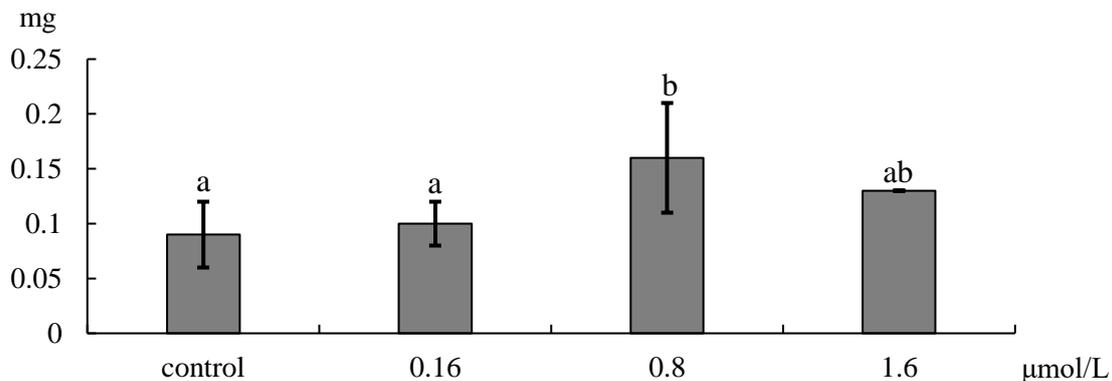
Концентрация $\text{La}^{3+}$ , мкмоль/л $\text{La}^{3+}$ concentration, $\mu\text{mol/L}$	Количество, экз. Quantity, ind.	Масса, мг Weight, mg	Масса одной особи, мг Weight of one individual, mg
0.16	7	2.04	$0.10 \pm 0.02^a$
0.8	3	0.49	$0.16 \pm 0.05^b$
1.6	1	0.13	$0.13 \pm 0^{ab}$
16	0	—	—
160	0	—	—
Контроль / Control	27	2.61	$0.09 \pm 0.03^a$

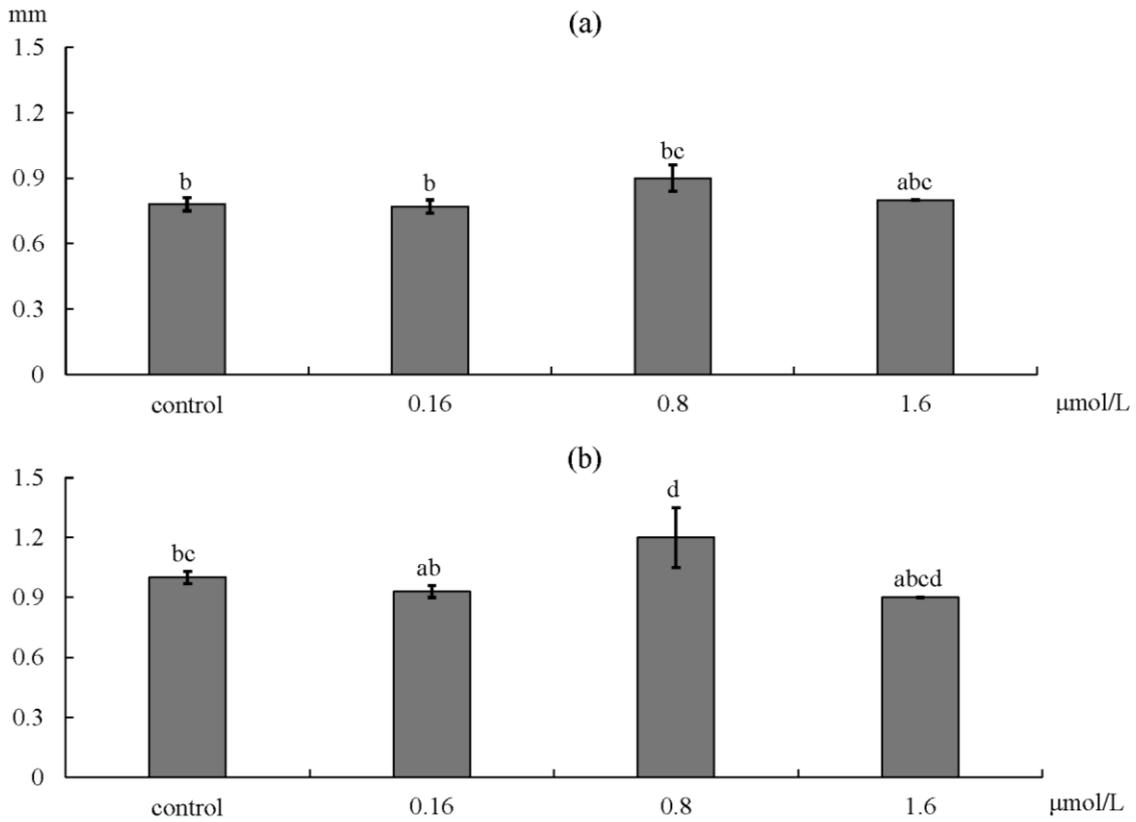
**Примечание.** “\*” — данные приведены на момент завершения эксперимента, “—” — в растворах отмечена 100% гибель особей. Здесь и в таблице 2 “a, b, c” — разные буквы означают статистически значимые различия показателей амфипод в экспериментальных группах от контрольных значений при  $p < 0.05$  буквенные индексы статистически значимых различий при  $p < 0.05$ .

**Note.** “\*” — data are given at the end of the experiment, “—” — 100% mortality of individuals was observed in the solutions. Here and in table 2, “a, b, c” are letter indices of statistically significant differences at  $p < 0.05$ .

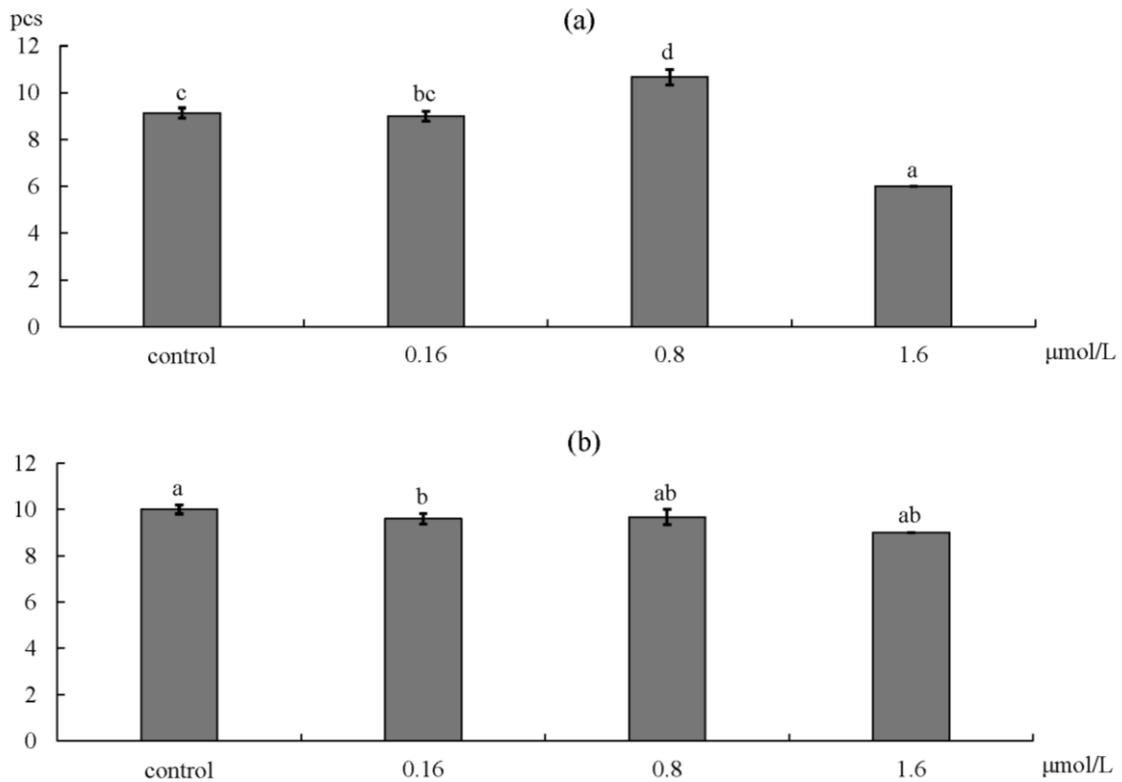
**Рис. 2.** Влияние  $\text{La}^{3+}$  на динамику линейных размеров *H. azteca*. 1 — 14 сут, 2 — 28 сут, 3 — 40 сут.

Здесь и далее “a, b, c, d” — разные буквы означают статистически значимые различия линейных размеров амфипод в экспериментальных группах от контрольных значений при  $p < 0.05$ ; “—” — в растворах отмечена 100% гибель особей.

**Fig. 2.** Effect of  $\text{La}^{3+}$  exposure on the dynamics of linear dimensions of *H. azteca*. 1 — 14 days, 2 — 28 days, 3 — 40 days. Here and in figures 3–6 “a, b, c, d” — different letters mean statistically significant differences in the linear sizes of amphipods in experimental groups from control values at  $p < 0.05$ ; “—” — 100% death of individuals was noted.**Рис. 3.** Расчетная масса одной выжившей особи *H. azteca* при действии  $\text{La}^{3+}$  на момент завершения эксперимента.**Fig. 3.** Mass of one surviving individual of *H. azteca* under  $\text{La}^{3+}$  exposure at the end of the experiment.



**Рис. 4.** Длина первой (а) и второй (б) антенны *H. azteca* в конце эксперимента по хроническому действию  $\text{La}^{3+}$ .  
**Fig. 4.** Length of first (a) and second (b) antennae of *H. azteca* at the end of the experiment on chronic exposure to  $\text{La}^{3+}$ .



**Рис. 5.** Число члеников первой (а) и второй (б) антенны *H. azteca* в конце эксперимента по хроническому действию  $\text{La}^{3+}$ .  
**Fig. 5.** Number of segments first (a) and second (b) of the antenna of *H. azteca* at the end of the experiment on chronic exposure to  $\text{La}^{3+}$ .

Число члеников обеих антенн также было больше в концентрации 0.8 мкмоль/л по сравнению с другими вариантами эксперимента. Для первой антенны этот показатель был статистически значимо выше по сравнению с другими вариантами (рис. 5a), для второй антенны — значимых различий не зафиксировано (рис. 5b). В целом, стабильной прямой дозозависимой тенденции в изменении длины антенн и числа их члеников в ответ на воздействие  $\text{La}^{3+}$  не установлено.

При увеличении концентрации  $\text{La}^{3+}$  отмечено постепенное возрастание трофической активности амфипод с 10-х на 20-е сутки эксперимента (табл. 2). На 10-е сутки в более высоких концентрациях (16 и 160 мкмоль/л) отмечено статистически значимое увеличение потребления корма по сравнению с контролем. На 20-е сутки значимое увеличение потребления корма по сравнению с контролем зарегистрировано для всех концентрации за исключением концентрации 0.16 мкмоль/л. На 30-е сутки статистически значимых различий между

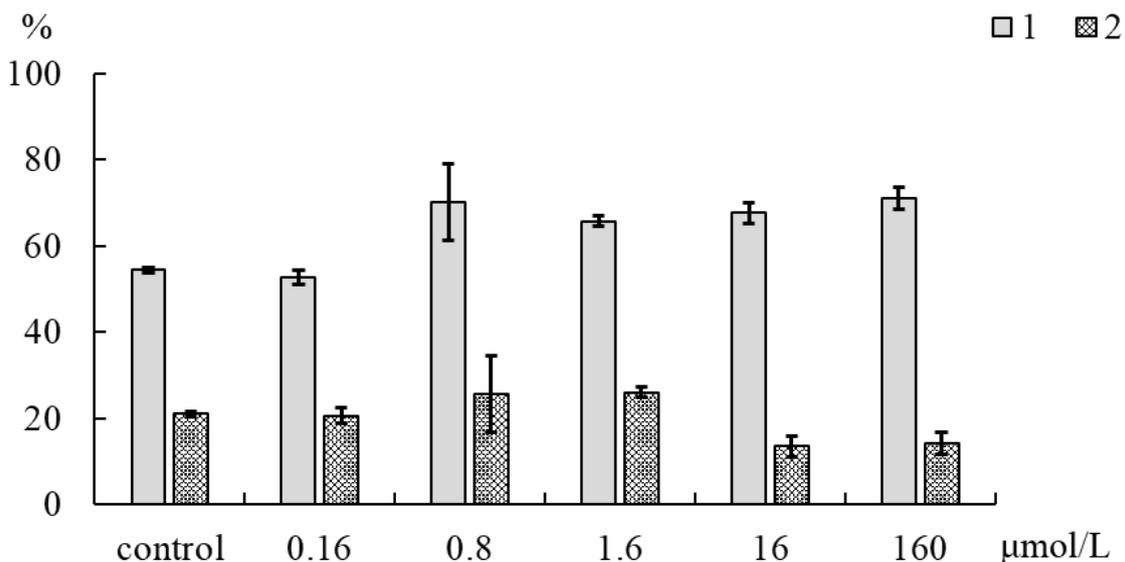
вариантами выявлено не было. На 40-е сутки статистически значимое повышение трофической активности отмечено в концентрациях  $\text{La}^{3+}$  0.8 и 1.6 мкмоль/л. Минимальная из тестируемых концентраций  $\text{La}^{3+}$  (0.16 мкмоль/л) значимо не влияла на среднюю трофическую активность амфипод на протяжении всего эксперимента. Последовательное повышение концентраций  $\text{La}^{3+}$  приводило к закономерному увеличению потребления листьев.

На протяжении всего эксперимента отмечен низкий процент трофической активности для контроля и минимально действующей концентрации  $\text{La}^{3+}$ , максимальный — для концентрации 0.8 мкмоль/л (рис. 6). Несмотря на высокие значения трофической активности *H. azteca* в концентрациях 16 и 160 мкмоль/л, сопоставимые со значениями в концентрациях 0.8 и 1.6 мкмоль/л, % выеденного корма за сутки был низок в связи с тем, что в более высоких концентрациях особи погибли в середине эксперимента.

**Таблица 2.** Влияние  $\text{La}^{3+}$  на динамику трофической активности *H. azteca* в условиях хронического эксперимента

**Table 2.** Effect of  $\text{La}^{3+}$  on the dynamics of trophic activity of *H. azteca* under chronic experimental conditions

Концентрация $\text{La}^{3+}$ , мкмоль/л $\text{La}^{3+}$ concentration, $\mu\text{mol/L}$	Масса выеденного листа, % / Eaten leaf weight, %			
	10 сут	20 сут	30 сут	40 сут
0.16	42.67±4.06 <sup>ab</sup>	40.33±4.26 <sup>ab</sup>	57.00±0.58 <sup>ab</sup>	66.0±5.13 <sup>a</sup>
0.8	38.00±9.50 <sup>ab</sup>	67.00±18.50 <sup>c</sup>	63.33±2.40 <sup>ab</sup>	86.67±3.28 <sup>b</sup>
1.6	41.33±5.55 <sup>ab</sup>	66.67±1.20 <sup>c</sup>	64.33±3.84 <sup>ab</sup>	87.0±5.03 <sup>b</sup>
16	61.67±0.33 <sup>cd</sup>	72.33±4.70 <sup>c</sup>	—	—
160	72.67±2.85 <sup>d</sup>	69.33±4.63 <sup>c</sup>	—	—
Контроль / Control	40.00±6.03 <sup>ab</sup>	34.67±3.71 <sup>a</sup>	63.00±3.61 <sup>ab</sup>	71.67±2.19 <sup>ab</sup>



**Рис. 6.** Влияние  $\text{La}^{3+}$  на трофическую активность *H. azteca*. 1 — 40 сут, 2 — 1 сут.

**Fig. 6.** Effect of  $\text{La}^{3+}$  on the trophic activity of *H. azteca*. 1 — 40 days, 2 — 1 day.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования подтверждают “дозозависимый” эффект показателя смертности *H. azteca* в ответ на возрастающие концентрации лантана в воде. Несмотря на то, что в воде идет слабый гидролиз сульфата лантана с образованием малорастворимого гидроксида лантана, коэффициент корреляции Спирмена ( $r_s=0.94$ ,  $p=0.005$ ) свидетельствует о высокой биодоступности  $\text{La}^{3+}$  для амфипод. Вероятно, это связано с их образом жизни. Амфиподы относятся к бентосным организмам, поедают детрит [Hargrave, 1970], который, как известно, может адсорбировать загрязняющие вещества [Odum, Drifmeyer, 1978; Sadchikov, Ostroumov, 2017].

В наших исследованиях показано, что концентрации  $\text{La}^{3+}$  160 и 16 мкмоль/л (0.6 и 0.06 мг/л) были наиболее токсичными, а концентрации 1.6, 0.8 и 0.16 мкмоль/л (0.006, 0.003, 0.0006 мг/л) оказывали отсроченное хроническое токсическое действие на *H. azteca* по показателю смертности. Значительная чувствительность ракообразных по сравнению с нематодами, аннелидами, рыбами и простейшими к воздействию  $\text{La}^{3+}$  подтверждена в работе [Herrmann et al., 2016]. Для сравнения, значения  $\text{LC}_{50}$  варьировали от 0.04 мг  $\text{La}$ /л для ракообразных *Daphnia carinata* King, 1852 (наиболее чувствительных) до 278 мг  $\text{La}$ /л для цилиат *Tetrahymena shanghaiensis* Feng et al., 1988 (наиболее устойчивых). Установленные нами летальные концентрации сопоставимы со значениями, полученными в работах [Borgmann et al., 2005; Herrmann et al., 2016], где  $\text{LC}_{50}$  для *H. azteca* за 168 ч (7 сут) составила 0.018 мг/л. Следовательно, устойчивость амфипод к воздействию лантана ниже, чем у дафний, хотя и исчисляется одним и тем же порядком.

В целом информативность биотестов по гибели организмов достаточно низка [Филенко, Терехова, 2016 (Filenko, Terekhova, 2016)]. Гораздо более показательны эксперименты по установлению хронического токсического действия, позволяющие оценить ответные реакции гидробионтов для невысокого уровня загрязнения [Олькова, Маханова, 2018 (Ol'kova, Mahanova, 2018); Johnson et al., 2000].

Результаты измерения линейных размеров *H. azteca* оказались на первый взгляд неожиданными: в большинстве вариантов в течение опыта наблюдалась тенденция возрастания, а для некоторых вариантов и значимое увеличение показателя по сравнению с контролем. К одной из причин этого можно отнести снижение конкуренции за пищевой ресурс. Так, в работе с использованием *Daphnia magna* Straus, 1820 показано, что увеличение жизненного

пространства модельной популяции в расчете на 1 особь приводит к стимуляции многих морфофункциональных параметров [Ol'kova et al., 2018]. Согласно классической работе [Одум, 1986 (Odum, 1986)] известно, что абиотические и биотические факторы всегда действуют комплексно, снижение функциональной нагрузки по одному фактору (плотность популяции) способствует повышению устойчивости особей к другому фактору (химическое воздействие).

Незначимые коэффициенты корреляции Спирмена “концентрация–линейные размеры” составили 0.23, 0.80 и 0.80 соответственно для 14, 28 и 40 сут эксперимента. Следовательно, нельзя утверждать, что снижение плотности популяции полностью компенсирует токсическое действие  $\text{La}^{3+}$ . Рост амфипод в некоторой степени ограничивался присутствием  $\text{La}^{3+}$  в воде. Это видно при сравнении действия на амфипод растворов с концентрациями 0.8 и 1.6 мкмоль/л. Максимальные и достоверно отличающиеся от контроля линейные размеры особей были зафиксированы в меньшей из этих двух концентраций (0.8 мкмоль/л), хотя пространственный и трофические факторы были ближе к оптимумам при воздействии концентрации 1.6 мкмоль/л. Схожие эффекты ингибирования роста *H. azteca* были обнаружены и для других металлов, таких как As, Co и Mn, после 4-недельного воздействия [Norwood et al., 2007].

Рассчитанные значения массы амфипод имеют важное значение для прогноза экологических эффектов в случае попадания  $\text{La}^{3+}$  в водные экосистемы. Масса каждой особи менялась в ответ на воздействие  $\text{La}^{3+}$  незначительно, однако, оценка общей биомассы *H. azteca*, оставшихся в живых на 40 сут после воздействия показала, что одним из возможных эффектов влияния  $\text{La}^{3+}$  в реальных условиях может стать снижение биомассы бентосных организмов. Аналогичные эффекты отмечены при воздействии РЗЭ диспрозия на 28 суток эксперимента, когда отмечалось снижение среднего сухого веса *H. azteca* [Lu, 2016]. Полученные результаты, в свою очередь, могут привести к каскадным эффектам в экосистемах, как показано на примере гербицида симазина [Wang et al., 2021].

У *H. azteca* длина антенн и количество их сегментов изменчивы [Nelson, Brunson, 1995]. Длины 1 и 2 антенн изменялись под воздействием исследуемых концентраций  $\text{La}^{3+}$  в большей степени, чем количество члеников:  $r_s=0.6$  и  $r_s=-0.4$  для зависимостей “концентрация–длина первой антенны” и “концентрация–длина второй антенны” по сравнению с  $r_s=-0.4$  и  $r_s=-0.8$  для зависимости “концентрация–количество

члеников”. Вероятно, это связано с тем, что количество члеников и вариативность их числа — генетически закрепленный признак, а длина части тела может быть обусловлена факторами окружающей среды, в том числе химическим воздействием.

В соответствии с полученными коэффициентами корреляции, помимо смертности к наиболее информативной тест-функции при оценке токсичности  $\text{La}^{3+}$  можно отнести длину и массу *H. azteca*, не информативным — длину и количество члеников антенн.

Трофическая активность тест-организмов — интегральный параметр жизненного

состояния организма. В то же время достаточное количество пищи и способность ее потреблять может носить компенсаторную роль при токсическом воздействии на организм [Gad, 2016]. Вероятно, это явление мы и наблюдали, оценивая воздействие разных концентраций  $\text{La}^{3+}$  на амфипод: во всех вариантах, кроме 0.16 мкмоль/л, происходило достоверное увеличение потребления пищи по сравнению с контролем. Учитывая, что в растворах с концентрациями 160 и 16 мкмоль/л количество особей было наименьшим вследствие гибели от токсического воздействия, становится понятно, что выявленные различия значительны.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что лантан по сравнению с рядом других металлов, безусловно, относится к менее опасным элементам, чем, например, тяжелые металлы. Однако гидробионты реагируют на его присутствие в среде обитания изменением морфофизиологических параметров,

что и было показано в представленной работе на примере *H. azteca*. Часть ответных реакций (гибель, снижение биомассы популяции) могут стать началом каскадных эффектов, отражаясь на структуре сообщества гидробионтов и биоразнообразии водных объектов.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Часть работы выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации “Роль абиотических и биотических факторов в формировании физиолого-биохимических и иммунологических показателей гидробионтов” (№124032500015-7).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кабата-Пендиас А., Кабата-Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.
- Ложкина Р.А., Томилина И.И. Влияние лантана на биологические параметры ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* в хроническом эксперименте // Токсикологический вестник. 2016. № 1(136). С. 42–46. DOI: 10.36946/0869-7922-2016-1-42-42.
- Одум Ю. Экология: В 2-х т. Ecology / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. Т. 1. 328 с.; Т. 2. 376 с.
- Олькова А.С., Маханова Е.В. Выбор биотестов для экологических исследований вод, загрязненных минеральными формами азота // Вода и экология: проблемы и решения. 2018. № 4(76). С. 70–81. DOI: 10.23968/2305-3488.2018.23.4.70-81.
- Рыбальский Н.Г. Экологические аспекты экспертизы изобретений: справочник эксперта и изобретателя. М.: ВНИИПИ, 1989. Ч. 1. С. 139.
- Рыбина Г.Е., Михайлова Л.В., Томилина И.И. Методика определения токсичности донных отложений, почв, осадков сточных воды промышленных отходов методом биотестирования с использованием амфипод *Hyalella azteca* Saussure. С-Пб: ООО “Спектр-М”, 2019. 42 с.
- СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. 2010.
- Сысолятина М.А., Олькова А.С. Потенцирование токсического действия меди в присутствии лантана в биотестах на *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) // Поволжский экологический журнал. 2022. № 4. С. 483–490. DOI: 10.35885/1684-7318-2022-4-483-490.
- Филенко О. Ф., Терехова В. А. Экологическое предназначение биотестирования: информативность и универсальность // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы, Москва, 25–28 октября 2016 года. Москва: Издательство ГЕОС, 2016. С. 232–238.
- Blinova A., Lukjanova M., Muna H., Vija H., Kahru A. Evaluation of the potential hazard of lanthanides to freshwater microcrustacean // Sci. Total. Environ. 2018. Vol. 642. P. 1100–1107. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.155.
- Borgmann U., Couillard Y., Doyle P., Dixon D.G. Toxicity of sixty-three metals and metalloids to *Hyalella azteca* at two levels of water hardness // Environ. Toxicol. Chem. 2005. Vol. 24. P. 641–652. DOI: 10.1897/04-177r.1.
- Figureiredo C., Grilo T.F., Lopes R. et al. Single and combined ecotoxicological effects of ocean warming, acidification and lanthanum exposure on the surf clam (*Spisula solida*) // Chemosphere. 2022. Vol. 302. Article 134850. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.134850.
- Gad S.C. Animal Models in Toxicology (3rd ed.). CRC Press. 2016. 1168 p. DOI: 10.1201/b18705.
- Gupta C.K., Krishnamurthy N. Extractive metallurgy of rare earths // International materials reviews. 1992. Vol. 37. № 1. P. 197–248.

- Hargrave B.T. The Utilization of Benthic Microflora by *Hyalella azteca* (Amphipoda) // Journal of Animal Ecology. 1970. Vol. 39(2). P. 427–437. DOI: 10.2307/2980.
- Henderson P. Rare earth element geochemistry. Elsevier, 2013. 510 p.
- Herrmann H., Nolde J., Berger S., Heise S. Aquatic ecotoxicity of lanthanum- a review and an attempt to derive water and sediment quality criteria // Ecotox. Environ. Saf. 2016. Vol. 124. P. 213–238.
- Ingersoll C.G., Besser J.M., Brumbaugh W.G. et al. Sediment chemistry, toxicity, and bioaccumulation data report for the US Environmental Protection Agency–Department of the Interior sampling of metal-contaminated sediment in the Tri-state Mining District in Missouri, Oklahoma, and Kansas. U.S. Geological Survey and MacDonald Environmental Sciences. 2008.
- Ingersoll C.G., Nelson M.K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera) // Aquat. Toxicol. and Risk Assessment. Philadelphia: Amer. Soc. Test. and Mater, 1990. Vol. 13. P. 93–109.
- Johnson I., Persoone G., Janssen C., Coen W.M.De. Criteria-based procedure for selecting test methods for effluent testing and its application to Toxkit // New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000. P. 73–94.
- Liu W.S., Guo M.N., Liu C. et al. Water, sediment and agricultural soil contamination from an ion adsorption rare earth mining area // Chemosphere. 2019. Vol. 216. P. 75–83. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.109.
- Lu C. The Effects of Water Chemistry and Organism Source on Dysprosium Toxicity to *Hyalella azteca* (Master's thesis, University of Waterloo). Waterloo, Ontario: University of Waterloo, 2016. 126 p.
- Nelson M.K., Brunson E.L. Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments // Chemosphere, 1995. Vol. 31. № 4. P. 3129–3140.
- Norwood W.P., Borgmann U., Dixon D.G. Chronic toxicity of arsenic, cobalt, chromium and manganese to *Hyalella azteca* in relation to exposure and bioaccumulation // Environmental Pollution. 2007. Vol. 147(1). P. 262–272.
- Odum W.E., Drifmeyer J.E. Sorption of pollutants by plant detritus: a review // Environmental Health Perspectives. 1978. Vol. 27. P. 133–137.
- Olkova A.S., Kantor G.Y., Kutjavina T.I., Ashikhmina T.Y. The importance of maintenance conditions of *Daphnia magna* Straus as a test organism for ecotoxicological analysis // Environmental Toxicology and Chemistry. 2018. Vol. 37. № 2. P. 376–384. DOI: 10.1002/etc.3956.
- Sadchikov A.P., Ostroumov S.A. Issues of the study of detritus in aquatic systems // Russian Journal of General Chemistry. 2017. Vol. 87. P. 3244–3249. DOI: 10.1134/S1070363217130199.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. N.Y.: W.H. Freeman and Comp., 1995. 887 p.
- Wang Z., Shu J.H., Wang Z.R. et al. Geochemical behavior and fractionation characteristics of rare earth elements (REEs) in riverine water profiles and sentinel clam (*Corbicula fluminea*) across watershed scales: insights for REEs monitoring // Sci. Tot. Environ. 2022. Vol. 803. Article 150090. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150090.
- Wang Z., Yu S., Zhang L. et al. Effects of simazine herbicide on a plant-arthropod-lizard tritrophic community in territorial indoor microcosms: Beyond the toxicity // Science of The Total Environment. 2021. Vol. 781. P. 146723. DOI: 10/1016/j.scitotenv.2021.146723.
- Zhi Y., Zhang C., Hjorth R. et al. Emerging lanthanum (III)-containing materials for phosphate removal from water: A review towards future developments // Environment International. 2020. Vol. 145. P. 106115. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106115.

## REFERENCES

- Blinova A., Lukjanova M., Muna H., Kahru A. Evaluation of the potential hazard of lanthanides to freshwater microcrustacean. *Sci. Total. Environ.*, 2018, vol. 642, pp. 1100–1107. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.155.
- Borgmann U., Couillard Y., Doyle P., Dixon D.G. Toxicity of sixty-three metals and metalloids to *Hyalella azteca* at two levels of water hardness. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2005, vol. 24, pp. 641–652. doi: 10.1897/04-177r.1.
- Figueiredo C., Grilo T.F., Lopes R. et al. Single and combined ecotoxicological effects of ocean warming, acidification and lanthanum exposure on the surf clam (*Spisula solida*). *Chemosphere*, 2022, vol. 302. Article 134850. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134850.
- Fileenko O.F., Terexova V.A. Экологическое предназначение биотестирования: информативность и универсальность [Ecological purpose of biotesting: informative and versatile] Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталонные сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы, Москва, 25–28 октября 2016 года. Moscow, Izdatel'stvo GEOS, 2016, pp. 232–238. (In Russian)
- Gad S.C. Animal Models in Toxicology (3rd ed.). CRC Press, 2016. 1168 p. doi: 10.1201/b187505.
- Gupta C.K., Krishnamurthy N. Extractive metallurgy of rare earths. *International materials reviews*, 1992, vol. 37, pp. 197–248.
- Hargrave B.T. The Utilization of Benthic Microflora by *Hyalella azteca* (Amphipoda). *J. Animal Ecol.*, 1970, vol. 39(2), pp. 427–437. doi:10.2307/2980.
- Henderson P. Rare earth element geochemistry. Elsevier, 2013. 510 p.
- Herrmann H., Nolde J., Berger S., Heise S. Aquatic ecotoxicity of lanthanum- a review and an attempt to derive water and sediment quality criteria. *Ecotox. Environ. Saf.*, 2016, vol. 124, pp. 213–238. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.09.033.
- Ingersoll C.G., Besser J.M., Brumbaugh W.G. et al. Sediment chemistry, toxicity, and bioaccumulation data report for the US Environmental Protection Agency–Department of the Interior sampling of metal-contaminated sediment

- in the Tri-state Mining District in Missouri, Oklahoma, and Kansas. U.S. Geological Survey and MacDonald Environmental Sciences. 2008.
- Ingersoll C.G., Nelson M.K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera). *Aquat. Toxicol. and Risk Assessment*. Philadelphia, Amer. Soc. Test. and Mater, 1990., vol. 13, pp. 93–109.
- Johnson I., Persoone G., Janssen C., Coen W.M.De. Criteria-based procedure for selecting test methods for effluent testing and its application to Toxkit. New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000, pp. 73–94.
- Kabata-Pendias A., Kabata-Pendias X. Mikroe`lementy` v pochvax i rasteniyax [Trace elements in soils and plants]. M., Mir, 1989. 439 p. (In Russian)
- Liu W.S., Guo M.N., Liu C. et al. Water, sediment and agricultural soil contamination from an ion adsorption rare earth mining area. *Chemosphere*, 2019, vol. 216, pp. 75–83. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.109.
- Lozhkina R.A., Tomilina I.I. Vliyanie lantana na biologicheskie parametry vetvistousogo rachka *Ceriodaphnia affinis* v hronicheskom eksperimente [The effect of lanthanum on the biological parameters of the branchial crustacean *Ceriodaphnia affinis* in a chronic experiment]. *Toksikologicheskij vestnik*, 2016, no. 1(136), pp. 42–46. doi: 10.36946/0869-7922-2016-1-42-42. (In Russian)
- Lu C. The Effects of Water Chemistry and Organism Source on Dysprosium Toxicity to *Hyalella azteca* (Master's thesis, University of Waterloo). Waterloo, Ontario, Canada, 2016. 126 p.
- Nelson M.K., Brunson E.L. Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. *Chemosphere*, 1995, vol. 31, no. 4, pp. 3129–3140.
- Norwood W.P., Borgmann U., Dixon D.G. Chronic toxicity of arsenic, cobalt, chromium and manganese to *Hyalella azteca* in relation to exposure and bioaccumulation. *Environmental Pollution*, 2007, vol. 147, no. 1, pp. 262–272.
- Odum W.E., Drifmeyer J.E. Sorption of pollutants by plant detritus: a review. *Environmental Health Perspectives*, 1978, vol. 27, pp. 133–137.
- Odum Yu. *Ekologiya: V 2-x t. Ecology*. Moscow, Mir, 1986. T. 1. 328 p.; T. 2. 376 p.
- Olkova A.S., Kantor G.Y., Kutyavina T.I., Ashikhmina T.Y. The importance of maintenance conditions of *Daphnia magna* Straus as a test organism for ecotoxicological analysis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2018, vol. 37, no. 2, pp. 376–384. doi: 10.1002/etc.3956.
- Ol'kova A.S., Mahanova E.V. Vybor biotestov dlya ekologicheskiz issledovaniy vod, zagryaznennykh mineral'nymi formami azota [Choice of bioassays for ecological studies of waters polluted with mineral forms of nitrogen]. *Voda i ekologiya: problem i resheniya*, 2018, no. 4 (76), pp. 70–81. (In Russian)
- Ry`bina G.E., Mixajlova L.V., Tomilina I.I. Metodika opredeleniya toksichnosti donny`x otlozhenij, pochv, osadkov stochny`x vodi promy`shlenny`x otxodov metodom biotestirovaniya s ispol`zovaniem amfipod *Hyalella azteca* Saussure (1-ya redakciya) [Methodology for determining the toxicity of aquatic sediments, soils, sewage sludge and industrial sediments by biotesting using amphipods *Hyalella azteca* Saussure (1st edition)]. S-Pb., OOO “Spektr-M”, 2019. 42 p. (In Russian)
- Rybal'skiy N.G. Ekologicheskie aspekty ekspertizy izobretenij: spravochnik eksperta i izobretatelya [Environmental aspects of examination of inventions: a guide expert and inventor]. Moscow, VNIPI, 1989. Ch. 1. 139 p. (In Russian)
- Sadchikov A. P., Ostroumov S. A. Issues of the study of detritus in aquatic systems. *Russian J. General Chem.*, 2017, vol. 87, pp. 3244–3249. doi: 10.1134/S1070363217130199.
- SanPiN 2.1.4.1074-01. Pit`evaya voda. Gigienicheskie trebovaniya k kachestvu vody centralizovannykh sistem pit`evogo vodosnabzheniya. Kontrol' kachestva [Drinking water. Hygienic requirements for water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control]. 2010. (In Russian).
- Sokal R.R., Rohlf F.J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. N.Y., W.H. Freeman and Comp., 1995. 887 p.
- Sysolyatina M.A., Ol'kova A.S. Potencirovanie toksicheskogo dejstviya medi v prisutstvii lantana v biotestah na *Daphnia magna* Straus [Potentiation of the toxic effect of copper in the presence of lanthanum in biotests on *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)] (Cladocera, Crustacea). *Povolzhskij ekologicheskij zhurnal*, 2022, no. 4, pp. 483–490. doi: 10.35885/1684-7318-2022-4-483-490. (In Russian)
- Wang Z., Shu J.H., Wang Z.R. et al. Geochemical behavior and fractionation characteristics of rare earth elements (REEs) in riverine water profiles and sentinel clam (*Corbicula fluminea*) across watershed scales: insights for REEs monitoring. *Sci. Tot. Environ.*, 2022, vol. 803. Article 150090. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150090.
- Wang Z., Yu S., Zhang L. et al. Effects of simazine herbicide on a plant-arthropod-lizard tritrophic community in territorial indoor microcosms: Beyond the toxicity. *Science Total Environ.*, 2021, vol. 781, pp. 146723. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150090.
- Zhi Y., Zhang C., Hjorth R. et al. Emerging lanthanum (III)-containing materials for phosphate removal from water: A review towards future developments. *Environ.t Internat.*, 2020, vol. 145, pp. 106115. doi: 10.1016/j.environ.2020.106115.

**RESPONSES OF HYALELLA AZTECA TO THE EFFECT OF LANTHANUM  
IN THE CONDITIONS OF A CHRONIC TRIAL**

**R. A. Lozhkina<sup>1, \*</sup>, M. A. Sysolyatina<sup>2</sup>, I. I. Tomilina<sup>1</sup>, A. S. Olkova<sup>2, \*\*</sup>**

<sup>1</sup>*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: \*lozhkina.roza@yandex.ru*

<sup>2</sup>*Vyatka State University, 610000, Kirov, Russia, e-mail: \*\*morgan-abend@mail.ru*

Revised 12.09.2024

The responses of the laboratory culture *Hyalella azteca* to the effect of lanthanum sulfate solutions in the concentration range of 0.16–160  $\mu\text{mol/L}$  under conditions of a chronic trial were studied. It was shown that the mortality of *H. azteca* increased with an enhance in the concentration of  $\text{La}^{3+}$  in the solution. A consistent increase in the concentration of  $\text{La}^{3+}$  led to a natural raise in food consumption. The most informative test function in assessing the toxicity of  $\text{La}^{3+}$  is the length and weight of *H. azteca*, while the length and number of antennal segments are not informative.

*Keywords:* lanthanum, bioassay, survival, growth, feeding behavior, *Hyalella azteca*, chronic toxicity

## ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛДИСУЛЬФИДА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНОЙ СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Г. М. Чуйко<sup>1,\*</sup>, И. И. Томилина<sup>1,\*\*</sup>, Н. С. Шевченко<sup>1</sup>,  
О. А. Угарова<sup>1</sup>, Е. И. Головкина<sup>1</sup>, М. В. Медянкина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: \*gchuiko@ibiw.ru, \*\*i\_tomilina@mail.ru

<sup>2</sup>Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского,  
109004 Москва, ул. Земляной Вал, 73

Поступила в редакцию 11.11.2024

Получены новые данные о влиянии диметилдисульфидов (ДМДС) на гидробионтов различной систематической принадлежности. Определены пороговые концентрации ДМДС, установленные при хроническом действии ДМДС на прирост клеток водоросли *Chlorella vulgaris* — 0.05 мг/л, на репродуктивные показатели *Ceriodaphnia affinis* — 5.0 мг/л, возникновение патоморфологических и патоанатомических изменений у взрослых рыб *Danio rerio* — 5.0 мг/л. Изменение численности клеток зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* — наиболее чувствительная тест-функция. Установленные токсикологические параметры могут быть использованы для определения класса опасности и корректировки нормативов содержания ДМДС в воде.

**Ключевые слова:** диметилдисульфид, водоросли, ветвистоусые рачки, рыбы, токсичность.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-58-70

### ВВЕДЕНИЕ

Диметилдисульфид (ДМДС) представляет собой органическое химическое соединение с молекулярной формулой  $\text{CH}_3\text{SSCH}_3$ . Это легко воспламеняющаяся жидкость с неприятным, чесночным запахом. Молекулярная масса 94.2, плотность 1.046 г/см<sup>3</sup> при 20°C, температура кипения 118°C.

ДМДС широко распространен в природе, образуется в клетках различных представителей флоры и фауны в ходе метаболизма сераорганических соединений. Так, цветки растения *Aristolochia microstoma* Boissier & Spruner, 1844 выделяют летучие соединения, характерные для запаха разлагающихся насекомых. Предположительно этим запахом растение привлекает опылителей — мух-горбатов *Helicodiceros muscivorus* Engler, 1879 [Stensmyr et al., 2002]. Методом газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией были проанализированы летучие соединения цветков *Aristolochia microstoma*. Всего было обнаружено 16 веществ, но только три из них содержались в значительном количестве: диметилдисульфид (от 40 до 79%, в зависимости от участка исследования), 2,5-диметилпиразин (от 8 до 47%) и диметилтрисульфид (от 1 до 5%) [Rupp et al., 2021].

В пищевой промышленности ДМДС используют в качестве пищевой добавки в острых, суповых и фруктовых приправах для усиления запаха лука, чеснока, сыра и мяса. На нефтеперерабатывающих заводах — в качестве сульфидирующего агента. ДМДС является одним из основных компонентов метилсернистых соединений, загрязняющих воздух рабо-

чей зоны в процессе производства сульфатной целлюлозы [Бейм, 1984 (Bejm, 1984); Селюжицкий и др., 1989 (Selyuzhickij et al., 1989)].

В сельском хозяйстве ДМДС применяется как фумигант почвы, зарегистрированный в США и других странах под коммерческим названием “Паладин”<sup>1</sup>. Препарат высокоэффективен в борьбе с почвенными болезнями и нематодами многих сельскохозяйственных культур, таких как томаты [Yu et al., 2019], огурцы [Mao et al., 2014], клубника [Chamorro et al., 2016] и другие культуры [Gómez-Tenorio et al., 2015, Conkle et al., 2016].

Отмечено, что ДМДС обладает умеренными токсичностью и раздражающим действием на слизистую глаз и слабовыраженной биоаккумуляцией [Обзор рынка..., 2012 (Obzor rynka..., 2012)].

Установлены гигиенические нормативы ДМДС: ПДК в воде — 0.04 мг/л, 3 класс опасности (лимитирующий показатель вредности — органолептический), ПДК в воде водоема, используемого для рыбохозяйственных целей, — 0.00001 мг/л, токсичен, 1 класс опасности (лимитирующий показатель вредности — санитарно-токсикологический) [Дюсенгалиев и др., 2016 (Dyusengaliev et al., 2016)]. Норматив, установленный по токсикологическому показателю, более жесткий, чем по органолептическому, хотя вещество обладает очень неприятным запахом даже в низких концентрациях. Ранее было отмечено, что порог ощущения запаха ДМДС уста-

<sup>1</sup> <https://www.arkema.com>

новлен на уровне 0.03 мг/л [Коптяев, 1967 (Кортуяев, 1967)]. Имеется лишь ограниченная информация о проявлении эффектов при воздействии ДМДС на тест-организмы различной систематической принадлежности, что не позволяет в полной мере судить о его биологической безопасности. Кроме того, за время, прошедшее с момента установления норматива, приборная база для определения

безопасных уровней ДМДС изменилась в лучшую сторону.

В силу вышеназванных причин актуальна цель исследования — детально изучить экотоксикологические свойства ДМДС, оценить его влияние и определить токсикологические параметры для гидробионтов различной систематической принадлежности.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Токсичность ДМДС оценивали в соответствии со стандартными методиками биотестирования с использованием трех тест-организмов: одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer, 1890 [Методика определения..., 2007 (Metodika opredeleniya..., 2007); Методы оценки..., 2014 (Metody ocenki..., 2014)], ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lillijeborg, 1900 [Методика биотестирования..., 2007 (Metodika biotestirovaniya..., 2007); Mount, Norberg, 1984] и аквариумной рыбки данио рерио *Danio rerio* Hamilton, 1822 [Методы испытания..., 2016 (Metody ispytaniya..., 2016)]. В экспериментах использовали альгологически чистую культуру хлореллы из коллекции микроводорослей и лабораторные культуры цериодафний и дикой формы данио, имеющихся в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН.

**Эксперименты на *Chlorella vulgaris*.** Методика определения токсичности растворов с использованием хлореллы основана на регистрации изменения темпа роста (снижение или увеличение численности) клеток водорослей под воздействием токсических веществ, присутствующих в тестируемой воде (опыт), по сравнению с культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливали: 1) острую токсичность ДМДС по снижению численности клеток водорослей на 50% и более по сравнению с контролем за 72 ч экспозиции. Стимуляцию до уровня 30%, по сравнению с контролем, считали как нетоксичное действие исследуемых экспериментальных растворов на тест-организм; 2) безвредную (не вызывающую эффекта острой токсичности) концентрацию.

Для изучения хронического влияния ДМДС на хлореллу были проведены эксперименты продолжительностью 96 ч–14 сут.

При определении токсичности растворов ДМДС в стеклянные плоскодонные колбы вместимостью 250 мл наливали по 100 мл исследуемого раствора, в такие же колбы контрольной серии — дистиллированной воды

с рН 7.0–7.5. Затем в каждую колбу пипеткой добавляли по 0.1 мл испытуемого концентрированного раствора реактивов питательной среды Тамиа, используемой для культивирования водорослей. Затем во все колбы добавляли равные объемы суспензии водорослей с таким расчетом, чтобы численность клеток в них составила 25–35 тыс. кл./мл. Численность клеток в каждой колбе подсчитывали дважды. Колбы устанавливали в люминостат и инкубировали при температуре от +22°C до +25°C и постоянной освещенности 3000–10000 лк. Подсчет численности клеток в контрольных и опытных колбах проводили в камере Горяева. Повторность не менее чем двукратная [Методика определения..., 2007 (Metodika opredeleniya..., 2007)].

При определении токсического действия для каждого разведения по результатам двух параллельных определений вычисляли среднее значение численности клеток по формуле:

$$\bar{X} = \frac{\sum Xi}{n},$$

где  $\bar{X}$  — среднее значение тест-параметра (численности клеток);  $Xi$  — значения тест-параметра в  $i$ -том параллельном определении;  $n$  — количество параллельных определений.

Рассчитывали относительное (%) изменение численности клеток водорослей для каждой концентрации ДМДС по сравнению с контролем:

$$I = \frac{Xk - Xo}{Xk} \times 100\%,$$

где  $Xk$  — среднее значение тест-параметра в контроле,  $Xo$  — среднее значение тест-параметра в опыте.

**Эксперименты на *Ceriodaphnia affinis*.** Методика основана на определении смертности и плодовитости цериодафний при воздействии водных растворов, содержащих тестируемые вещества (опыт), по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих их (контроль), за 7 сут или за время вымета трех пометов [Mount, Norberg, 1984].

Определение токсичности каждой пробы проводили в десяти стаканах в трех повторно-

стях и сопровождали серией контроля. В стеклянные стаканы, вместимостью 15 мл, с 10 мл исследуемых экспериментальных растворов помещали по одной цериодафнии, не более 24-часового возраста (разница между возрастом рачков не должна составлять более 8 ч, что определяется по размеру рачков и обеспечивается синхронизированным культивированием).

При определении острой токсичности растворы ДМДС за время эксперимента не меняли. Учет смертности рачков в опыте и контроле проводили один раз в сутки ежедневно до истечения 48 ч. Неподвижных особей считали погибшими, если они не начинали двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана. Рачков в острых опытах не кормили. Критерием *острой токсичности* служила гибель 50% и более рачков за 48 ч в исследуемых растворах при условии, что в контроле гибель рачков не наблюдали.

В экспериментах по определению хронического токсического действия цериодафний кормили перед началом эксперимента и в последующие дни один раз в сутки. Смену растворов ДМДС на новые осуществляли через каждые двое суток из исходных растворов, хранящихся в холодильнике при температуре от +2°C до +4°C. Учет смертности и родившейся молоди в опыте и контроле проводили ежедневно до конца хронического опыта. Молодь подсчитывали и удаляли. Хронический опыт считали законченным, если в контроле выжило 80% испытуемых рачков, а 60% и более из них дали три поколения молоди. Критерием *хронической токсичности* служила гибель 20% и более тест-организмов и достоверное отклонение в плодовитости из числа выживших по сравнению с контролем.

**Эксперименты на рыбах *Danio rerio*.** Маточное стадо дикой формы данио, самцы и самки совместно (60 экз.), содержали в 30-литровых аквариумах с отстоянной биологизированной артезианской водой с рН 7.2, температурой 28°C, общей минерализацией 123 мг/л, содержанием растворенного кислорода 7.8–8.1 мг/л, при фотопериоде день:ночь — 10:14 часов. Рыб кормили 3 раза в сутки сухим кормом для аквариумных рыб COPPENS ADVANCE (Германия) с использованием автоматических кормушек. Оплодотворенную икру в необходимом количестве получали непосредственно перед экспериментом от одной самки и 2–3 самцов. Сразу после нереста икру собирали в пластиковые стаканы со 100 мл культуральной воды, отделяли неоплодотворенную, остальную использовали

в экспериментах не позже, чем через час после нереста (стадия 4–8 зародышевых клеток).

Эксперименты по установлению острого токсического действия ДМДС для икры проводили в чашках Петри, прикрытых крышками для уменьшения испарения воды и стабильного поддержания заданных концентраций, с 40 мл культуральной воды (контроль) или содержащей растворы с различной концентрацией ДМДС (опыт). В каждую чашку Петри помещали по 30 икринок, каждый вариант эксперимента проводился в двух повторностях. Температура экспериментальных растворов 23–25°C, остальные параметры как при культивировании рыб. Продолжительность развития эмбрионов до вылупления 72–96 ч, развитие предличинок до перехода на внешнее питание — 6–8 сут после оплодотворения икры. В ходе эксперимента у эмбрионов и предличинок регистрировали следующие показатели: количество погибших и живых особей, число уродств и время до выклева. Погибшую икру и личинок удаляли по мере их гибели. Эксперименты проводили в статических условиях, растворы ДМДС меняли каждые 48 ч.

Эксперименты по установлению острого токсического действия ДМДС для взрослых рыб проводили в двух-трех повторностях в пластиковых емкостях с 1 л культуральной воды на рыбах возрастом 4–6 мес обоих полов длиной 15–26 мм и массой 26.3–138.8 мг. Физико-химические характеристики воды были такие же, как при культивировании рыб и экспериментах на эмбрионах и предличинках. Эксперименты проводили в статических условиях, растворы ДМДС меняли каждые 48 ч. Продолжительность экспозиции в растворах ДМДС — 96 ч. Рыб в течение эксперимента не кормили. Регистрировали живых и погибших рыб, а также внешние симптомы отравления (двигательная активность, потемнение покровов, искривление позвоночника, пространственное распределение по объему аквариума, реакция на звуковой раздражитель). После окончания эксперимента у рыб измеряли длину тела до конца чешуйного покрова и взвешивали массу тела. Отдельных рыб (3–4 экз.) вскрывали для патологоанатомического обследования.

Для определения острой токсичности исследуемого вещества рассчитывали процент погибших в тестируемом растворе особей ( $A$ , %) по сравнению с контролем по формуле:

$$A = \frac{Xk - Xt}{Xk} \times 100\%,$$

где  $Xk$  — количество выживших особей в контроле,  $Xt$  — количество выживших особей в эксперименте.

Для оценки влияния ДМДС на взрослых рыб в условиях хронического эксперимента при экспозиции 30 сут проведено две серии опытов. В первой тестировались концентрации исследуемого вещества 0.01 мг/л и 0.1 мг/л, во второй — 1 и 5 мг/л. Контролем служили рыбы тех же размерно-массовых характеристик, которые содержались в воде без добавления вещества в одинаковых с опытными условиях.

Все варианты опыта ставили в двух повторностях, рыб кормили ежедневно с утра сухим кормом *Cornpens advance* (Alltech Cornpens GmbH Delle Weg, Германия). Во время смены воды кормление проводили не менее чем за 2 ч до смены воды.

В ходе экспериментов регистрировали выживаемость, нарушения покровов тела, изменения морфофизиологических параметров, поведение и клиническую картину отравления рыб, патологоанатомические показатели.

**Расчет значений ЛК<sub>50</sub>, ЭК<sub>50</sub>, ПК и МДК.** Расчет значений ЛК<sub>50</sub> (летальная концентрация, вызывающая 50% гибель тест-организмов) в острых и ЭК<sub>50</sub> (эффективная концентрация, которая вызывает ответ у половины (50%) организмов за определенный срок экспозиции) и МДК (максимально допустимая концентрация) в хронических опытах для всех тест-организмов проводили графическим методом пробит-анализа [Probit Analysis, 1952].

Для расчета токсикометрических параметров изначально строили линии регрессии по методу наименьших квадратов с использование данных эксперимента. При этом используется линейная зависимость, представленная в форме:

$$y = a + b \lg C,$$

где  $y$  — пробит (пробит определяется по таблице, в которой каждому проценту смертности или регистрируемому нелетальному эффекту соответствует определенное число

— пробит), а  $\lg C$  — десятичный логарифм от концентрации.

Значению ЛК<sub>50</sub> и ЭК<sub>50</sub> соответствует  $y=5$ , а для МДК  $y=2.67$  (минимальное возможное значение пробита при регистрируемом токсическом эффекте 1%). Подставляя соответствующие значения в уравнение, находили значения  $x$ , равные  $\lg C$ . Преобразуя значения  $\lg C$  в антилогарифм, находили значения соответствующих концентраций (мг/л). Пороговой считали минимальную использованную при тестировании концентрацию (ПК), превышающую МДК и вызывающую минимальный токсический эффект.

**Приготовление растворов ДМДС.** Маточный раствор ДМДС готовили объемным методом, исходя из известной плотности вещества 1.06 г/см<sup>3</sup>, что в перерасчете на объем составляет 0.943 мл/л, или 1 г/л. Для этого отмеряли расчетный объем. Различные концентрации ДМДС готовили из маточного раствора методом последовательного объемного ступенчатого разведения каждого последующего раствора из предыдущего.

Для приготовления маточных растворов ДМДС использовали культуральную холодную воду (8°C) с целью предотвращения потерь за счет испарения вещества, а для последующих концентраций — воду с комнатной температурой (24–25°C). Приготовление растворов проводили в закрытой лабораторной посуде при интенсивном и постоянном перемешивании на магнитной мешалке.

**Статистическая обработка результатов.** Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ( $\bar{x} \pm SE$ ). Различия между группами проверяли на нормальность распределения, сравнивали в пакете программ Statistica и Excel при уровне значимости  $p=0.05$ . Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости  $p=0.05$  [Sokal, Rohlf, 1995].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Токсичность ДМДС для зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*.** Результаты предварительного острого эксперимента свидетельствуют, что концентрация ДМДС 10 г/л вызывала подавление роста клеток зеленой водоросли хлорелла на 100% за 24 ч экспозиции. Снижение концентрации до 5 г/л подавляло рост клеток на 95.81% относительно контроля, 500 мг/л — 90.18%. Концентрация 100 мг/л оказалась нетоксичной, процентное отклонение от контроля составило 9.5% (табл. 1). При увеличении времени экспозиции до 72 ч при концентрации ДМДС 5 г/л рост клеток

прекращался, отклонение от контроля составило 96.76% (табл. 1). Снижение концентрации до 500 мг/л подавляло рост клеток на 92.76% относительно контроля. Концентрацию 100 мг/л при экспозиции 72 ч можно считать среднетоксичной, процентное отклонение от контроля составило 39.04% (табл. 1).

Для определения концентрации ДМДС, вызывающей 50% подавление роста клеток хлореллы и недействующей концентрации за 72 ч экспозиции был поставлен эксперимент с рядом более низких концентраций: 500, 100, 50, 10, 5 и 1 мг/л (табл. 2). По результатам

данного эксперимента концентрации ДМДС 50, 100 и 500 мг/л относятся к высокотоксичным, т.к. подавление роста клеток водорослей за время экспозиции составило 60.9, 74.4 и 84.1% контроля соответственно. Концентрацию 10 мг/л следует отнести к среднетоксич-

ным, процентное отклонение роста клеток водорослей от контроля было значимым и составило 42.5%. Концентрации 5 и 1 мг/л считали нетоксичными, отклонение от контроля составило 26.48 и 12.18% соответственно.

**Таблица 1.** Острая токсичность ДМДС в диапазоне концентраций 100 мг/л–10 г/л на прирост численности клеток водорослей *Ch. vulgaris*

**Table 1.** Acute toxicity of DMDS in the concentration range of 100 mg/L–10 g/L on the increase in the number of algae cells of *Ch. vulgaris*

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Экспозиция, ч Exposure, hours	Численность клеток водорослей, тыс. кл./мл The number of algae cells, thousand cells/ml			Среднее значение Average	Отклонение от контроля, % Deviation, %
		Повторность / Replication				
		1	2	3		
Контроль / Control 10000 5000 500 100	24	100	101	101	100.67±0.19	–
		0	0	0	0*	–100
		3.67	5	4	4.22±0.69*	–95.8
		10.67	10	9	9.89±0.28*	–90.2
90.33	93	90	91.10±0.54	–9.5		
Контроль / Control 5000 500 100	72	151.67	152	142	148.56±1.89	–
		5.67	4	4.67	4.78±0.28*	–96.76
		9.33	11.66	11.67	10.89±0.45*	–92.67
		85.33	98.67	87.67	90.56±2.37*	–39.04

**Примечание.** Здесь и далее “\*” — статистически значимое отклонение от контроля при  $p = 0.05$ .

**Note.** Here and further “\*” is a statistical significant deviation from the control at  $p = 0.05$ .

**Таблица 2.** Острая токсичность ДМДС в диапазоне концентраций 1–500 мг/л на прирост численности клеток водорослей *Ch. vulgaris*

**Table 2.** Acute toxicity of DMDS in the concentration range of 1–500 mg/L on the increase in the number of algae cells of *Ch. vulgaris*

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Экспозиция, ч Exposure, hours	Численность клеток водорослей, тыс. кл./мл The number of algae cells, thousand cells/ml			Среднее значение Average	Отклонение от контроля, % Deviation, %
		Повторность / Replication				
		1	2	3		
Контроль / Control 500 100 50 10 5 1	72	99.67	112.33	116.67	109.56±2.94	–
		20.33	17.66	14.33	17.44±1.0*	–84.08
		26	28.34	29.66	28±0.62*	–74.44
		42	41	45.66	42.88±0.82*	–60.86
		58.34	65.33	65.33	63±1.35*	–42.5
		84.66	76.33	80.66	80.55±1.39*	–26.48
		93.33	96	99.33	96.22±1.0	–12.18

Рассчитанное значение ЛК<sub>50</sub> по подавлению прироста численности клеток водорослей на 50% при действии ДМДС при экспозиции 72 ч составляет ЛК<sub>50</sub>=23.28 мг/л. Соответственно значение МДК вещества — 0.037 мг/л. ПК при этом равнялась 0.05 мг/л.

Для выявления хронического действия низких концентраций ДМДС на прирост клеток хлореллы был проведен эксперимент продолжительностью 14 сут и концентрациями вещества в диапазоне 0.05–5 мг/л (табл. 3). Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют, что при экспозиции 24 ч раствор ДМДС в концентрациях 0.1 и 0.5 мг/л оказыва-

ет слаботоксическое действие на прирост численности клеток в соответствии с критериями оценки токсичности веществ по этому показателю водорослей в анализируемой пробе относительно контроля. При этом степень подавления роста была незначительной. Увеличение экспозиции до 72 ч приводило к подавлению прироста клеток на 28–31% в концентрациях вещества 0.5–5 мг/л. Дальнейшее увеличение экспозиции до 7 сут не влияло на прирост клеток в концентрациях 0.5, 1 и 5 мг/л, а концентрации 0.05 и 0.1 оказывали слаботоксическое действие на прирост клеток, подавляя его на 13.09 и 11.52% соответственно.

**Таблица 3.** Хроническая токсичность ДМДС на прирост численности клеток водорослей *Ch. vulgaris***Table 3.** Chronic toxicity of DMDS on the increase in the number of algae cells of *Ch. vulgaris*

Концентрация, мг/л	Экспозиция, ч Exposure, hours	Численность клеток водорослей, тыс. кл./мл The number of algae cells, thousand cells/ml		Среднее значение Average	Отклонение от контроля, % Deviation, %
		Повторность / Replication			
		1	2		
Контроль / Control	24	37	34	35.5±1.06	–
5		41	28	34.5±4.59	–2.82
1		32	32	32±0	–9.86
0.5		30	31	30.5±0.35	–14.08
0.1		35	27	31±2.83	–12.68
0.05		33	41	37±2.8	+4.23
Контроль / Control	72	65	67	66±1.21	–
5		50	41	45.5±3.18*	–31.06
1		47	47	47±0.1*	–28.79
0.5		52	43	47.5±3.2*	–28.03
0.1		72	66	69±2.13	+4.54
0.05		64	69	66.5±1.77	+0.76
Контроль / Control	168 (7 сут)	100	91	95.5±3.2	–
5		66	68	67±1.21*	–29.84
1		74	68	71±2.12*	–25.65
0.5		71	79	75±2.83*	–21.47
0.1		86	83	84.5±1.1	–11.52
0.05		76	90	83±4.94	–13.09
Контроль / Control	336 (14 сут)	104	122	113±6.36	–
5		55	55	55±0*	–51.3
1		54	62	58±2.83*	–48.67
0.5		57	64	60.5±2.47*	–46.46
0.1		74	78	76±1.41*	–32.74
0.05		97	78	87.5±6.72	–22.57

При экспозиции 14 сут подавление прироста клеток во всех исследуемых концентрациях превышало 20% (табл. 3) и было значимым, за исключением концентрации 0.05 мг/л. Концентрация вещества 5 мг/л за период экспозиции оказывала высокотоксическое действие, подавляя рост клеток на 51.33%.

Учитывая все результаты хронического эксперимента по изменению численности клеток водорослей при действии различных концентраций ДМДС при экспозиции 14 сут, можно заключить, что при длительном воздействии концентрация вещества ниже 0.01 мг/л и ниже не будет оказывать токсического действия на хлореллу.

**Токсичность ДМДС для ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis*.** Зарегистрирована острая токсичность ДМДС для цериодафний в концентрации 100, 80 и 75 мг/л, т.е. гибель рачков за 48 ч экспозиции составила 100, 60 и 70% соответственно (табл. 4). При концентрации вещества 7.5 мг/л и ниже гибели рачков не наблюдали. Таким образом, рассчитанная концентрация, вызывающая гибель 50% цериодафний за 48 ч экспозиции, составляет ЛК<sub>50</sub>=52.48 мг/л.

**Таблица 4.** Острая токсичность ДМДС для цериодафний при экспозиции 48 ч**Table 4.** Acute toxicity of dimethyl disulfide to ceriodaphnia at 48-hour exposure

Концентрация ДМДС, мг/л Dimethyl disulfide concentration, mg/L	Гибель, %, 48 ч Mortality, %, 48 hours
100	100
80	60
75	70
50	40
25	26.67
10	3.33
7.5	0
5	0
2.5	0
1	0
Контроль / Control	0

При увеличении времени экспозиции до 10 сут (хронические эксперименты) отмечена гибель рачков выше допустимого методикой 20% уровня в концентрациях ДМДС 10, 25, 50 и 75 мг/л (табл. 5). В концентрации 75 мг/л гибель составляла 100%. Гибели рачков в диапазоне концентраций 0.05–5 мг/л как за 48 ч, так и за 10 сут экспозиции не наблюдали.

В концентрациях 7.5–75 мг/л зарегистрировано угнетение репродуктивных показателей. Число пометов на 1 самку не достигало средних значений, снижение среднего количества молоди на 1 самку составляло 44.1–99.5% по сравнению с контролем и было статистически значимым. В диапазоне концентраций 0.5–5 мг/л снижение плодовитости было <20% и статистически не значимо. В более низких концентрациях 0.1 и 0.05 мг/л отмечено не до-

стоверное увеличение плодовитости рачков на 7.5 и 10% соответственно (табл. 4).

Таким образом, рассчитанная методом пробит-анализа концентрация ДМДС, вызывающая снижение среднего количества молоди на одну самку цериодафний на 50% (эффективная концентрация) за 10 сут. экспозиции, составляет ЭК<sub>50</sub>=1.83 мг/л, значение МДК вещества — 1.01 мг/л. ПК ДМДС для цериодафний — 5 мг/л.

**Таблица 5.** Хроническая токсичность ДМДС для цериодафний при экспозиции 10 сут

**Table 5.** Chronic toxicity of dimethyl disulfide for ceriodaphnia at 10-day exposure

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Гибель, %, 10 сут Mortality, %, 10 days	Среднее число пометов на 1 самку Average number of broods per 1 female	Среднее кол-во молоди на 1 самку Average number of juveniles per 1 female	Токсичность пробы Toxicity of the sample
75	100	0.08	0.1±0*	ХТД
50	66.7	1.43	2.6±0.88*	ХТД
25	36.7	2.07	7.3±1.4*	ХТД
10	23.3	1.97	10.4±0.7*	ХТД
7.5	3.3	2.53	15.6±0.5*	ХТД
5	0	2.86	15.37±0.86	НТ
2.5	0	2.93	18.1±0.77	НТ
1	0	2.93	17.53±0.85	НТ
0.5	0	3	19.03±0.82	НТ
0.1	0	3	20.53±0.63	НТ
0.05	0	3	20.0±0.72	НТ
Контроль / Control	0	3.2	18.6±0.81	–

**Примечание.** ХТД — хроническое токсическое действие, НТ — токсичность отсутствует, “\*” — снижение плодовитости статистически значимо по сравнению с контролем (ANOVA, LSD-test,  $p \leq 0.05$ ).

**Note.** ХТД — a chronic toxic effect, НТ — toxicity is absent, “\*” — the decrease in fertility is statistically significant compared to the control (ANOVA, LSD-test,  $p \leq 0.05$ ).

**Острая токсичность ДМДС для рыб *Danio rerio*.** Для взрослых рыб зарегистрирована абсолютная острая токсичность (гибель 100%) ДМДС в концентрации 50 мг/л и выше. В ряду концентраций 20–45 мг/л гибель рыб за 96 ч экспозиции составила 10–80% соответственно (табл. 6). При концентрациях 10 и 15 мг/л гибели рыб не наблюдали. Графическим методом пробит-анализа установлено, что концентрация, вызывающая 50% гибель взрослых рыб данио за 96 ч экспозиции, составляет ЛК<sub>50</sub>=31.27, МДК=12.94, а ПК=20 мг/л.

Для икры рыб при экспозиции 96 ч зарегистрирована абсолютная (гибель 100%) острая токсичность ДМДС в концентрации 40 мг/л и выше (табл. 7). В ряду концентраций 25–35 мг/л гибель икры за 96 ч экспозиции составила 14.2–82.8% соответственно (табл. 7). При концентрации 20 мг/л и ниже гибели икры не наблюдали (0%).

Установлено, что концентрация ДМДС, вызывающая гибель 50% икры рыб данио за 96 ч экспозиции, составляет

ЛК<sub>50</sub>=29.38 мг/л. Соответственно значение МДК вещества по показателю выживаемость составляет 20.57 мг/л, ПК — 25 мг/л.

**Таблица 6.** Острая токсичность ДМДС для рыб данио при экспозиции 96 ч.

**Table 6.** Acute toxicity of dimethyl disulfide for danio adult fish at 96 h exposure

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Гибель, % Mortality, %
Контроль / Control	0
10	0
15	0
20	10
25	27.7
30	50.0
35	66.6
40	73.3
45	80
50	100
55	100
60	100

**Таблица 7.** Острая токсичность ДМДС для икры рыб при экспозиции 96 ч**Table 7.** Acute toxicity of dimethyl disulfide for fish roe at 96 h exposure

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Гибель, % Mortality, %
Контроль / Control	0
10	0
20	0
25	14.2
28	31.9
30	50.4
32	71.0
35	82.8
40	100.0
50	100.0

**Таблица 8.** Острая токсичность ДМДС для предличинок рыб при экспозиции 192 ч.**Table 8.** Acute toxicity of dimethyl disulfide for fish larvae at exposure of 192 h.

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Смертность, % Mortality, %
Контроль / Control	0
10	0
20	0
25	5.8
28	19.0
30	40.4
32	96.7
35	95.6
40	100.0
50	100.0

**Таблица 9.** Гибель *D. rerio* в хроническом эксперименте (экспозиция 30 сут)**Table 9.** Mortality of *D. rerio* in a chronic experiment (exposure 30 days)

Концентрация, мг/л Concentration, mg/L	Количество рыб (экз.) Number of fish (ind.)	Гибель, % Mortality, %
0 (контроль 1)	20	0
0.01	20	0
0.1	20	0
0 (контроль 2)	20	0
1	20	0
5	20	10

После выклева предличинок экспонировали в растворах вещества еще 96 ч до перехода на экзогенное питание. Для предличинок при общей экспозиции 192 ч зарегистрирована абсолютная острая токсичность (гибель 100%) ДМДС в концентрации 40 мг/л и выше. В ряду концентраций 25–35 мг гибель предличинок за 192 ч экспозиции составила 5.8–95.6% соответственно (табл. 8). При концентрациях 10 и 20 мг/л гибели икры не наблюдали (0%).

Концентрация ДМДС, вызывающая гибель 50% предличинок рыб данио за 192 ч экспозиции, составляет ЛК<sub>50</sub>=28.9 мг/л. Соответственно значение МДК вещества по показателю выживаемость составляет 21.3 мг/л, ПК — 25 мг/л.

**Хроническая токсичность ДМДС для рыб *D. rerio*.** Действие ДМДС изучали в хронических опытах продолжительностью 30 сут.

*Патоморфологические и патологоанатомические изменения.* Внешний осмотр рыб не выявил отличий от контроля при концентрациях действующего вещества 0.01, 0.1 и 1 мг/л. Покровы тела гладкие, чешуя не взъерошена, узор на теле хорошо выражен, жабры розовые. При концентрации 1 мг/л у 2 рыб из 20 окраска была более светлой, а рисунок на теле слабо выраженным. В 5 мг/л, напротив, у 50% рыб окраска тела оказалась более темной по отношению к контрольным. У 1 особи отмечено искривление хвостового стебля в дистальной части (см. рисунок).

**Рисунок.** Искривление хвостового стебля рыбы в дистальной части после экспозиции 30 сут в растворе ДМДС с концентрацией 5 мг/л.

**Figure.** Curvature of the caudal stem of the fish in the distal part after exposure for 30 days in a dimethyl disulfide solution with a concentration of 5 mg/L.

Результаты осмотра внутренних органов показали, что селезенка ярко-красная, у 5% рыб (1 из 20) при концентрациях вещества 0.01 и 0.1 мг/л отмечена более крупная селезенка, у 2 особей при концентрации 1 мг/л она была темно-красной, у 1 особи в 5 мг/л маленькой и у 1 — более крупной, чем у контрольных особей. Печень у всех рыб была светло розовой, у 2 особей при 5 мг/л — более светлой. Желчный пузырь у всех рыб был некрупным, с прозрачным светло-желтым содержимым, кишечник наполнен пищевой массой.

Выживаемость при экспозиции рыб в течение 30 сут в растворах ДМДС не отличалась от контроля. Максимальная гибель 10% зарегистрирована при концентрации 5 мг/л (табл. 9).

Таким образом, по патоморфологическим и патоанатомическим критериям и гибели при хроническом действии ДМДС на рыб пороговой является концентрация вещества 5.0 мг/л, МДК составляет 1.0 мг/л.

Рассчитанные значения  $LK_{50}$  сложно сравнивать между собой, поскольку продолжительность острых экспериментов была неодинаковой: от 48 до 96 часов. В данном случае более показательна МДК вещества. Тест-организмы, использованные в работе,

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Работ, посвященных токсичности ДМДС на гидробионтов различной систематической принадлежности, немного. Поэтому трудно сравнивать результаты различных исследований, поскольку некоторые из них были разработаны для наблюдения за воздействием определенных концентраций, в других сообщается только о летальных или средних летальных концентрациях, а продолжительность воздействия могла быть неодинаковой для каждой концентрации [Селюжинский, 1972 (Celyuzhinskij, 1972); Мещачкова, Бенеманский, 2005 (Meshchakova, Benemanskij, 2005); Ljunggren, Norberg, 2008].

Установлено, что при добавлении ДМДС в среду происходили изменения в микробном сообществе. Обнаружено, что *Thioalkalibacter halophilus* обладает высокой устойчивостью к повышенным концентрациям ДМДС ( $2.37 \pm 0.10$  ммоль/л). Кроме того, наблюдалось сокращение численности доминирующего вида *Th. sulphidifilus* и был обнаружен *Alkalilimnicola ehrlichii* [Kiragosyan et al., 2020]. Грамположительный факультативный анаэроб в форме палочки, идентифицированный как *Bacillus cereus* GIGAN 2 может эффективно удалять ДМДС в водном растворе в аэробных условиях. При этом начальная концентрация, значение pH и температура играют важную роль в биодegradации ДМДС, в растворе с концентрацией 10 мг/л при оптимальных условиях (30°C, pH 7.0) может быть удалено до 100% вещества в течение 96 ч [Liang et al., 2015].

Мутагенная активность ДМДС оценена с помощью бактериологического анализа обратной мутации, проведенного в соответствии с OECD TG 471 с использованием стандартного метода внесения в планшеты. Штаммы *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 и TA1537, а также штамм *Escherichia coli* WP2uvrA обрабатывали ДМДС в диметилсульфоксиде в концентрациях <5000 мкг/таблетку. Ни в одной из тестируемых концентраций не наблюдалось увеличения среднего количества ревертантных колоний т.е. в условиях ис-

располагались в следующем порядке по возрастанию МДК: *Chlorella vulgaris* → *Ceriodaphnia affinis* → взрослые *Danio rerio* → икра *D. rerio* → предличинки *D. rerio*. Изменение численности клеток зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* — наиболее чувствительная тест-функция, затем в равной степени — плодовитость ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* и патоморфологические и патоанатомические изменения у рыб *Danio rerio*.

следования ДМДС не обладал мутагенностью в тесте Эймса [ЕСНА, 2010].

В ходе микроядерного теста *in vivo*, проведенного в соответствии с требованиями OECD TG 474 была оценена кластогенная активность ДМДС. Исследуемый материал вводили в виде аэрозоля путем ингаляции группам самцов и самок крыс. Вводили дозы 175, 350 и 700 мг/кг. Мышей после каждого уровня дозы усыпляли через 72 ч, извлекали костный мозг и исследовали его на наличие полихроматических эритроцитов. Исследуемый материал не вызывал статистически значимого увеличения количества полихроматических эритроцитов с микроядрами в костном мозге [ЕСНА, 2012]. ДМДС был признан не кластогенным в микроядерном тесте *in vivo*. Исходя из имеющихся данных, ДМДС не вызывает опасений в отношении генотоксического потенциала.

В паспорте безопасности вещества показаны его летальные концентрации для водорослей, беспозвоночных и рыб. При экспозиции 96 ч  $LK_{50}$  для *Danio rerio* составляет 5.01, *Cyprinodon variegatus* — 5.6, *Salmo salar* — 1.75 мг/л. При экспозиции 48 ч  $ЭК_{50}$  для *Daphnia magna* — 7 мг/л. Концентрации, при которых не наблюдается токсичный эффект для рыб <2.7 мг/л, водорослей (вид конкретно не указан) — 6.7 мг/л, диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* — 3.9 мг/л, ветвистоусого рачка *D. magna* — 1.82 мг/л, мизиды *Mysidopsis bahia* — 5 мг/л. Отмечено, что ДМДС не является легко биоразлагаемым веществом и может быть токсичен для водных организмов с долгосрочными последствиями [Паспорт безопасности..., 2010 (Pasport bezopasnosti..., 2010)].

Полученные нами результаты по острой токсичности ДМДС отличаются от представленных в паспорте безопасности вещества. Возможно, это связано с низкой устойчивостью вещества к действию физико-химических факторов и высокой скоростью его разложения в окружающей среде. В работе Танга с соавторами показано, что 92% разложения ДМДС

в почве происходит в течение первого часа после применения фумиганта [Tang et al., 2023]. Установлено, что в течение трех суток происходит снижение содержания ДМДС в воде на 53.5% [Отчет о научно-исследовательской..., 2023 (Otchet o nauchno-issledovatel'skoj..., 2023)].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлены диапазоны концентраций ДМДС от недействующей до вызывающей гибель 100%: для клеток хлореллы за время экспозиции 72 ч и цериодафний — за 48 ч экспозиции, для рыб — за 96 ч, составляющие 1–500, 10–100 и 10–80 мг/л соответственно. Рассчитаны значения ЛК<sub>50</sub> — концентрации, подавляющие на 50% прирост клеток хлореллы за 72 ч, вызывающая гибель 50% цериодафний за 48 ч экспозиции, икры, предличинок и взрослых рыб за 96 ч экспозиции, равные 23.28, 52.48, 29.38, 28.92 и 31.27 мг/л соответственно.

Таким образом, получены новые данные о влиянии ДМДС на гидробионты различной систематической принадлежности, выполненные в один и тот же период времени в одной лаборатории: водоросли, ветвистоусые рачки, разные стадии онтогенеза рыб.

При хроническом действии ДМДС на прирост клеток водоросли *Chlorella vulgaris* пороговой является концентрация вещества 0.05 мг/л, среднее число молодежи на 1 самку *Ceriodaphnia affinis* — 5.0 мг/л, возникновение патоморфологических и патоанатомических изменений у взрослых рыб *Danio rerio* — 5.0 мг/л.

Установленные токсикологические параметры могут быть использованы для определения класса опасности и корректировки нормативов содержания ДМДС в воде.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по темам “Роль абиотических и биотических факторов в формировании физиолого-биохимических и иммунологических показателей гидробионтов” (№124032500015-7) и “Физиолого-биохимические и иммунологические реакции гидробионтов под действием биотических и абиотических факторов окружающей среды” (№121050500046-8), а также при частичной финансовой поддержке в ходе выполнения НИОКР по теме “Разработка научно-обоснованного норматива предельно-допустимой концентрации на диметилдисульфид для водоемов рыбохозяйственного значения (исследования на фитопланктоне, зоопланктоне и рыбах)” по договору с ООО “ЭкоСервис-А” (г. Москва) от 22.03.2023 г.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бейм А.М. Эколого-токсикологические критерии регламентации метилсернистых соединений в сточных водах сульфат-целлюлозного производства. М.: ВНИПИЭИлеспрот. 1984. Вып. 8. 34 с.
- Дюсенгалиев К.И., Сагинаева А.Т., Кулбатыров Д.К. и др. Физико-химические характеристики субститутов дисульфидного масла углеводородного сырья // Нефтегазовое дело. 2016. № 5. С. 125–139. DOI: 10.17122/ogbus-2016-5-125-139.
- Коптяев В.Г. Экспериментальные данные по обоснованию предельно допустимой концентрации диметилсульфида в водоемах // Гигиена и санитария. 1967. Т. 32(3). С. 3–7.
- Методика биотестирования токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. Федеральные реестр (ФР). ФР 1.39.2007.03221. М.: АКВАРОС. 2007. 56 с.
- Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2007.03223. М.: АКВАРОС. 2007. 47 с.
- Методы испытания химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Острая токсичность для эмбрионов рыбы. (OECD, Test No. 236:2013, MOD). М.: “Стандартинформ”. 2016. 30 с.
- Методы оценки токсического влияния фитоценозов планктона на формирование качества поверхностных вод суши. Ростов на Дону: Росгидромет, 2014. 43 с.
- Мещакова Н.М., Бенеманский В.В. Оценка биологического действия диметилдисульфида с учетом специфических отдаленных эффектов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2005. № 2(40). С. 209–212.
- Обзор рынка дисульфидного масла в России: аналит. обзор, август 2012 г. Исследовательская группа “Инфомайн”. М.: Инфомайн, 2012, 107 с.
- Отчет о научно-исследовательской работе по теме: “Разработка научно-обоснованного норматива предельно-допустимой концентрации (ПДК) на диметилдисульфида для водоемов рыбохозяйственного значения”. Бюрок. 2023. 71 с.
- Паспорт безопасности диметилдисульфида (№ 004111-001 (версия 4.0). ARKEMA France, 2010. 9 с.

- Селюжицкий Г.В. Экспериментальные данные к обоснованию ПДК метилмеркаптана, диметилсульфида и диметилдисульфида в воздухе рабочей зоны целлюлозно-бумажных предприятий // Гигиена труда. 1972. № 6. С. 46–47.
- Селюжицкий Г.В., Гарбуз А.М., Кандыбор Н.П. и др. Гигиена труда в целлюлозно-бумажной промышленности. М.: Лесная промышленность, 1989. 216 с.
- Chamorro M., Seijo T.E., Noling J.C. et al. Efficacy of fumigant treatments and inoculum placement on control of *Macrophomina phaseolina* in strawberry beds // *Crop Prot.* 2016. Vol. 90. P. 163–169. DOI: 0.1016/j.cropro.2016.08.020.
- Conkle J.L., Cabrera J.A., Thomas J.E. et al. Effects of CO<sub>2</sub> dissolution on phase distribution and degradation of dimethyl disulfide in soils under grape production // *Pest. Manage Sci.* 2016. Vol. 72(2). P. 349–353. DOI: 0.1002/ps.4004.
- ECHA, 2010. Dimethyl Disulfide Registration Dossier. (<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13671>).
- ECHA, 2012. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, November 2012. Vol. 2.1. <http://echa.europa.eu/>.
- Gómez-Tenorio M.A., Zanón M.J., de Cara M. et al. Efficacy of dimethyl disulfide (DMDS) against *Meloidogyne* sp. and three formae speciales of *Fusarium oxysporum* under controlled conditions // *Crop Prot.* 2015. Vol. 78. P. 263–269. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.09.013.
- Kiragosyan K., Picard M., Sorokin D. et al. Effect of dimethyl disulfide on the sulfur formation and microbial community composition during the biological H<sub>2</sub>S removal from sourgas streams // *J. Hazard. Mater.* 2020. Vol. 386. P. 121916. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121916.
- Liang Z., An T., Li G., Zhang Z. Aerobic biodegradation of odorous dimethyl disulfide in aqueous medium by isolated *Bacillus cereus* GIGAN2 and identification of transformation intermediates // *Bioresour. Technol.* 2015. Vol. 175. P. 563–568. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.11.002.
- Ljunggren G., Norberg B. On the Effect and Toxicity of Dimethyl Sulfide, Dimethyl Disulfide and Methyl Mercaptan // *Acta Physiol.* 2008. № 5(2–3). P. 248–255. DOI: 10.1111/j.1748-1716.1943.tb02053.x.
- Mao L., Yan D., Wang Q. et al. Evaluation of the combination of dimethyl disulfide and dazomet as an efficient methyl bromide alternative for cucumber production in China // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62(21). P. 4864–4869. DOI: 10.1021/jf501255w.
- Mount D.I., Norberg T.J. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test // *Environ. Toxicol. Chem.* 1984. Vol. 3. P. 425–434.
- Probit Analysis: A Statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve (ed. D. J. Finney). NY-London: Cambridge Univ. Press, 1952. 318 p.
- Rupp T., Oelschlagel B., Rabitsch R. et al. Flowers of Deceptive *Aristolochia microstoma* Are Pollinated by Phorid Flies and Emit Volatiles Known From Invertebrate Carrion // *Front. Ecol. Evol., Sec. Chemical Ecology.* 2021. Vol. 9. Article 658441. DOI: 10.3389/fevo.2021.658441.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY.: W.H. Freeman and Co, 1995. 887 p.
- Stensmyr M.C., Urru I., Collu I. et al. Rotting smell of dead — horse arum florets // *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 625–626. DOI: 10.1038/420625a.
- Tang X., Cao A., Zhang Y. et al. Effects of soil factors on dimethyl disulfide desorption and the risk of phytotoxicity to newly-planted seedlings // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2023. Vol. 262. P. 115313. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2023.115313.
- Yan D., Cao A., Wang Q. et al. Dimethyl disulfide (DMDS) as an effective soil fumigant against nematodes in China // *PLoS ONE.* 2019. Vol. 14(10). P. e0224456. DOI: 10.1371/journal.pone.0224456.
- Yu J., Land C.J., Vallad G.E., Boyd N.S. Tomato tolerance and pest control following fumigation with different ratios of dimethyl disulfide and chloropicrin // *Pest. Manage Sci.* 2019. Vol. 75(5). P. 1416–1424. DOI: 10.1002/ps.5262.

## REFERENCES

- Bejm A.M. Ekologo-toksikologicheskie kriterii reglamentacii metilsernistyh soedinenij v stochnyh vodah sulfat-cellyuloznogo proizvodstva [Ecological and toxicological criteria for the regulation of methyl sulfur compounds in wastewater from sulfate-cellulose production]. М., VNIPIELlesprom, 1984, vyp. 8. 34 p. (In Russian)
- Chamorro M., Seijo T.E., Noling J.C. et al. Efficacy of fumigant treatments and inoculum placement on control of *Macrophomina phaseolina* in strawberry beds. *Crop Prot.*, 2016, vol. 90, pp. 163–169. doi: 10.1016/j.cropro.2016.08.020.
- Conkle J.L., Cabrera J.A., Thomas J.E. et al. Effects of CO<sub>2</sub> dissolution on phase distribution and degradation of dimethyl disulfide in soils under grape production. *Pest. Manage Sci.*, 2016, vol. 72(2), pp. 349–353. doi: 10.1002/ps.4004.
- Dyusengaliev K.I., Saginaeva A.T., Kulbatyrov D.K. et al. Fiziko-himicheskie harakteristiki substitov disul'fidnogo masla uglevodorodnogo syr'ya [Physico-chemical characteristics of the crude disulfide oil substitutes]. *Neftegazovoe delo*, 2016 no. 5, pp. 125–139. doi: 10.17122/ogbus-2016-5-125-139. (In Russian)
- ECHA, 2010. Dimethyl Disulfide Registration Dossier. (<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13671>).
- ECHA, 2012. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. (<https://echa.europa.eu/guidance-documents>).
- Gómez-Tenorio M.A., Zanón M.J. et al. Efficacy of dimethyl disulfide (DMDS) against *Meloidogyne* sp. and three formae speciales of *Fusarium oxysporum* under controlled conditions. *Crop Prot.*, 2015, vol. 78, pp. 263–269. doi: 10.1016/j.cropro.2015.09.013.

- Kiragosyan K., Picard M., Sorokin D. et al. Effect of dimethyl disulfide on the sulfur formation and microbial community composition during the biological H<sub>2</sub>S removal from sourgas streams. *J. Hazard. Mater.*, 2020, vol. 386, pp. 121916. doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121916.
- Koptyaev V.G. Eksperimental'nye dannye po obosnovaniyu predel'no dopustimoy koncen-tracii dimetilsul'fida v vodoyomah [Experimental data on the justification of the maximum permissible concentration of dimethyl sulfide in reservoirs]. *Gigiena i sanitariya*, 1967, vol. 32(3), pp. 3–7. (In Russian)
- Liang Z., An T., Li G., Zhang Z. Aerobic biodegradation of odorous dimethyl disulfide in aqueous medium by isolated *Bacillus cereus* GIGAN2 and identification of transformation intermediates. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 175, pp. 563–568. doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.002.
- Ljunggren G., Norberg B. On the Effect and Toxicity of Dimethyl Sulfide, Dimethyl Disulfide and Methyl Mercaptan. *Acta Physiol.*, 2008, vol. 5, no. 2–3, pp. 248–255. doi: 10.1111/j.1748-1716.1943.tb02053.x.
- Mao L., Yan D., Wang Q. et al. Evaluation of the combination of dimethyl disulfide and dazomet as an efficient methyl bromide alternative for cucumber production in China. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, no. 21, pp. 4864–4869. doi: 10.1021/jf501255w.
- Meshchakova N.M., Benemanskij V.V. Ocenka biologicheskogo dejstviya dimetildisul'fida s uchetom specificheskikh otdalennyh effektov [Biological influence assessment of dimethylsulfide taking into account specific postponed effects]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii medicinskih nauk*, 2005, no. 2 (40), pp. 209–212. (In Russian)
- Metodika biotestirovaniya toksichnosti vody i vodnyh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnyh vod i othodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti ceriodafnij [The method of biotesting the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge and waste on mortality and changes in the fertility of ceriodaphnia]. Federal'nye reestr (FR). FR 1.39.2007.03221. Moscow, AKVAROS, 2007. 56 p. (In Russian)
- Metodika opredeleniya toksichnosti vod, vodnyh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnyh vod i othodov po izmeneniyu urovnya fluorescencii hlorofilla i chislennosti kletok vodoroslej [A method for determining the toxicity of waters, water extracts from soils, sewage sludge and waste by changing the level of chlorophyll fluorescence and the number of algae cells]. Federal'nyj reestr (FR) FR.1.39.2007.03223. Moscow, AKVAROS. 2007. 47 p. (In Russian).
- Metody ispytaniya himicheskoy produkcii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Ostraya toksichnost' dlya embrionov ryby. (OECD, Test No. 236:2013, MOD) [Methods of testing chemical products that pose a danger to the environment. Acute toxicity to fish embryos. (OECD, Test No. 236:2013, MOD)]. Moscow: “Standartinform”, 2016. 30 p. (in Russian).
- Metody ocenki toksicheskogo vliyaniya fitocenozov planktona na formirovanie kachestva poverhnostnyh vod sushi [Methods for assessing the toxic effect of phytocenoses of plankton on the formation of the quality of surface waters]. Rostov-on-Don, Rosgidromet, 2014. 43 p. (in Russian).
- Mount D.I., Norberg T.J. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1984, vol. 3, pp. 425–434.
- Obzor rynka disul'fidnogo masla v Rossii: analit. obzor [Overview of the disulfide oil market in Russia: Analyte review]. Issledovatel'skaya gruppa “Infomajn”. Moscow, Infomajn, 2012. 107 p. (In Russian)
- Otchet o nauchno-issledovatel'skoj rabote po teme: “Razrabotka nauchno-obosnovannogo normativa predel'no-dopustimoy koncentracii (PDK) na dimetildisul'fid dlya vodoemov rybohozyajstvennogo znacheniya” [Report on the research work on the topic: “Development of a scientifically based standard of maximum permissible concentration (MPC) for dimethyl disulfide for reservoirs of fishery importance]. Borok. 2023. 71 p. (In Russian)
- Pasport bezopasnosti dimetildimul'fida (nomer 004111-001 (versiya 4.0). ARKEMA France. 2010. 9 p.
- Probit Analysis: A Statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve (ed. D. J. Finney). NY.-London, Cambridge Univ. Press, 1952. 318 p.
- Rupp T., Oelschlagel B., Rabitsch R. et al. Flowers of Deceptive *Aristolochia microstoma* Are Pollinated by Phorid Flies and Emit Volatiles Known From Invertebrate Carrion. *Front. Ecol. Evol.*, Sec. Chemical Ecology, 2021, vol. 9, article 658441. doi: 10.3389/fevo.2021.658441.
- Selyuzhickij G.V. Eksperimental'nye dannye k obosnovaniyu PDK metilmerkaptana, dimetilsul'fida i dimetildisul'fida v vozduhe rabochej zony cellyulozno-bumazhnyh predpriyatij [Experimental data to substantiate the MPC of methyl mercaptan, dimethyl sulfide and dimethyl disulfide in the air of the working area of pulp and paper enterprises]. *Gigiena truda*, 1972, no. 6, pp. 46–47. (In Russian)
- Selyuzhickij G.V., Garbuz A.M., Kandybor N.P. et al. Gigiena truda v cellyulozno-bumazhnoj promyshlennosti [Occupational hygiene in the pulp and paper industry]. Moscow, Lesnaya promyshlennost', 1989. 216 p. (In Russian)
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY., W.H. Freeman and Co, 1995. 887 p.
- Stensmyr M.C., Urru I., Collu I., Celandier M., Hansson B.S., Angioy A.M. Rotting smell of dead — horse arum florets. *Nature*, 2002, vol. 420, pp. 625–626. doi: 10.1038/420625a.
- Tang X., Cao A., Zhang Y., et al. Effects of soil factors on dimethyl disulfide desorption and the risk of phytotoxicity to newly-planted seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2023, vol. 262, pp. 115313. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115313.
- Yan D, Cao A, Wang Q, Li Y, Canbin O, Guo M, et al. Dimethyl disulfide (DMDS) as an effective soil fumigant against nematodes in China. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14(10), e0224456. doi: 10.1371/journal.pone.0224456.

Yu J., Land C.J., Vallad G.E., Boyd N.S. Tomato tolerance and pest control following fumigation with different ratios of dimethyl disulfide and chloropicrin. *Pest Manage Sci.*, 2019, vol. 75(5), pp. 1416–1424. doi: 10.1002/ps.5262.

## THE EFFECT OF DIMETHYL DISULFIDE ON BIOLOGICAL INDICATORS OF TEST-ORGANISMS OF DIFFERENT SYSTEMATIC GROUPS

**G. M. Chuiko<sup>1,\*</sup>, I. I. Tomilina<sup>1,\*\*</sup>, N. S. Shevchenko<sup>1</sup>,  
O. A. Ugarova<sup>1</sup>, E. I. Golovkina<sup>1</sup>, M. V. Medyankina<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: \*gchuiko@ibiw.ru, \*\*i\_tomilina@mail.ru*

<sup>2</sup>*Moscow State University of Technology and Management named after K.G. Razumovsky,  
109004 Moscow, Zemlyanoy Val str., 73*

Revised 11.11.2024

New data on the effect of dimethyl disulfide on hydrobionts of different systematic groups were obtained. The threshold concentrations of DMDS, established with the chronic effect of DMDS on the growth of cells of the algae *Chlorella vulgaris* — 0.05 mg/L, on the reproductive parameters of *Ceriodaphnia affinis* — 5.0 mg/L, the occurrence of pathomorphological and pathoanatomic changes in adult fish *Danio rerio* — 5.0 mg/L. The change in the number of cells of the green algae *Chlorella vulgaris* is the most sensitive test function. The established toxicological parameters can be used to determine the hazard class and adjust the standards for the content of DMDS in water.

*Keywords:* dimethyl disulfide, algae, crustaceans, fish, toxicity



Научное издание

**Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
вып. 108(111), 2024 г.**

*Рекомендуемый вариант цитирования статей:*

... // Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2024. Вып. 108(111). С. ...

*Recommended option for citing articles:*

... // Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, 2024. Is. 108(111). P. ...

Подписано в печать 20.12.2024. Формат 60×90 1/8.

Усл. печ. л. 9. Заказ № 23117. Тираж 100 экз.

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии ООО “Филигрань”  
150049, г. Ярославль, ул. Свободы, 91, [pechataet@bk.ru](mailto:pechataet@bk.ru)