

## 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

С. В. Холодкевич<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки “Санкт-Петербургский  
Федеральный исследовательский центр Российской академии наук”,

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр  
экологической безопасности Российской академии наук,  
197110, Россия, г. Санкт-Петербург, Корпусная ул., д. 18

<sup>2</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: kholodkevich@ibiw.ru

Поступила в редакцию 20.09.2022

Кратко рассмотрено современное состояние концепции здоровья водных экосистем и основных методов и технологий (преимущественно – инструментальных) его оценки. Рассмотрены данные, полученные при исследовании здоровья экосистем нескольких рекреационных акваторий Черного моря, восточной части Финского залива (на примере ряда акваторий Севастополя, нескольких пресноводных акваторий Курортного района г. Санкт-Петербурга, расположенных вдоль северного побережья восточной части Финского залива), а также нескольких протоков дельты р. Волги. Оперативная оценка здоровья экосистем проводилась с использованием инновационной технологии биомониторинга – путем тестирования здоровья обитателей в них взрослых особей двустворчатых моллюсков методом функциональной нагрузки на основе анализа их кардиоритма, измеряемого с помощью системы биоэлектронной волоконно-оптической БиоАргус. Установлено, что функциональное состояние моллюсков может служить индикатором сверхнормативных загрязнений прибрежных вод объектами, сбрасывающими недостаточно очищенные бытовые стоки своих локальных очистных сооружений. С учетом достаточно высокой экспрессности и простоты применения, данная технология может эффективно применяться для решения задач скрининговых исследований и ранней диагностики состояния водных экосистем, а также служить информационной основой для выработки регионально ориентированных, научно-обоснованных природоохранных управленческих решений. Недавно автоматизированная система БиоАргус была метрологически аттестована на тип (Приказ Росстандарта № 2702 от 27.10.2022 об утверждении типов средств измерений). Последнее открыло законное право использовать эту измерительную систему на городских предприятиях водоснабжения и водоотведения, а также разрабатывать различные региональные сертифицированные методики и технологии оценки экологического состояния (здоровья) водных экосистем, основанные на использовании систем БиоАргус в качестве измерительного средства.

*Ключевые слова:* биомониторинг, биомаркеры, функциональное состояние животных, биоиндикация, здоровье водных экосистем, частота сердечных сокращений моллюсков.

DOI: 10.47021/0320-3557-2022-97-118

### ВВЕДЕНИЕ

На фоне растущего антропогенного воздействия во всем мире снижается ценность многих морских и пресноводных акваторий, в том числе рекреационных водных объектов. Одной из основных проблем при этом является поступление в акватории значительного количества неочищенных или недостаточно очищенных сточных вод от локальных и диффузных источников. Попадающие в акватории биогены, тяжелые металлы, синтетические поверхностно-активные вещества, хлор- и фторсодержащие соединения и другие загрязнители изменяют их как количественные, так и качественные экологические характеристики. Развиваются процессы эвтрофирования водоемов, происходит образование аноксических и гипоксических зон, накопление токсикантов

в гидробионтах и грунтах, повышается уязвимость водных организмов и экосистем в целом к токсическим химическим веществам, снижается их способность восстанавливаться, изменяется их поведение.

В настоящее время на большинстве континентов почти невозможно находить водные объекты, не подверженные антропогенным изменениям, в то время как высокое качество воды – необходимое условие сохранения не только здоровья населения, но и биоразнообразия водных экосистем, а также эстетического и рекреационного потенциала акваторий. Для водных организмов снижение качества воды особенно значимо, так как оно ведет к ухудшению условий обитания, снижению адаптивных возможностей и выживаемости

отдельных организмов, а в некоторых случаях и к исчезновению популяций, деградации сообществ или целых экосистем, что неизбежно снижает уровень экосистемных услуг для человека.

В связи с этим возникает необходимость оценивать возможность использования морских и пресноводных акваторий в рекреационных целях и определять уровень антропогенной нагрузки на водные объекты, который бы не превышал экологический риск и создавал бы комфортные условия для экологии человека в данном регионе. В частности, крайне высокая динамичность антропогенных процессов, особенно в период массового наплыва отдыхающих, предъявляет особые требования к скорости выявления нежелательных воздействий и быстроте принятия адекватных природоохранных мер, что принципиально необходимо для обеспечения экологической безопасности прибрежных акваторий, широко используемых в качестве пляжей в теплое время года. Это обуславливает необходимость создания и внедрения экспресс-методов диагностики экологического состояния поверхностных вод на основе разработки и использования так называемых “Систем раннего биологического предупреждения” (СРБП), позволяющих оперативно (в течение нескольких минут или даже в режиме *on-line*) выявлять участки “экологического неблагополучия”. Последнее наиболее достоверно может определяться по уровню воздействия антропогенной нагрузки на функциональное состояние, здоровье местных видов гидробионтов, как наиболее объективных и надежных экологических индикаторов качества среды их обитания.

Для обоснования рационального природопользования необходим объективный прогноз последствий воздействия, а также эффективный мониторинг текущего состояния экосистем. Изменения в экосистемах происходят непрерывно, поэтому необходимо знать, допустимы ли они, то есть находятся ли в пределах нормы или свидетельствуют об отклонении от нее. Ответить на этот вопрос помогает такое

понятие как “здоровье экосистемы”, которое в последние годы активно используется в научной литературе при интегральных оценках последствий загрязнения окружающей среды. Проявление физиологических изменений и патологических состояний организмов отражают неблагоприятное “здоровье” экосистемы, следовательно, неблагоприятное состояние экосистем [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)].

Для того чтобы грамотно управлять водопользованием антропогенно затронутых экосистем, очень важно, в первую очередь, иметь максимально полную информацию о здоровье данных систем. Для этих целей важно определить соответствующий экологический инструментарий, включающий ряд методов биоиндикации на разных объектах, который позволит давать адекватную информацию о состоянии прибрежных морских и пресноводных акваторий, возможности их использования в рекреационных целях с соблюдением соответствующих норм экологической безопасности. Успешное решение этой задачи позволит предложить практические рекомендации для создания как универсальных, так и регионально-ориентированных мониторинговых программ и систем раннего предупреждения экологического неблагополучия акваторий и на основе этого рационально управлять качеством водных ресурсов, в том числе и их рекреационным потенциалом, поддерживать видовое разнообразие гидробионтов, их численность и нормальную жизнедеятельность. Важный результат решения этих задач – определение научно обоснованной, объективной финансовой оценки ущерба экосистемам акваторий.

Несмотря на большой интерес многих научных коллективов разных стран к развитию методов, инструментальных систем, технологий для оценок здоровья экосистем акваторий, следует отметить, что до настоящего времени отсутствуют не только общепринятые инструментальные методы, но даже общепринятое международным научным сообществом определение здоровья экосистем.

## **Краткий обзор методов оценки здоровья водных экосистем.**

### **1.1. Понятие “здоровье экосистемы”.**

Одним из первых понятие “здоровье экосистемы” в 1941 году сформулировал Альдо Леопольд, заявив, что экосистему можно считать здоровой, когда она “стремится сохранить целостность, стабильность и красоту биотического сообщества”. Этот подход был использован им в качестве средства для оценки состояния экосистем [Saikia et al., 2011].

Концепция здоровья экосистем была впервые предложена в работе [Rapport et al., 1985], где здоровье экосистемы определялось как ее стабильность и устойчивость, возможность поддерживать ее организационную структуру, саморегуляцию и способность к восстановлению после стресса.

С тех пор было разработано множество определений данного понятия: здоровье экоси-

стемы определяли как постоянство гомеостаза, как отсутствие болезни, как биоразнообразие или сложность, как стабильность или устойчивость, как энергию или возможность для роста и как баланс между компонентами системы [Saikia et al., 2011]. Одни авторы [Karr et al., 1986] утверждали, что экосистема может считаться здоровой, если реализован присущий ей потенциал, ее состояние стабильно, а способность к самовосстановлению в случае нарушения сохраняется даже при минимальной внешней поддержке. Другие – что “здоровье экосистем тесно связано с идеей устойчивости, которая рассматривается как всеобъемлющая, многомерная, динамическая мера устойчивости системы, организации и энергии” [Costanza, 2012]. Был предложен подход, основанный на теории энергетических систем и ее метриках, например, индексы чрезвычайных ситуаций, которые можно использовать в качестве основы для оценки “здоровья” или функциональной целостности любой системы [Campbell, 2000]. По мнению некоторых исследователей [Odum, 1985; Campbell, 2000] экологическое здоровье экосистем может быть определено как способность поддерживать или восстанавливать оптимальную функцию системы, то есть оптимальную эффективность для максимальной мощности при столкновении с нарушением, которое можно использовать в качестве показателя экологической устойчивости системы [Costanza, Mageau, 1999; Campbell, 2000]. То есть здоровье экосистемы описывает состояние, в котором все процессы, работающие в экосистеме, функционируют на уровне оптимальной эффективности для максимального расширения возможностей системы.

В настоящее время наиболее часто здоровая экосистема определяется с точки зрения трех основных характеристик: энергии (или жизнеспособности), устойчивости и организации. При этом под этими характеристиками подразумевается следующее [Costanza, 2012]:

1. Энергия (жизнеспособность) экосистемы – это мера ее активности, скорость метаболизма в организмах или производства валовой и чистой первичной продукции.

2. Под устойчивостью экосистемы понимается ее способность поддерживать свою структуру и модель поведения под воздействием стресса. Устойчивость экосистемы, в свою очередь, состоит из двух основных компонентов: времени, которое необходимо системе для восстановления после стресса, и величины возмущения, от которого экосистема может восстанавливаться без перехода к альтернативному состоянию.

3. Организация экосистемы включает в себя количество путей и схем обмена материалами и информацией между компонентами системы и разнообразие этих путей и схем.

Таким образом, здоровая экосистема определяется как стабильная и устойчивая система, которая способна сохранять свою организацию и автономию с течением времени, а также устойчивость к стрессу [Saikia et al., 2011].

Идея понятия “здоровья экосистемы” в самой общей форме заключается в том, чтобы перевести сложное поведение системы в широко и интуитивно понятное объяснение, поэтому оно все чаще используется в оценке состояния экосистем и управления ими в целях сохранения и рационального использования ресурсов [Голубев и др., 2013 (Golubev et al., 2013); Saikia et al., 2011]. Однако в научных кругах существует и возражение против данной концепции. По мнению некоторых авторов, такое понятие представляет собой “нормативную” концепцию, подразумевающую конкретные социальные цели, а не “объективную” научную концепцию [Costanza, 2012].

Понятно, что здоровье экосистемы зависит от физиологического здоровья населяющих ее организмов, взаимодействия присутствующих видов и эмерджентных свойств системы, которые включают биоту и окружающую среду [Tett et al., 2013]. Поэтому некоторые аспекты здоровья экосистемы можно понять с точки зрения здоровья живых организмов. С этой точки зрения индикаторы измерения здоровья экосистемы аналогичны температуре тела, артериальному давлению или химическому составу крови организма [Saikia et al., 2011]. То есть симптомы физиологических изменений и патологических состояний организмов, функциональных и структурных нарушений состояния популяций и сообществ отражают неблагоприятное здоровье экосистемы, что обуславливает, например, неблагоприятное качество вод. В этом случае благоприятное качество вод считается таковым, если отвечает требованиям сохранения здоровья водных организмов и воспроизводства наиболее чувствительных видов, адаптированных в процессе эволюции к условиям экосистемы данного водоема [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)].

Из-за разного понимания здоровья экосистем и различных целей исследования уже предложено достаточно много различных методов и индикаторов исследования, в том числе инструментальных, чтобы отразить и оценить состояние их здоровья.

## 1.2. Инструментальные, биомаркерные методы оценки здоровья водных экосистем.

В настоящее время система оценки состояния водного объекта состоит из двух основных частей: инструментально-аналитического физико-химического анализа и биодиагностики. Физико-химический анализ используется для определения концентраций загрязняющих веществ в водной среде, а биодиагностика, которая включает биотестирование и биоиндикацию – для оценки степени воздействия отдельно взятого стресс-фактора или их совокупности на биоту по ее реакциям на различных уровнях организации жизни [Чуйко, 2017 (Chuiiko, 2017); Чуйко и др., 2022b (Chuiiko et al., 2022b)]. Объектом слежения при биодиагностике в любом случае является состояние живого организма. Измеряемые характеристики, которые называются биомаркерами, и методы, используемые при этом, могут быть различными, но все они представляют интерес лишь как показатели состояния живого организма [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)].

Биотестирование вод направлено на оценку токсичности поступающих в водоем загрязняющих веществ по данным лабораторных исследований. Оно позволяет экспериментально устанавливать концентрации веществ, которые вызывают наиболее значимые и легко определяемые биологические реакции у лабораторных тест-организмов – смертность, выживаемость, плодовитость, двигательная активность, рост и т.п. В качестве тест-организмов используются лабораторные культуры различных систематических групп (микроорганизмы, водоросли, беспозвоночные, икра, мальки, взрослые рыбы и др.). Если свойства вод отвечают требованиям нормального существования и воспроизводства наиболее чувствительных водных тест-организмов, то качество вод принимают соответствующим требованиям и для сохранения здоровья экосистем [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017); Чуйко, 2017 (Chuiiko, 2017); Чуйко и др., 2022b (Chuiiko et al., 2022b)].

К достоинствам биотестирования можно отнести сравнительно быстрое получение информации (от нескольких часов до нескольких недель) о токсичности отдельных веществ. Однако поведение загрязняющих веществ в естественных водных объектах и их токсичные свойства могут значительно отличаться от их воздействия на живые организмы в испытательной емкости [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)]. Более того, в естественных условиях организмы могут перемещаться и избегать загрязненных точек [Hook et al., 2014]. К

тому же лабораторные тест-организмы приспособлены к обитанию в специфической водной среде с небольшим диапазоном изменения ее физико-химических характеристик.

Другой метод биодиагностики – биоиндикация – подразумевает обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик по показателям состояния сообществ или индикаторных видов в водном объекте [Чуйко, 2017 (Chuiiko, 2017)]. В итоге биоиндикационного исследования даются градационные оценки, выраженные в классах, баллах или индексах, которые занимают промежуточное положение между количественными и качественными показателями [Моисеенко и др., 2010 (Moiseenko et al., 2010)].

Биоиндикатор – это организм (часть организма, сообщество организмов), который содержит информацию о качестве окружающей среды или его части. Биоиндикатор должен обладать следующими характеристиками [Li et al., 2010]:

- быть легко распознаваемым;
- иметь широкое распространение;
- обладать общеизвестными экологическими характеристиками;
- иметь низкую мобильность;
- иметь достаточную численность;
- быть пригодным для лабораторных экспериментов;
- обладать высокой чувствительностью к стрессору.

В качестве биоиндикаторов часто выступают бентосные организмы, которые, благодаря большой продолжительности жизни, могут отражать экологическое состояние за более длительный интервал времени, интегрируя условия существования в данной среде. Они, как правило, не являются хозяйственно ценными или уникальными объектами, поэтому изъятие их из водного объекта в исследовательских целях не наносит ущерб экосистеме. Одним из самых распространенных организмов-биоиндикаторов при оценке экологического состояния водного объекта являются макробентосные беспозвоночные, так как они обширно распространены, приурочены к определенному биотопу, ведут оседлый образ жизни, имеют высокую численность, относительно крупные размеры и достаточно продолжительные жизненные циклы, чтобы аккумулировать загрязняющие вещества [Булавина Е.Н.,

Булавина Д.А., 2018 (Bulavina E.N., Bulavina D.A., 2018)]. Однако каждая группа организмов как биологический индикатор имеет как преимущества, так и недостатки, которые определяют границы их использования [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)].

Разработанное множество индексов (для описания реакции сообщества на изменение условий окружающей среды, например, индекс Шеннона-Винера, индекс Симпсона) объединяют три компонента структуры сообщества – богатство (количество присутствующих видов), равномерность (однородность в распределении особей между видами) и численность (общее количество присутствующих особей). Предполагается, что ненарушенная среда характеризуется высоким разнообразием, равномерным распределением особей между видами и умеренным или большим количеством особей [Li et al., 2010]. Однако такие индексы часто субъективны и их значение зависит от однородности биотопа и сезона года. Вдобавок, их использование затруднено в случае комбинированного токсичного загрязнения и эвтрофирования, т.к. число одних сообществ может увеличиваться, других – уменьшаться [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)].

Биоиндикация водного объекта позволяет адекватно и надежно оценивать изменения в экосистемах, произошедших за длительный промежуток времени (от нескольких недель до нескольких лет) действия негативного фактора, а также прогнозировать варианты дальнейшего развития экосистем. При этом важным элементом биоиндикации является биомаркирование – оценка степени воздействия антропогенных и природных факторов на состояние здоровья гидробионтов с использованием биомаркеров [Чуйко, 2017 (Chuiiko, 2017)].

Биомаркеры – это ответные реакции организма на биологически значимое воздействие различной природы, которые указывают либо на присутствие загрязняющих веществ (биомаркеры воздействия), либо на величину биологической реакции на воздействие загрязняющих веществ (биомаркеры эффекта) [Marigomez et al., 2013]. Однако четкой дифференциации между биомаркерами воздействия и эффекта не существует, так как один и тот же биомаркер может одновременно относиться к разному типу [Чуйко, 2016 (Chuiiko, 2016)].

Пригодность биомаркера для использования определяется следующими положениями [Чуйко, 2016 (Chuiiko, 2016); Hook et al., 2014]:

1) обладают химической и биологической специфичностью, чтобы различать неспецифические биомаркеры, реагирующие на ши-

рокий спектр загрязнителей, и те, которые более специфичны для конкретных загрязняющих веществ;

2) наблюдается четкая взаимосвязь доза–реакция, при этом причина реакции может включать несколько факторов стресса;

3) устойчивость и обратимость ответа;

4) учитывать влияние нехимических факторов (температура, размер);

5) наблюдается взаимосвязь с эффектами на высоком уровне биологической организации;

6) ясность интерпретации данных;

7) исключаются ограничения практического применения (обладают простотой, надежностью, точностью и чувствительностью).

Выбор биомаркеров зависит также от опыта и технических возможностей исследователей в отношении биомаркеров, доступных ресурсов и наличия контрольных/критических значений или предыдущих исследований на изучаемой территории [Marigomez et al., 2013].

Главное ограничение для свободного практического применения биомаркеров заключается в сложности интерпретации полученных результатов с точки зрения оценки биологических последствий выявленных изменений для индивидуума и более высоких уровней организации, поскольку прямая связь между процессами на разных уровнях биологической организации не всегда очевидна [Чуйко, 2016 (Chuiiko, 2016)].

Выделить норму и патологию у индивидуумов легче, т.к. молекулярно-клеточные и морфологические изменения проявляются у организмов значительно раньше, чем происходят структурно-функциональные изменения популяций и сообществ [Моисеенко, 2017 (Moiseenko, 2017)]. Именно этим определяется эффективность использования биомаркеров, регистрируемых на суборганизменном и организменном уровнях биологической организации: молекулярно-генетическом, биохимическом, гистологическом и физиологическом

Любые химические соединения первоначально воздействуют на базовые уровни организации живой материи – молекулярный и цитогенетический, что в свою очередь приводит к изменению функционирования в клетке и тканях, а после негативные эффекты отражаются на уровне органов и их систем, которые изменяют физиологический статус организма [Моисеенко и др., 2010 (Moiseenko et al., 2010)]. Изменения гомеостаза организма отражают базовые изменения функционирования живых существ и находят выражение в процессах, протекающих на разных уровнях, и могут быть оценены по различным параметрам

с использованием различных методов [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)]. Многие параметры, первоначально заимствованные из клинической медицины, экологической физиологии, биохимии и ихтиопатологии, позволяют оценивать состояние организма и обнаруживать негативное воздействие на ранних стадиях развития стресса [Чуйко, 2016 (Chuiko, 2016)].

Одной из характеристик гомеостаза, который чувствителен к стрессовому воздействию среды, является энергетическая стоимость физиологических процессов [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)]. Организмы могут претерпевать физиологические изменения, чтобы приспособиться к внешнему стрессу, поддерживая при этом нормальную клеточную функцию. Однако эти “компенсаторные механизмы”, которые маскируют токсикологические последствия, могут вызывать хронический стресс и увеличивать энергетические потребности организма [Hook et al., 2014]. При этом среди различных методов исследования энергетического обмена наиболее доступным является оценка потребления кислорода.

Одним из примеров индексов здоровья экосистем, основанным на биомаркерах окислительного стресса, является реакция стресса-на-стресс (SoS), которая заключается в способности моллюсков выживать на воздухе. В ходе определения этого индекса мидий помещают поверх влажной бумаги на пластиковые лотки при постоянной комнатной температуре и 100% влажности. Животные считаются мертвыми, когда их клапаны не закрываются при физической стимуляции. Индекс SoS был рекомендован ICES в 2012 году для программ мониторинга в качестве индикатора состояния здоровья мидий, а, следовательно – здоровья экосистем. Этот индекс был применен в полевых условиях для обнаружения последствий городских сбросов в эстуарные и прибрежные воды с использованием как местных, так и пересаженных мидий, а также для оценки воздействия разливов нефти и в различных лабораторных экспериментах. Успешное применение индекса SoS в качестве биомаркера для мониторинга окружающей среды привело к его последующему широкому применению к другим двустворчатым видам, особенно в субарктических и умеренных регионах [Aguirre-Rubiabc et al., 2018].

Биомаркеры дают общую картину состояния здоровья окружающей среды, поэтому в последние годы они были интегрированы в индексы здоровья экосистемы для простоты понимания обществом их значимости [Була-

вина Е.Н., Булавина Д.А., 2018 (Bulavina E.N., Bulavina D.A., 2018)]. Рекомендации по применению биомаркерных показателей были приведены в таких международных природоохранных документах, как ICES Working Group on Biological Effects of Contaminants и в Директиве ЕС [Kholodkevich et al., 2020]. В биодиагностике все чаще используются новые методы оценки здоровья экосистем, основанные на таких биомаркерах как активность микробных ферментов, бактериальное свечение, фотосинтез, дыхание, двигательная активность, асимметрия, метаболизм сообщества (первичная продуктивность и дыхание), поглощение питательных веществ и вторичная продукция [Li et al., 2010].

Оценка здоровья экосистемы основывается на связи концентрации воздействующего фактора со степенью выраженности ответной биологической реакции организмов [Чуйко, 2017 (Chuiko, 2017)]. Главным преимуществом такой оценки является то, что нарушения, выявленные на разных структурных и функциональных уровнях у организмов, свидетельствуют о наличии реального существенного воздействия [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)].

Ключевой характеристикой здоровья экосистемы является способность к сопротивлению внешним воздействиям и восстановлению своих структуры и функций. Поэтому оценка здоровья экосистем должна отвечать следующим условиям [Зилов, 2006 (Zilov, 2006)]:

- не зависеть от состояния отдельных видов;
- иметь числовое, желательно лишенное размерности, выражение;
- быть применимой к экосистемам разного иерархического уровня организации;
- определяться по минимальному числу наблюдений.

Таким образом, интегрирование ответов на вопрос о состоянии организма является базовым подходом оценки здоровья среды [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)]. Кроме того, что использование таких методов позволяет оценивать и минимизировать степень негативных последствий воздействия на водные экосистемы, они также могут быть использованы при нормировании содержания загрязняющих веществ в водной среде, осуществлении экологического мониторинга и прогнозировании экологических рисков [Чуйко и др., 2022a (Chuiko et al., 2022a)]. А перспектива использования методов оценки здоровья среды для фонового мониторинга определяется их способностью выявлять воздействие, вызы-

вающее стресс, не только от загрязнения среды, но и от естественных факторов (температура, соленость и др.) [Захаров, Трофимов, 2011 (Zaharov, Trofimov, 2011)].

В заключение следует отметить, что одним из недостатков большинства рассмотрен-

ных биомаркерных биохимических методов является то, что все они – инвазивные, не приспособленные к автоматизированному мониторингу *on-line* и/или *in situ*.

### 1.3. Волоконно-оптический неинвазивный метод изучения кардиоактивности бентосных беспозвоночных

Большой интерес для развития автоматизированных биодиагностических неинвазивных методов оценки здоровья водных экосистем представляет направление, основанное на использовании физиологических и поведенческих экотоксикологических биомаркеров для измерения реакций живых организмов [Холодкевич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)].

Технологические достижения в биологии и аналитической науке последних 20–30 лет позволили разработать достаточно быстрые, надежные и чувствительные физиологические и энтологические диагностические тесты (биомаркеры), которые можно использовать для мониторинга воздействия и биологических последствий загрязнения водных и наземных экосистем. При этом впервые оказалось возможным оценивать здоровье отдельных организмов так же, как оценивают здоровье людей. На основе анализа последних достижений в этой области английские ученые М. Деплидж и Т. Галлоуэй из Плимутской лаборатории морских биологических исследований выдвинули и обосновали очень важную парадигму: “Здоровые животные – здоровые экосистемы” [Depledge, Galloway, 2005].

Согласно ей, биомаркерные исследования, проводимые на отдельных организмах (случайным образом взятых из природной популяции), позволяют распространять выводы на состояние популяции в целом и, таким образом, опосредованно судить об экологическом состоянии (здоровье) экосистемы акватории, в которой обитают изучаемые животные – биологические “мишени” интегрального токсического воздействия загрязняющих веществ.

В связи с вышеизложенным мы сосредоточили внимание на решении задач, которые привели к разработке оригинального волоконно-оптического способа и системы неинвазивного измерения и анализа в реальном времени кардиоритма макробентосных беспозвоночных животных с жестким наружным покровом – высших раков и раковинных моллюсков [Холодкевич и др., Патент РФ № 2308720, 2007 (Kholodkevich et al., 2007); Kholodkevich et al., US Pat. № 8442809, 2013]. Это изобретение позволило нам разработать и создать биоэлектронную систему БиоАргус раннего биологи-

ческого предупреждения в реальном времени об опасном уровне общей токсичности воды, поступающей на водозаборные сооружения водопроводных станций [Кармазинов и др., 2007 (Karmazinov et al., 2007); Кинебас и др., 2012 (Kinebas et al., 2012)] и биологически очищенной сточной воды [Мельник и др., 2013 (Mel'nik et al., 2013)], сбрасываемой в природные морские или пресноводные акватории.

Биоэлектронные системы – информационно-измерительные системы, в которых живые организмы включены в состав первичных преобразователей и являются частью электронной системы регистрации тех или иных физиологических или поведенческих биомаркеров [Холодкевич, 2007а (Kholodkevich, 2007а); Холодкевич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)].

Определенным стимулом к поиску метода оценки здоровья водных экосистем послужило участие нашей лаборатории в 2009–2013 гг. в большом проекте ЕС BONUS BEAST 114, основным направлением исследований которого являлась разработка новых перспективных биологических методов оценки экологического состояния прибрежных акваторий Балтийского моря. В этом проекте участвовали 17 научных коллективов из всех 9 европейских стран Балтийского региона.

К началу проекта мы имели в своем распоряжении инструментарий по неинвазивному измерению кардиоритма высших раков и раковинных моллюсков, а также практический опыт его использования в качестве систем раннего биологического предупреждения в реальном времени об опасном уровне общей токсичности воды на городских станциях водоснабжения и водоотведения ГУП “Водоканал Санкт-Петербурга”. В процессе исследований в рамках проекта ЕС BONUS BEAST 114 на основе неинвазивного измерения сердечного ритма беспозвоночных животных был разработан метод оценки уровня их адаптивной способности (здоровья) путем использования оригинальной функциональной нагрузки.

При выборе метода оценки здоровья водных животных мы обратились к методам космической медицины, направленным на определение уровня здоровья условно здоровых



людей с использованием системы кровообращения как индикатора адаптивных реакций всего организма. В то время как функциональный резерв системы кровообращения традиционно определяется на основе анализа кардиоактивности с помощью функциональных нагрузочных тестов.

Авторами был разработан метод активной биоиндикации, позволяющий оценивать здоровье экосистем акваторий на основе результатов тестирования здоровья обитающих в них бентосных беспозвоночных с жестким наружным покровом с использованием метода функциональной нагрузки. Метод основан на анализе кардиоритма моллюсков, измеряемого с помощью оригинальной волоконно-оптической биоэлектронной системы БиоАргус [Холодкевич и др., 2011; 2018; 2019 (Kholodkevich et al., 2011; 2018; 2019)].

Исходные положения предложенного нами метода активной биоиндикации для оценки состояния (здоровья) водных экосистем с использованием СРБП БиоАргус – следующие:

- хроническое загрязнение среды обитания гидробионтов отражается на их адаптивных возможностях (здоровье);
- беспозвоночные имеют достаточно высокую чувствительность к химическому стрессу в своей водной среде обитания;
- здоровье животных из разных по уровню антропогенной нагрузки мест обитания можно оценивать с помощью стандартизованных тест-воздействий, основанных на анализе времени восстановления измеряемых физиологических и/или поведенческих характеристик тестируемых организмов после кратковременных функциональных нагрузок.

В ходе выполнения ряда исследований акваторий Черного, Белого, Балтийского, Средиземного и Северного морей, Датских проливов, рек, озер и водохранилищ России и ряда зарубежных стран было обнаружено, что моллюски и ракообразные, взятые из относительно чистых мест, отличаются от животных из загрязненных акваторий временем восстановления паттернов кардиоактивности и поведения после стандартизованных тест-воздействий [Куракин и др., 2012 (Kurakin et al., 2012); Холодкевич и др., 2018; 2019; 2021 (Kholodkevich et al., 2018; 2019; 2021); Зарыхта и др., 2019 (Zarykhta et al., 2019); Kuznetsova et al., 2015; Kuznetsova et al., 2018; Kholodkevich et al., 2017; 2019; 2020; Zarykhta et al., 2019; Nikolic et al., 2019].

Следует отметить, что в биоэлектронных системах в качестве тест-организмов наиболее удобно использовать именно макробентосных

беспозвоночных с жестким наружным скелетом (высшие раки и раковинные моллюски) [Холодкевич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)]. Макробентосные беспозвоночные быстро реагируют на изменения условий среды обитания, поэтому они способны отражать краткосрочные воздействия и внезапные изменения в окружающей среде. Это связано с тем, что часто бентосные беспозвоночные (например, некоторые виды двусторчатых моллюсков) прикрепляются к субстрату и их рост и развитие могут напрямую реагировать на многие физические, химические и биологические изменения, происходящие в водном объекте, включая температуру, уровни питательных веществ, соленость и т.п. [Li et al., 2010]. Поэтому при поступлении загрязняющих веществ в водную среду бентосные организмы могут рассматриваться как объективный показатель здоровья водной экосистемы [Холодкевич, 2007b (Kholodkevich, 2007b)].

Однако даже в однородной группе тест-организмов, взятых из одной природной микропопуляции, могут наблюдаться весомые различия в реакциях на одни и те же воздействия. Обычно тест-организмы для экотоксикологических исследований должны соответствовать следующим критериям: быть одной генетической линии, одного возраста и пола, иметь сходные морфометрические характеристики и не иметь внешних повреждений [Холодкевич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)].

В дикой природе продолжительное время живут только наиболее здоровые организмы, а больные животные довольно быстро погибают: либо по причине болезней, либо их выедают хищники. Поэтому вероятность того, что отобранные для тестирования местные виды животных окажутся здоровыми – высока [Холодкевич, 2007b (Kholodkevich, 2007b)]. Кроме того, использование в качестве тест-организмов местных видов животных обеспечивает “экологическое соответствие” между состоянием биоты и состоянием экосистемы.

Адаптивные возможности кардиореспираторной системы отражают интенсивность физиологических процессов, позволяя судить о функциональном состоянии организма в целом. Снижение адаптационных возможностей организма, которые выражаются в способности восстанавливаться после непродолжительной нагрузки, может служить прогностическим признаком, подтверждающим возникновение и развитие заболевания. Методом функциональной нагрузки при вызывании непродолжительного стрессового воздействия на тест-организм можно оценивать здоровье



гидробионтов задолго до проявления признаков серьезного заболевания. Быстрота восстановления кардиоритма после стандартизованных воздействий характеризует возможности организма к компенсации изменений, вызванных воздействием внешних факторов, что является важным признаком здоровья [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)]. Разработанный нами метод наиболее целесообразно практически использовать в скрининговых исследованиях здоровья экосистем акваторий, с помощью которого, по-видимому, можно на ранних стадиях выявлять отклонения функционирования исследуемых экосистем от экосистем референтных акваторий и относить ту или иную акваторию к заслуживающим внимания более глубоких аналитических и биологических исследований или – нет.

Процедура тестирования здоровья бентосных беспозвоночных (по разработанному под руководством автора методу функциональной нагрузки), довольно проста, не требует привлечения специалистов высокой квалификации и заключается в следующем. На жесткий наружный покров (после его предварительной очистки от загрязнений) на область проекции сердца без нарушения внешнего покрова крепятся седла, в которых затем фиксируются миниатюрные волоконно-оптические датчики, предназначенные для регистрации кардиоритма тест-организма. Общая масса такой конструкции не превышает 2 г, поэтому она не препятствует нормальной жизнедеятельности организма. Обычно, для статистической достоверности, одновременно измеряют кардиоритм у 8–16 бентосных беспозвоночных. Регистрация кардиоритма проводится с помощью лазерного волоконно-оптического фотоплетизмографа, откуда формируемый инфракрасный луч полупроводникового лазера при помощи оптического волокна подается с внешней стороны раковины (без ее нарушения) к области пульсирующего сердца тест-организма. Луч, проходя через створку раковины моллюска, отражается от пульсирующего сердца и далее, выходя обратно наружу через раковину с помощью второго оптического волокна, содержащего информацию о периодических изменениях объема сердца, направляется на фотоприемник, расположенный в фотоплетизмографе, где преобразуется в аналоговый сигнал, содержащий информацию о частоте сердечных сокращений (ЧСС), который

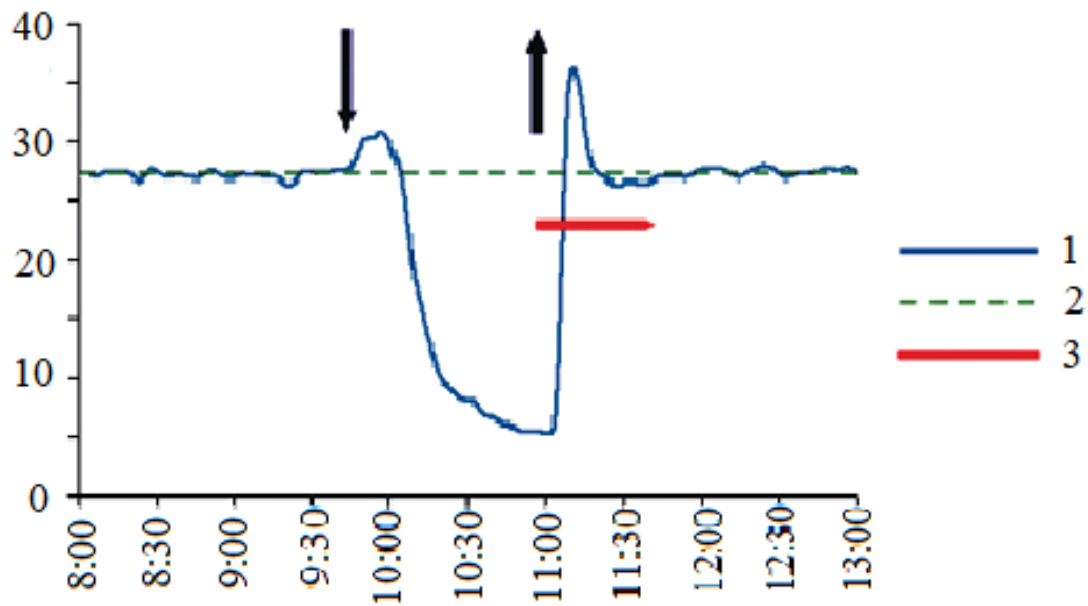
затем через аналого-цифровой преобразователь (АЦП) поступает в персональный компьютер для архивации и анализа с помощью оригинальной программы VarPulse [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018); Kholodkevich et al., 2020].

Через несколько часов после того, как у животных-биоиндикаторов стабилизируется и сохраняется в течение двух часов определенный кардиоритм, осуществляется быстрое (в течение 2–3 мин) снижение/повышение солености воды путем добавления в аквариум необходимого количества дистиллированной или соленой воды на один час. Для проверки функционального состояния живых организмов анализируется адаптивная перестройка сердечного ритма после восстановления первоначального показателя солености воды [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018); Kholodkevich et al., 2019].

При воздействии нагрузок повышаются энергетические затраты организма и существенно изменяются реакции со стороны кардиореспираторной системы, по сравнению с нормальным состоянием [Холодkevич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)]. Поэтому показатель быстроты восстановления ритма сердца свидетельствует о функциональных резервах организма, а в случае медленного восстановления ритма или отсутствия такого восстановления, является ранним признаком ухудшения здоровья [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)].

Оценка функционального состояния проводится на основе измерения времени адаптивного восстановления ЧСС ( $T_{\text{восст}}$ ) до фонового уровня после снятия непродолжительной функциональной нагрузки (рис. 1), то есть промежутка времени после восстановления исходной солености воды и до начала стабилизации ЧСС до фоновых значений, наблюдавшихся до изменения солености воды [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)].

Гидробионты, взятые из чистых зон, отличаются от гидробионтов из загрязненных зон тем, что они демонстрируют более высокую адаптивную способность, которая выражается в более коротком времени восстановления значений ЧСС. Так, было обнаружено, что время восстановления ЧСС моллюсков из условно чистых мест составляет 30–50 мин, а из загрязненных может достигать нескольких часов [Холодkevич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)].



**Рис. 1.** Изменение ЧСС в процессе тестирования на основе гипоосмотического стресс-воздействия (1 – тренд средней ЧСС до, во время воздействия и после восстановления первоначальной солёности воды; 2 – среднее значение ЧСС по группе мидий в спокойном, фоновом состоянии; 3 – время восстановления фоновой ЧСС после возвращения к исходной солёности воды).

По оси абсцисс – время, часы : мин, по оси ординат – частота сердечных сокращений, уд/мин. Стрелки указывают на время начала изменения солёности (стрелка вниз) и начала восстановления первоначальной солёности воды (стрелка вверх) [Холодкевич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)].

**Fig. 1.** Change in heart rate during testing based on hypoosmotic stress exposure (1 – trend of average heart rate before, during exposure and after restoration of initial water salinity; 2 – average heart rate for a group of mussels in a calm, background state; 3 – recovery time background heart rate after returning to initial water salinity).

On the abscissa axis – time, hours: min, on the ordinate axis – heart rate, beats / min. The arrows indicate the time of the beginning of the salinity change (down arrow) and the beginning of the restoration of the initial water salinity (up arrow) [Kholodkevich et al., 2018].

Вторым показателем оценки функционального состояния измеряется коэффициент вариации ЧСС ( $CV_{\text{ЧСС}}$ ) выборки тестируемых организмов. Коэффициент вариации ( $CV$ ) индивидуальных ЧСС тест-организмов исследуемой выборки определялся в момент времени достоверного восстановления фоновых значений ЧСС по формуле [Холодкевич и др., 2011 (Kholodkevich et al., 2011)]:

$$CV_{\text{ЧСС}} = \frac{\text{СКО}}{\text{ЧСС}_{\text{ср}}}$$

При величине коэффициента вариации ЧСС до 10% изменчивость оценивается как слабая, при 11–25% описывается как средняя, при значении более 25–30% – сильная.

В соответствии с рекомендациями Европейской водной рамочной директивы (ЕВРД) оценка экологического состояния водных объектов как отклонения от естественных ненарушенных условий может проводиться с помощью безразмерного показателя экологиче-

ского качества (Ecological Quality Ratio – EQR), который определяется как отношение фонового значения к наблюдаемому для разных групп биомаркеров загрязнения. Основной целью применения коэффициента EQR для классификации экологического статуса пресноводных или морских акваторий является обеспечение сопоставимости разных методов оценки, главным образом биологических. В этом подходе экологический статус – это безразмерная количественная оценка отклонения контролируемой водной экосистемы от ее естественного (фоновое, “ненарушенное”) состояния. При этом значения EQR, близкие к единице, означают высокую степень сходства между наблюдаемыми и эталонными (фоновыми) условиями и, как следствие, хорошее экологическое состояние, а значения, близкие к нулю, – плохое. Согласно ЕВРД весь диапазон экологического состояния водного объекта, определенным образом зависящий от учета ха-

рактера взаимосвязи между нагрузкой и воздействием на биоту, рекомендуется разделять на пять категорий качества: высокий, хороший, посредственный, плохой и очень плохой (Directive 2000/60/EC). На основании предварительного проведения ряда экспертных процедур, дифференцированно для разных типов водных экосистем, устанавливаются значения EQR, соответствующие определенному классу качества вод. Весь диапазон экологического состояния водного объекта рекомендовано разбивать численно от 0 до 1 на пять категорий

**Таблица 1.** Ранжирование экологического статуса экосистем акваторий в соответствии с принятыми в ряде стран ЕС (Directive 2000/60/EC) и предложенными нами градациями EQR для биомаркеров  $T_{\text{восст}}$

**Table 1.** Ranking of the ecological status of aquatic ecosystems in accordance with the EQR gradations for  $T_{\text{recons}}$  biomarkers adopted in EU countries (Directive 2000/60/EC) and proposed by us

Экологический статус Ecological status	Дания Denmark	Норвегия Norway	Испания Spain	Великобритания Great Britain	Наше предложение Our suggestion
Высокий / High	$\geq 0.80$	$\geq 0.83$	$\geq 0.83$	$\geq 0.80$	$\geq 0.80$
Хороший / Good	0.60–0.80	0.72–0.83	0.62–0.83	0.64–0.80	0.60–0.80
Посредственный / Middling	0.40–0.60	0.60–0.72	0.41–0.62	0.43–0.65	0.40–0.60
Плохой / Bad	0.20–0.40	0.48–0.60	0.20–0.41	0.20–0.43	0.20–0.40
Очень плохой / Very bad	$\leq 0.20$	$\leq 0.47$	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$

В работе [Холодкевич и др., 2019 (Kholodkevich et al., 2019)] было предложено следующее ранжирование диапазонов экологиче-

качества, при этом значения EQR, близкие к единице, означают высокую степень сходства между наблюдаемыми и эталонными условиями и, как следствие, здоровую экосистему, а значения, близкие к нулю – плохое. В качестве примера в табл. 1 приведены используемые в ряде европейских стран, а также предложенные нами [Холодкевич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)] категории качества морских экосистем в соответствии с численными величинами EQR для биомаркеров  $T_{\text{восст}}$ .

ского состояния водного объекта по биомаркеру  $T_{\text{восст}}$  (табл. 2).

**Таблица 2.** Ранжирование экологического статуса водоемов по EQR и  $T_{\text{восст}}$

**Table 2.** Ranking of the ecological status of water bodies according to EQR and  $T_{\text{recons}}$

Экологический статус Ecological status	EQR	$T_{\text{восст}}$
Высокий / High	$> 0.80$	$< 50$
Хороший / Good	0.60–0.80	50–70
Посредственный / Middling	0.40–0.60	70–100
Плохой / Bad	0.20–0.40	100–200
Очень плохой / Very bad	$< 0.20$	$> 200$

#### 1.4. Примеры скрининговых исследований состояния (здоровья) экосистем акваторий с использованием биоэлектронных систем

Биомаркерные исследования методом функциональной нагрузки с применением волоконно-оптических датчиков, проводимые на отдельных, случайно взятых из природной популяции организмах, позволяют распространить выводы на состояние популяции и, таким образом, опосредованно судить о здоровье водных экосистем [Холодкевич и др., 2018 (Kholodkevich et al., 2018)]. Анализ экологического статуса акваторий проводился с использованием рекомендаций по ранжированию статуса, изложенных в работах [Gvozdenovic et al., 2020] на основании большого числа апробаций данного метода в течение десяти лет на пресноводных, солоноватых и морских акваториях разных

стран и континентов [Depledge, Galloway, 2005; Голубев и др., 2013 (Golubev et al., 2013; Пахорук, Лямин, 2007 (Pahorukov, Lyamin, 2007))]. После экспериментов всех моллюсков без повреждений возвращали обратно в среду обитания. Ниже, в качестве примера скрининговых исследований состояния здоровья акваторий, с использованием рассмотренной выше методологии, приводятся данные, полученные при исследовании особенностей здоровья экосистем ряда рекреационных акваторий Черного моря и восточной части Финского залива. Основная цель выполненных исследований состояла в апробации перспективности использования рассмотренной выше технологии биоиндикации

в региональных программах экологического мониторинга состояния экосистем прибрежных морских и пресноводных рекреационных акваторий (на примере ряда акваторий г. Севастополя, а также Курортного района г. Санкт-Петербурга).

В качестве объектов исследования побережья Черного моря были выбраны шесть сева­стопольских акваторий (в районе мыса Хру­стальный, бухта Круглая, бухта Казачья, бухта Матюшенко, бухта Балаклава и акватория Графской пристани) с разным уровнем рекреационной нагрузки. Предметом исследований служила средиземноморская мидия *Mytilus galloprovincialis* (Lam.).

*Mytilus galloprovincialis* (Lam.) – типичный представитель малакофауны Черного моря. Мидий отбирали до начала (в середине мая) и по завершении (в начале октября) купального, туристического сезона. Эксперименты проводились на двустворчатых моллюсках, отобранных в прибрежной зоне на глубине 0.5–2 м. Отбор организмов осуществлялся вручную. В общей сложности было отобрано около 250 особей из местных популяций моллюсков *M. galloprovincialis*.

Координаты и краткая характеристика станций отбора животных для тестирования представлена ниже [Kholodkevich et al., 2020]:

Мыс Хрустальный (координаты 44.617626, 33.511528) – находится в центре города, береговая линия оборудована шезлонгами, навесами, спасательным пунктом. Недалеко от берега имеются несколько небольших кафе и ресторан. В непосредственной близости расположены стоянка яхт и катеров, место курсирования рейсовых катеров, парома, прогулочных маломерных судов.

Бухта Круглая (44.597430, 33.448286) – береговая линия оборудована под пляж (шезлонги, навесы, спасательный пункт). Непосредственно близко к берегу расположены большое количество кафе и ресторанов и яхт-клуб.

Бухта Казачья (44.579081, 33.409535) – береговая линия не оборудована под пляж. В кутовой части правого рога бухты находятся стоянки катеров. К водоему примыкает жилой массив многоквартирных домов, воинская часть и военный полигон. На южном берегу бухты также находится воинская часть; на центральном мысу расположен коттеджный поселок. Левая, кутовая часть бухты не оборудована.

Бухта Матюшенко (44.629388, 33.522752) – береговая линия не оборудована под пляж (отсутствуют шезлонги, навесы, спасательный пункт), места общественного питания удалены. К пляжу примыкает военно-исторический му-

зей “Михайловская батарея”. В непосредственной близости расположено место курсирования рейсовых катеров и парома.

Графская пристань (44.616727, 33.526854) – на поверхности камней заросли цистозиры. Мидии плотными группами покрывают опоры причала и свободные места на камнях. В основном встречаются крупные особи. Помимо мидий встречаются рапаны. Общее впечатление – вода имеет некоторое количество взвеси, на поверхности присутствуют пятна нефтепродуктов. Мидии имеют характерный запах нефтепродуктов

Бухта Балаклава (44.495116, 33.592691) – преобладают следующие виды водорослей: церамиум, бриопсис, ульва, кораллина; часто встречаются креветки, актинии, баянусы. Общее впечатление – вблизи места отбора мидий наблюдается хороший водообмен с открытым морем, обитатели разнообразны, активны. Отсутствуют явные загрязнения нефтью, заиливание поверхностей, мертвые организмы, створки мидий, и, что важно, следы сбора мидий людьми.

Тестирование функционального состояния мидий проводилось аналогично описанному в начале этого раздела и наглядно представлено на рис. 1.

Итоговые результаты (после соответствующей статистической обработки) тестирования мидий различных акваторий Севастополя методом функциональной нагрузки и анализа статуса этих акваторий до и после курортного сезона 2019 года представлены в табл. 3 и на рис. 2. Показано, что вне зависимости от сезона статус экосистем акваторий бухт Казачья, Матюшенко, Балаклава и вблизи мыса Хрустальный остается на уровне не ниже “хороший”. При этом бухта Казачья является наиболее экологически благополучной в течение всего года, поэтому может считаться референтной, а обитающие в ней мидии могут использоваться в качестве референтных животных в садковых исследованиях акваторий Крымского побережья.

Экосистемы в районе бухт Матюшенко, Балаклава и мыса Хрустальный обладают, по-видимому, достаточно высокой самоочищающей способностью, поэтому в течение всего года сохраняются в хорошем экологическом состоянии, несмотря на их достаточно интенсивное рекреационное использование.

Экосистема акватории бухты Круглая обладает, по-видимому, недостаточной самоочищающей способностью для сезона с пиковой интенсивностью работы прибрежных предприятий общепита. Несмотря на ее доста-

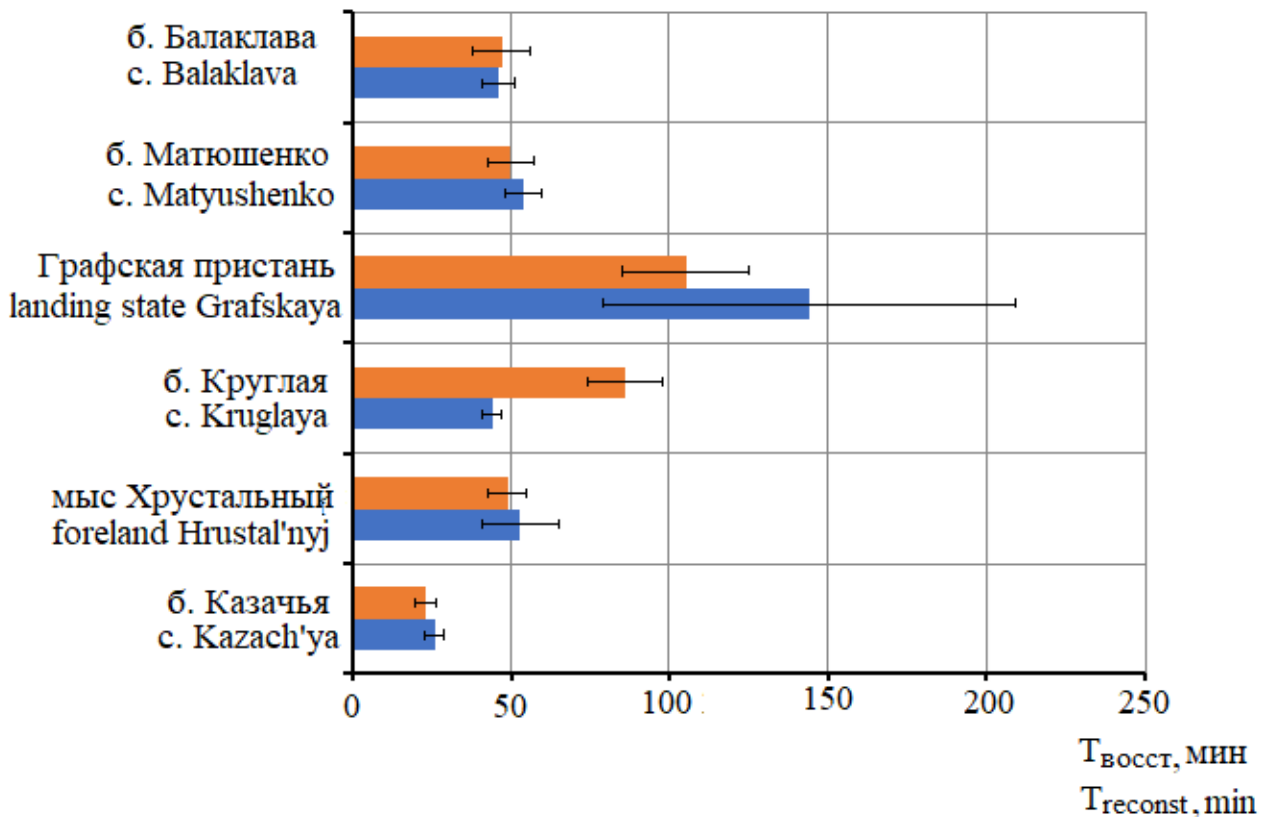
точно хорошее экологическое состояние в осенне-зимний период, с началом курортного сезона (а не под воздействием каких-либо местных промышленных предприятий) ее эколо-

гическое состояние резко ухудшается. Это, безусловно, снижает рекреационную привлекательность бухты в курортный сезон.

**Таблица 3.** Результаты тестирования мидий до и после курортного сезона [Kholodkevich et al., 2020]

**Table 3.** Results of testing mussels before and after the holiday season [Kholodkevich et al., 2020]

Район Site	$T_{\text{восст}}$ , мин в период 10–20 мая 2019 $T_{\text{recons}}$ , min in 10- 20 May, 2019 year	Статус акваторий в мае 2019 г. Water area status in May 2019 year	$T_{\text{восст}}$ , мин в период 5–11 октября 2019 г. $T_{\text{recons}}$ , min in 5–11 October 2019 year	Статус акваторий в октябре 2019г. Water area status in October 2019 year
Бухта Казачья Cove Kazach'ya	26±3	высокий	23±3	высокий
Мыс Хрустальный Foreland Hrustal'nyj	53±12	хороший	49±6	хороший
Бухта Круглая Cove Kruglaya	44±3	высокий	86±12	посредственный
Графская пристань Landing stage Grafskaya	144±65	плохой	105±20	плохой
Бухта Матюшенко Cove Matyushenko	54±6	хороший	50±7	хороший
Бухта Балаклава Cove Balaklava	46±5	хороший	47±9	хороший



**Рис. 2.** Гистограмма величин  $T_{\text{восст}}$ , измеренных в мае (голубые столбики) и в октябре (красные столбики) 2019 г. в исследованных акваториях Севастополя [Kholodkevich et al., 2020].

**Fig. 2.** Histogram of  $T_{\text{reconst}}$  values measured in May (blue bars) and October (red bars) 2019 in the studied water areas of Sevastopol [Kholodkevich et al., 2020].

Особенно экологически неблагоприятной, причем в течение всего года, является акватория в районе Графской пристани, поэтому она не может быть рекомендована в качестве рекреационной, в том числе для любительской рыбной ловли и использования местных рыб и мидий для еды.

Аналогичные исследования в тот же год были проведены на ряде популярных рекреационных акваторий Курортного района г. Санкт-Петербурга [Kholodkevich et al., 2020]. В качестве объектов исследования побережья восточной части Финского залива были выбраны четыре акватории песчаных пляжей Курортного района г. Санкт-Петербурга. Соленость вод во всех них практически одинакова и не превышает 1.7‰.

Курортный район г. Санкт-Петербурга является одним из самых экологически чистых районов Северной столицы. Он протянулся вдоль побережья Финского залива полосой 6–8 км в ширину и 45 км в длину. Центр района – г. Сестрорецк, в состав входят также г. Зеленогорск и девять поселков: Белоостров, Солнечное, Песочный, Комарово, Репино, Серово, Ушково, Смолячково и Молодежное. Район представляет собой территорию, обладающую уникальным природным потенциалом и рекреационными ресурсами, имеющими как региональное, так и федеральное значение. Здесь находятся более 40 постоянно функционирующих санаториев, профилакториев, пансионатов, домов отдыха, горнолыжных и туристических комплексов.

Однако в последние годы городские и областные службы Роспотребнадзора все чаще накладывают запрет на купание в прибрежных акваториях из-за загрязнения вод выше допустимых норм. Это обусловлено тем, что уровень антропогенной нагрузки на эти акватории, по-видимому, превышает их ассимиляционную емкость.

Для исследования авторами [Kholodkevich et al., 2020] были выбраны следующие рекреационные территории:

1. Акватория, прилегающая к парку “Дубки” (г. Сестрорецк).
2. Пляж “Чудный” в поселке Репино, являющийся местом отдыха большого количества людей. В непосредственной близости от акватории пляжа располагаются три ресторана, гостиница, а также административное здание.
3. “Золотой пляж” г. Зеленогорска, также приспособленный для отдыха населения. В непосредственной близости от акватории располагаются предприятия общепита.
4. Вблизи пляжа “Детский” в поселке Ушково. Он является не таким многолюдным.

На прилегающей территории нет действующих торговых точек и предприятий общественного питания, а пансионаты и загородные жилые дома поселка расположены довольно далеко от берега – на высокой песчаной возвышенности.

Основными объектами исследований были местные двустворчатые моллюски *Unio pictorum*, которые собирались вручную на глубинах 0.5–1 м.

Тестирование функционального состояния унионид путем гиперсоленостного воздействия в течение часа (повышение солености до 6‰) проводилось аналогично описанному в начале этого раздела и представленного на рис. 1.

Результаты ранжирования акваторий Финского залива в соответствии с установленными усредненными  $T_{\text{восст}}$  представлены в табл. 4.

Следует отметить, что полученные результаты ранжирования акваторий находятся в соответствии с результатами санитарно-химических исследований специалистов Роспотребнадзора по г. Санкт-Петербургу, согласно которым не только санитарно-гигиенические, но и характеристики органических загрязнений воды (в частности, по показателям ХПК и БПК<sub>5</sub>) исследованных пляжей Репино и Зеленогорска не соответствуют санитарным правилам и нормам для купания людей. В то же время на пляжах “Дубковский” (г. Сестрорецк) и “Детский” (пос. Ушково) купание населения разрешено, причем по нашим исследованиям экосистемы этих акваторий находятся на достаточно высоком уровне.

Контраст между характеристиками экологического состояния акваторий пляжей в Сестрорецке, Репино и Зеленогорске указывает на отсутствие влияния на них сточных вод городских районов г. Санкт-Петербург. А их отличие от состояния экосистемы акватории пляжа в Ушково выявляет основной источник сверхнормативных загрязнений – недостаточно эффективную работу локальных очистных сооружений пансионатов и предприятий общепита, расположенных близко к берегу. Мы имеем ту же картину, как и в случае бухты Круглая в Севастополе. При этом, на наш взгляд, повышенная величина ХПК обусловлена загрязнениями, связанными с наличием в воде высоких концентраций моющих средств, а БПК<sub>5</sub> – со сбросом неочищенных сточных вод бытовой канализации. На последнее указывают также данные Роспотребнадзора, демонстрирующие сверхнормативное содержание колиформных бактерий в воде акваторий Репино и Зеленогорска.



**Таблица 4.** Итоговые результаты тестирования моллюсков *Unio pictorum* из различных акваторий Курортного района Г. Санкт-Петербурга методом функциональной нагрузки и последующего анализа статуса этих акваторий в летний период июнь-август 2019–2020 гг.

**Table 4.** Final results of testing *Unio pictorum* mollusks from various water areas of the Kurortny district of St. Petersburg using the functional load method and subsequent analysis of the status of these water areas in the summer period June-August 2019–2020 years

Экологический статус акватории Ecological status of the water area	Показатели T <sub>восст</sub> , мин Indicators	г. Сестрорецк T <sub>восст</sub> , мин t.Sestroretsk	п. Репино T <sub>восст</sub> , мин v. Repino	г. Зеленогорск T <sub>восст</sub> , мин t. Zelenogorsk	п. Ушково T <sub>восст</sub> , мин v. Ushkovo
	T <sub>reconst</sub> , min	T <sub>reconst</sub> , min	T <sub>reconst</sub> , min	T <sub>reconst</sub> , min	T <sub>reconst</sub> , min
Высокий / High	≤50	45±11	–	–	–
Хороший / Good	50–70	–	–	–	70±8
Посредственный / Middling	70–100	–	–	–	–
Плохой / Bad	100–200	–	120±10	180±14	–
Очень плохой / Very bad	>200	–	–	–	–

Отметим, что эти характерные для хозяйственно-бытовых стоков виды загрязнений поверхностных вод оказывают отрицательное воздействие не только на качество воды для купания, но и на здоровье обитающих здесь организмов. Данный эффект, например, мы наблюдали также на средиземноморских мидиях Бока-Которского залива Адриатического моря [Kholodkevich et al., 2019; Nikolic et al., 2019] и, как указывалось выше, мидиях бухты Круглая в Севастополе [Kholodkevich et al., 2020].

Таким образом, показано, что моллюски могут служить индикаторами сверхнормативных загрязнений прибрежных вод хозяйственно-бытовыми стоками, а предложенная технология для оценки функционального состояния местных видов моллюсков – использоваться в качестве эффективного, максимально объективного метода оперативного выявления расположенных вблизи береговой полосы объектов, сбрасывающих в эту акваторию недостаточно очищенные стоки своих локальных очистных сооружений.

В работе [Холодкевич и др., 2021a (Kholodkevich et al., 2021a)] основное внимание выявления источников дополнительной, регионально обусловленной, антропогенной нагрузки на акватории рек, имеющих значительный уровень загрязнения еще в верхнем течении (на примере дельты реки Волги). Вода реки Волги в нижнем течении, еще до поступления на территорию Астраханской области, характеризуется, как “грязная” [Государственный доклад “О состоянии...”, 2018 (Gosudarstvennyj doklad “O sostoyanii...”, 2018)]. На территории Астраханской области протоки Волги могут иметь и имеют дополнительные местные источники антропогенной нагрузки, разные по уровням и видам загрязнений. Выделение их дополнительных биологических эффектов на фоне эффектов, имеющих в более верх-

нем течении Волги, представляет интерес с точки зрения разграничения трансграничной экологической ответственности загрязнений воды р. Волги между регионами, расположенными в верхнем и нижнем течении реки.

Целью этой работы являлось проведение сравнительной биоэлектронной диагностики экологического состояния выбранных протоков с различной местной как по виду, так и по величине, антропогенной нагрузкой. В основу оценок положено функциональное состояние (здоровье) обитающих здесь двусторчатых моллюсков *Anodonta anatina*, оцениваемое на основе анализа их кардиоритма. Было установлено, что моллюски *Anodonta anatina*, отобранные из различных акваторий, после одночасовой функциональной нагрузки восстанавливают исходную частоту сердечного ритма за разное время, но в пределах от 117 до 166 минут. Это время T<sub>восст</sub>, как следует из табл. 2, характерно для моллюсков, обитающих в загрязненных водоемах экологического статуса – “плохой”. Такая характеристика акваторий полностью совпадает с характеристикой экологического состояния протоков дельты реки Волги, указанной в государственном докладе “О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2017 году”.

Однако авторами [Холодкевич и др., 2021b (Kholodkevich et al., 2021b)] было обращено внимание на то, что биомаркер T<sub>восст</sub> моллюсков из р. Гандурино свидетельствует о значительно более хорошем функциональном состоянии (здоровье) обитающих в ней моллюсков, по сравнению с моллюсками рукава Городской и проток Малый (табл. 5). Это обусловлено тем, что, в отличие от двух других протоков, акватория реки Гандурино является относительно чистой.



**Таблица 5.** Величины  $T_{\text{восст}}$  для популяций моллюсков в протоках дельты Волги [Холодкевич и др., 2021 (Kholodkevich et al., 2021)]

**Table 5.** Values  $T_{\text{recons}}$  for mollusk populations in the channels of the Volga delta [Kholodkevich et al., 2021]

Протока Channel	$T_{\text{восст}}$
Река Гандурино / Gandurino River	117 ±4
Проток Малый / Channel Small	166±6
Рукав Городской / Sleeve Urban	141±5

К анализу полученных данных можно подойти также на основе использования коэффициента экологического качества EQR, рекомендованного ЕВРД для ранжирования экологического состояния экосистем акваторий. Величина EQR определяется как отношение референтного (фоновое) значения измеряемого биомаркера к наблюдаемому. Значения EQR, близкие к единице, означают высокую степень сходства между наблюдаемыми и референтными (фоновыми) условиями и, как следствие, хорошее экологическое состояние. При этом, в соответствии с ЕВРД, весь диапазон водного объекта можно разделить на пять категорий качества: высокое, хорошее, посредственное, плохое и очень плохое. Для биомаркера  $T_{\text{восст}}$  такое количественное разделение по категориям впервые было предложено в работе авторов [Холодкевич и др., 2019 (Kholodkevich et al., 2019)].

Важным преимуществом возможности ранжирования статуса акваторий по EQR является следующее. Далеко не во всех регионах (особенно там, где рядом отсутствуют особо охраняемые природные территории) можно найти условно чистые акватории, в которых заведомо обитают условно здоровые животные. В связи с этим, для дифференциации акваторий в таких регионах, в качестве фоновых можно пользоваться условно референтными акваториями, а именно, акваториями с исторически

сложившимися условиями отсутствия антропогенного воздействия, обусловленного местными близкорасположенными загрязнителями.

Учитывая минимальное местное антропогенное воздействие на р. Гандурино, ее можно рассматривать в качестве фоновой, условно референтной для данного региона дельты Волги. В таком случае акватории “Рукав Городской” и “Проток Малый” с точки зрения оценки величин местной антропогенной нагрузки можно относить к региональному экологическому статусу “Хороший” (табл. 6).

Таким образом, по биомаркеру  $T_{\text{восст}}$  три исследованных протока соответствовали уровню “Плохой”. Однако некоторые моллюски реки Гандурино демонстрировали “посредственное” состояние здоровья. Вместе с тем, если использовать оценку экологического статуса исследованных акваторий по величине коэффициента экологического качества EQR для дельты Волги, то акватории “Рукав Городской” и “Проток Малый” можно относить к региональному экологическому статусу “Хороший”, а акваторию реки Гандурино – “Высокий”. При этом последнюю можно использовать в качестве условно референтной для региона дельты р. Волги.

Таким образом, рассмотренные примеры сравнительных скрининговых исследований здоровья экосистем акваторий с применением в качестве измерительного средства систем БиоАргус при анализе кардиоактивности аборигенных и местных видов бентосных беспозвоночных может оказаться эффективным средством получения объективной и достаточной информации о динамике изменения состояния экосистем для принятия обоснованных управленческих решений [Холодкевич, 2007b (Kholodkevich et al., 2007b)] не только в регионах с низким, но и с высоким уровнем антропогенной нагрузки.

**Таблица 6.** Сравнительный экологический статус протоков дельты Волги, определенный по величине показателя экологического качества EQR

**Table 6.** Comparative ecological status of the channels of the Volga delta, determined by the value of the ecological quality index EQR

Протока Channel	Величина показателя экологического качества EQR для дельты Волги The value of the ecological quality indicator EQR for the Volga Delta	Относительный экологический статус Relative ecological status
Река Гандурино Gandurino River	1.0	высокий
Проток Малый Channel Small	0.70	хороший
Рукав Городской Sleeve Urban	0.83	хороший

В частности, по результатам скрининговых исследований с помощью метода функциональной нагрузки рекреационных акваторий г. Севастополя и Курортного района г. Санкт-Петербурга, было показано, что данный метод может рассматриваться в ка-

честве информационной основы для выработки научно-обоснованных управленческих решений по обеспечению экологической безопасности рекреационных акваторий [Kholodkevich et al., 2020].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Недостаточно очищенные сточные воды населенных пунктов, пансионатов и предприятий общественного питания, расположенных недалеко от берега, влияют не только на неблагоприятные для человека санитарно-химические и микробиологические характеристики прибрежных вод, но и могут приводить к нарушению здоровья экосистем прибрежных акваторий и их ускоренной деградации.

Местные виды моллюсков могут служить индикаторами сверхнормативных загрязнений прибрежных вод хозяйственно-бытовыми стоками, а технология оценки функционального состояния местных видов моллюсков – использоваться в качестве эффективного, максимально объективного средства оперативного выявления расположенных вблизи береговой полосы объектов, сбрасывающих в эту акваторию недостаточно очищенные стоки своих локальных очистных сооружений.

С учетом достаточно высокой экспрессности и простоты применения рассмотренной в работе технологии, не требующей привлечения специалистов высокой квалификации для ее практической реализации, она может эффективно применяться для решения задач скрининговых исследований и ранней диагностики состояния водных экосистем и служить информационной основой для выработки регионально ориентированных научно-обоснованных природоохранных управленческих решений.

Технология сравнительных скрининговых исследований здоровья экосистем акваторий с применением в качестве измерительного средства систем БиоАргус при анализе кар-

диоактивности аборигенных и местных видов бентосных беспозвоночных позволяет получать объективную информацию о динамике изменения состояния экосистем для принятия обоснованных управленческих решений не только в регионах с низким, но и с высоким уровнем антропогенной нагрузки.

Использованная в настоящих исследованиях технология дополняет современные методы биоиндикации качества поверхностных вод, как среды обитания гидробионтов, и может рассматриваться в качестве информационной основы для выработки научно-обоснованных управленческих решений по обеспечению экологической безопасности рекреационных акваторий. После некоторой доработки и соответствующей апробации она может быть рекомендована для использования в региональных программах экологического мониторинга экосистем прибрежных и морских, и пресноводных акваторий.

Недавняя метрологическая аттестация измерительной системы биомониторинга БиоАргус на тип (Приказ Росстандарта № 2702 от 27.10.2022 об утверждении типов средств измерений) открыло законное право использовать эту измерительную систему на городских предприятиях водоснабжения и водоотведения, а также разрабатывать различные региональные сертифицированные методики и технологии оценки экологического состояния (здоровья) водных экосистем, основанные на использовании систем БиоАргус в качестве измерительного средства.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, тема № АААА-А19-119020190122-6 “Научные основы оценки здоровья экосистем Северо-Запада России и предупреждения угроз экологической безопасности”. Номер темы в РосРид: 122041100085-8, а также в рамках плановой темы № 121050500046-8 при частичной поддержке приоритетного проекта Оздоровление Волги по теме № АААА-А18-118052590015-9.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Булавина Е.Н., Булавина Д.А. Методы биоиндикации при определении качества природной воды в рамках судебной экологической экспертизы // Судебная экспертиза Беларуси. 2018. № 2(7). С. 58–62.
- Голубев А.П., Аксенов-Грибанов Д.В., Тимофеев М.А. Применение интегрального подхода к оценке воздействия антропогенного загрязнения на биоту пресных водоемов // Экологический вестник. 2013. № 3 (25). С. 106–115.
- Государственный доклад “О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2017 году”. М.: Минприроды России; НПП “Кадастр”, 2018. 888 с.

- Зарыхта В.В., Zhang Z.H., Кузнецова Т.В., Озерский П.В., Feng Y.J. Дифференциальное накопление тяжелых металлов в мягких тканях трех видов двустворчатых моллюсков из реки Сунгари вблизи г. Харбина (Китай) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2020. Т. 56. № 2. С. 119–126.
- Захаров В.М., Трофимов И.Е. Оценка здоровья среды: экологическое нормирование (оценка состояния природных популяций по стабильности развития) // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов: материалы Объединенного Пленума Научного совета ОБН РАН по гидробиологии и ихтиологии, Гидробиологического общества при РАН и Межведомственной ихтиологической комиссии. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. С. 102–120.
- Зилов Е.А. Возможность использования целевых функций для оценки “здоровья” водных экологических систем: эксергия // Сибирский экологический журнал. 2006. № 3. С. 269–284.
- Кармазинов Ф.В., Кинебас А.К., Бекренев А.В., Сулейманова Э.К., Холодкевич С.В., Иванов А.В. Опыт эксплуатации систем биомониторинга качества воды в Санкт-Петербурге // Водоснабжение и санитарная техника. 2007. № 7. Ч. 2. С. 2–6.
- Кинебас А.К., Нефедова Е. Д., Гвоздев В.А., Холодкевич С.В., Иванов А.В., Куракин А.С., Корниенко Е.Л. Повышение эффективности и надежности биоэлектронных систем станций производственного биологического мониторинга качества воды // Водоснабжение и санитарная техника. 2012. № 1. С. 20–27.
- Куракин А.С., Холодкевич С.В., Пурвия С. И др. Оценка экологического состояния акваторий Рижского залива // Научно-технические ведомости Санкт-Петербургского государственного политехнического университета. 2012. № 1 (142). С. 267–272.
- Мельник Е.А., Рублевская О.Н., Панкова Г.А., Холодкевич С.В. и др. Биоэлектронная система контроля токсикологической безопасности биологически очищенных сточных вод, сбрасываемых Юго-Западными очистными сооружениями ГУП “Водоканал Санкт-Петербурга” в Невскую губу // Водоснабжение и санитарная техника. 2013. № 1. С. 7–12.
- Моисеенко Т.И. Оценка качества вод и “здоровья” экосистем с позиций экологической парадигмы // Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление. 2017. № 3. С. 104–124.
- Моисеенко Т.И., Гашев С.Н., Селюков А.Г., Жигилева О.Н., Алешина О.А. Биологические методы оценки качества вод: часть 1. биоиндикация / Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование. 2010. № 7. С. 20–40.
- Пахоруков Н.М., Лямин М.Я. Биоразнообразие и экология беспозвоночных животных. Водная фауна: учеб. пособие по полевой практике. Пермь: Пермский университет, 2007. 156 с.
- Холодкевич С.В. Биоэлектронный мониторинг уровня токсичности природных и сточных вод в реальном времени // Экологическая химия. 2007а. № 16(4). С. 223–232.
- Холодкевич С.В. Иванов А.В., Корниенко Е.Л., Куракин А.С., Любимцев В.А. Биоэлектронный мониторинг поверхностных вод // Мир измерений. 2011. № 10. С. 6–13.
- Холодкевич С.В. Комплексное обеспечение химической безопасности водоснабжения населения городов для предотвращения и минимизации последствий чрезвычайных ситуаций (на примере Санкт-Петербурга). Автореф. дисс. ... докт. технич. наук. СПб, 2007b. 39 с.
- Холодкевич С.В., Иванов А.В., Корниенко Е.Л., Куракин А.С. Патент РФ № 2308720 “Способ биологического мониторинга окружающей среды (варианты) и система для его осуществления”. 2007. Бюл. № 29.
- Холодкевич С.В., Кузнецова Т.В., Куракин А.С., Солдатов А.А., Гостюхина О.Л., Головина И.В., Андреев Т.И., Киринов М.П. Новый методологический подход к оперативной оценке экологического состояния прибрежных морских акваторий // Известия ТИНРО. 2018. № 194. С. 215–238.
- Холодкевич С.В., Мотрук М.К., Любимцев М.А., Сулопарова О.Н. Сравнительная биоэлектронная диагностика экологического состояния загрязненных акваторий (на примере некоторых протоков дельты Волги) // Формула фармации. 2021а. Т. 3. № 1. С. 84–91.
- Холодкевич С.В., Чуйко Г.М., Шаров А.Н., Кузнецова Т.В., Песня Д.С. Показатели кардиоактивности и оксидативного стресса моллюска *Anodonta cygnea* при краткосрочной соленостной тест-нагрузке как биомаркеры для оценки состояния организма и качества среды обитания // Биология внутренних вод. 2021b. № 6. С. 599–606.
- Холодкевич С.В., Шаров А.Н., Чуйко Г.М., Кузнецова Т.В., Гапеева М.В., Ложкина Р.А. Оценка качества пресноводных экосистем по функциональному состоянию двустворчатых моллюсков // Водные ресурсы. 2019. Т. 46. № 2. С. 214–224.
- Чуйко Г.М. Место и роль биомаркеров в экологическом мониторинге водных экосистем // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: материалы международного симпозиума / МГУ, М.: ГЕОС, 2016. С. 275–283.
- Чуйко Г.М. Современные подходы использования методов биодиагностики при экотоксикологической оценке водных экосистем // Современные проблемы водохранилищ и их водосборов: труды VI Международной научно-практической конференции / Пермский гос. национальный исследовательский институт. Пермь, 2017. С. 90–94.
- Чуйко Г.М., Томилина И.И., Холмогорова Н.В. Методы биодиагностики в водной экотоксикологии // Токсикологический вестник. 2022b. Т. 30. № 5. С. 315–322. DOI: 10.47470/0869-7922-2022-30-5-315-322.
- Чуйко Г.М., Законнов В.В., Бродский Е.С., Шелепчиков А.А. Методический подход к оценке источников и путей поступления стойких органических загрязняющих веществ (СОЗ) в пресноводные объекты // Здоровье населения и среда обитания. 2022а. Т. 30. № 10. С.32–39. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-10-33-39.

- Aguirre-Rubíabc J., Luna-Acosta A., Ortiz-Zarragoitia M., Zaldibar B. et al. Assessment of ecosystem health disturbance in mangrove-lined Caribbean coastal systems using the oyster *Crassostrea rhizophorae* as sentinel species // *Science of The Total Environment*. 2018. Vol. 618. P. 718–735. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.098
- Campbell D. E. Using energy systems theory to define, measure, and interpret ecological integrity and ecological health // *Ecosystem Health*. 2000. Vol. 6(3). P. 181–204.
- Costanza R. Ecosystem health and ecological engineering // *Ecological Engineering*. 2012. Vol. 45. P. 24–29. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2012.03.023.
- Costanza R., Mageau M. What is a healthy ecosystem? // *Aquat. Ecol.* 1999. Vol. 33. P. 105–115.
- Depledge M.H., Galloway T.S. Healthy animals, healthy ecosystems // *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2005. Vol. 3(5). P. 251–258. DOI: 10.2307/3868487.
- Gvozdenović S., Mandić M., Peraš I. Morphometry and condition index in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) from Boka Kotorska Bay (Montenegro, Southeast Adriatic Sea) // *Studia Marina*. 2020. Vol. 33(2). P. 15–26. DOI: 10.5281/zenodo.4314146
- Hook S.E., Gallagher E.P., Batley G.E. The Role of Biomarkers in the Assessment of Aquatic Ecosystem Health // *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2014. Vol. 10(3). P. 327–341. DOI: 10.1002/ieam.1530.
- Karr J.R., Frausch K.D., Angermeier P.L. Assessing biological integrity in running waters. A method and its rationale // *Illinois natural history survey*. Illinois: Champaign, 1986. Special publication 5. 30 p.
- Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kornienko E.L., Kurakin A.S. Method of biological environment monitoring (versions) and a system for realization thereof: US Pat. № 8442809. 2013.
- Kholodkevich S.V., Kuznetsova T. V., Kirin M.P. et al. Bioindication of the ecological state (health) of coastal waters based on the use of automated bioelectronic systems // *Pharmacy Formulas*. 2020. Vol. 2(3). P. 64–73. DOI: 10.17816/phf46438/2713-153X-2020-3-2-64-73.
- Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Sharov A.N. et al. A Applicability of a bioelectronics cardiac monitoring system for the detection of biological effects of pollution in bioindicator species in the gulf of Finland // *Journal of Marine systems*. 2017. Vol. 171. P. 151–158. DOI: 10.1016/j.jmarsys.2016.12.005.
- Kuznetsova T., Kholodkevich S. Comparative assessment of surface water quality through evaluation of physiological state of bioindicator species: searching a new biomarkers // *Proceedings - 2015 4th Mediterranean Conference on Embedded Computing, MECO 2015 - Including ECyPS 2015, BioEMIS 2015, BioICT 2015, MECO-Student Challenge 2015*. Budva, Chernogoriya: IEEE, 2015. P. 339–344. DOI: 10.1109/MEKO.2015.7181938
- Kuznetsova T.V., Kholodkevich S.V., Kurakin A.S. Experience on ecological status assessment based on adaptive potential diagnostics in selected invertebrates of the Baltic Sea Sub-regions // *Fundamentalnaya I Prikladnaya Gidrofizika*. 2018. T. 11. № 2. С. 75–85. DOI: 10.7868/S2073667318020065.
- Li L., Zheng B., Liu L. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends // *Procedia Environmental Sciences*. 2010. Vol. 2. P. 1510–1524. DOI: 10.1016/j.proenv.2010.10.164.
- Marigomez I., Garmendia L., Soto M. et al. Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarker indices: a comparative study after the Prestige oil spill “Mussel Watch” // *Ecotoxicology*. 2013. Vol. 22. P. 486–505. DOI: 10.1007/s10646-013-1042-4.
- Nikolic M., Kuznetsova T., Kholodkevich S. et al. Cardiac activity in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) as a biomarker for assessing sea water quality in Boka Kotorska Bay, South Adriatic Sea // *Mediterranean Marine Science*. 2019. Vol. 20(4). P. 680–687. DOI: 10.12681/mms.18119.
- Odum E.P. Trends expected in stressed ecosystems // *Bioscience*. 1985. Vol. 35. P. 419–422.
- Rapport D.J., Regier H.A., Hutchinson T.C. Ecosystem behavior under stress // *American Naturalist*. 1985. Vol. 125. P. 617–640.
- Saikia S.R., Ray S., Mukherjee J. Aquatic Ecosystem health – a review // *Aquatic Ecosystems*. 2011. P. 57–102.
- Tett P., Gowen R., Painting S. et al. Framework for understanding marine ecosystem health // *Marine ecology progress series*. 2013. Vol. 494. P. 1–27. DOI: 10.3354/meps10539.
- Zarykhta V.V., Zhang Z., Zhang Y. et al. Comprehensive assessments of ecological states of Songhua River using chemical analysis and bivalves as bioindicators // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. Vol. 26. № 32. P. 33341–33350.

## REFERENCES

- Aguirre-Rubíabc J., Luna-Acosta A., Ortiz-Zarragoitia M., Zaldibar B. et al. Assessment of ecosystem health disturbance in mangrove-lined Caribbean coastal systems using the oyster *Crassostrea rhizophorae* as sentinel species. *Science of The Total Environment*, 2018, vol. 618, pp. 718–735. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.098.
- Bulavina E.N., Bulavina D.A. Methods of bioindication in determining the quality of natural water in the framework of forensic ecological expertise. *Sudebnaya ekspertiza Belarusi*, 2018, no. 2(7), pp. 58–62. (In Russian)
- Campbell D.E. Using energy systems theory to define, measure, and interpret ecological integrity and ecological health. *Ecosystem Health*, 2000, vol. 6(3), pp. 181–204.
- Chuiko G.M. Mesto i rol' biomarkerov v ekologicheskom monitoringe vodnyh ekosistem. *Biodiagnostika i oценка kachestva prirodnoj sredy: podhody, metody, kriterii i eta-lony sravneniya v ekotoksikologii: materialy mezhdunarodnogo simpoziuma*. M., GEOS, 2016, pp. 275–283. (In Russian)
- Chuiko G.M. Sovremennye podhody ispol'zovaniya metodov biodiagnostiki pri ekotoksikologicheskoy oценke vodnyh ekosistem. *Sovremennye problemy vodohranilishch i ih vodosborov: trudy VI Mezhdunarodnoj nauchno-*

- prakticheskoy konferencii*. Perm', Permskiy gos. nacional'nyj issledovatel'skiy institut, 2017, pp. 90–94. (In Russian)
- Chuiko G.M., Tomilina I.I., Holmogorova N.V. Methods of biodiagnostics in aquatic ecotoxicology. *Toksikologicheskij vestnik*, 2022, vol. 30, no. 5, pp. 315–322. doi: 10.47470/0869-7922-2022-30-5-315-322.
- Chuiko G.M., Zakonov V.V., Brodskij E.S., Shelepchikov A.A. A methodological approach to assessing sources and pathways for persistent organic pollutants (POPs) in freshwater bodies. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniy*, 2022, vol. 30, no. 10, pp. 32–39. doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-10-33-39
- Costanza R. Ecosystem health and ecological engineering. *Ecological Engineering*, 2012, vol. 45, pp. 24–29. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.03.023.
- Costanza R., Mageau M. What is a healthy ecosystem? *Aquatic Ecology*, 1999, vol. 33, pp. 105–115.
- Depledge M.H., Galloway T.S. Healthy animals, healthy ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2005, vol. 3(5), pp. 251–258. doi: 10.2307/3868487.
- Golubev A.P., Aksenov-Gribanov D.V., Timofeev M.A. Application of an integral approach to assessing the impact of anthropogenic pollution on the biota of fresh water bodies. *Ekologicheskij vestnik*, 2013, vol. 3 (25), pp. 106–115. (In Russian)
- Gosudarstvennyj doklad “O sostoyanii i ob ohrane okruzhayushchej sredy Rossijskoj Federacii v 2017 godu”. M., Minprirody Rossii; NPP “Kadastr”, 2018. 888 p.
- Gvozdenović S., Mandić M., Peraš I. Morphometry and condition index in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) from Boka Kotorska Bay (Montenegro, Southeast Adriatic Sea). *Studia Marina*, 2020, vol. 33(2), pp. 15–26. doi: 10.5281/zenodo.4314146.
- Hook S.E., Gallagher E.P., Batley G.E. The Role of Biomarkers in the Assessment of Aquatic Ecosystem Health. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2014, vol. 10(3), pp. 327–341. doi: 10.1002/ieam.1530.
- Karmazinov F.V., Kinebas A.K., Bekrenev A.V., Sulejmanova E.K., Holodkevich S.V., Ivanov A.V. Experience in the operation of water quality biomonitoring systems in St. Petersburg. *Vodosnabzhenie i sanitarnaya tekhnika*, 2007, vol. 7, no. 2, pp. 2–6. (In Russian)
- Karr J.R., Frausch K.D., Angermeier P.L. Assessing biological integrity in running waters. A method and its rationale. Illinois natural history survey. Illinois: Champaign, 1986. Special publication 5. 30 p.
- Kholodkevich S.V. Bioelectronic monitoring of the level of toxicity of natural and waste waters in real time. *Ekologicheskaya himiya*, 2007a, no. 16(4), pp. 223–232. (In Russian)
- Kholodkevich S.V. Kompleksnoe obespechenie himicheskoy bezopasnosti vodosnabzheniya naseleniya gorodov dlya predotvrashcheniya i minimizacii posledstvij chrezvychajnyh situacij (na primere Sankt-Peterburga). *Extended Abstract of Doc. Tech. Sci. Diss.* SPb, 2007b. 39 s.
- Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kornienko E.L., Kurakin A.S. Method of biological environment monitoring (versions) and a system for realization thereof. USA. US Pat. № 8442809. 2013.
- Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kornienko E.L., Kurakin A.S. Patent RF № 2308720 “Sposob biologicheskogo monitoringa okruzhayushchej sredy (varianty) i sistema dlya ego osushchestvleniya”. 2007. Byul. № 29.
- Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kornienko E.L., Kurakin A.S., Lyubimcev V.A. Bioelectronic monitoring of surface waters. *Mir izmerenij*, 2011, no. 10, pp. 6–13. (In Russian)
- Kholodkevich S.V., Kuznecova T.V., Kurakin A.S. et al. A new methodological approach to the operational assessment of the ecological state of coastal marine areas. *Izvestiya TINRO*, 2018, vol. 194, pp. 215–238. (In Russian)
- Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Kirin M.P. et al. Bioindication of the ecological state (health) of coastal waters based on the use of automated bioelectronic systems. *Pharmacy Formulas*, 2020, vol. 2(3), pp. 64–73. doi: 10.17816/phf46438/2713-153X-2020-3-2-64-73.
- Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Chuiko G.M., Sharov A.N., Pesnya D.S. Indicators of cardiac activity and oxidative stress in the mollusk *Anodonta cygnea* under short-term salt test load as biomarkers for assessing the state of the organism and the quality of the environmental. *Inland Water Biology*, 2021a, vol. 14, no. 6, pp. 739–746. doi: 10.1134/S1995082921060067.
- Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Sharov A.N. et al. A Applicability of a bioelectronics cardiac monitoring system for the detection of biological effects of pollution in bioindicator species in the gulf of Finland. *Journal of Marine systems*, 2017, vol. 171, pp. 151–158. doi: 10.1016/j.jmarsys.2016.12.005
- Kholodkevich S.V., Motruk M.K., Lyubimcev M.A., Susloparova O.N. Comparative bioelectronic diagnostics of the ecological state of polluted water areas (on the example of some channels of the Volga delta). *Formula farmacii*, 2021b, vol. 3, no. 1, pp. 84–91. doi: 10.17816/phf63741
- Kholodkevich S.V., Sharov A.N., Chuiko G.M., Kuznecova T.V., Gapeeva M.V., Lozhkina R.A. Assessment of the quality of freshwater ecosystems by the functional state of bivalve mollusks. *Vodnye resursy*, 2019, vol. 46, no. 2, pp. 214–224. (In Russian)
- Kinebas A.K., Nefedova E. D., Gvozdev V.A., Holodkevich S.V., Ivanov A.V., Kurakin A.S., Kornienko E.L. Improving the efficiency and reliability of bioelectronic systems of stations for industrial biological monitoring of water quality. *Vodosnabzhenie i sanitarnaya tekhnika*, 2012, no. 1, pp. 20–27. (In Russian)
- Kurakin A.S., Holodkevich S.V., Purvinya S.I. et al. Assessment of the ecological state of the water areas of the Gulf of Riga. *Nauchno-tekhnicheskie vedomosti Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo politekhnicheskogo universiteta*, 2012, no. 1 (142), pp. 267–272. (In Russian)
- Kuznetsova T., Kholodkevich S. Comparative assessment of surface water quality through evaluation of physiological state of bioindicator species: searching a new biomarkers. *Proceedings 2015 4th Mediterranean Conference on Em-*

- bedded Computing, MECO 2015 – Including ECyPS 2015, BioEMIS 2015, BioICT 2015, MECO-Student Challenge*, 2015. Budva, Chernogoriya, IEEE, 2015, pp. 339–344. doi: 10.1109/MEKO.2015.7181938
- Kuznetsova T.V., Kholodkevich S.V., Kurakin A.S. Experience on ecological status assessment based on adaptive potential diagnostics in selected invertebrates of the Baltic Sea Sub-regions. *Fundamentalnaya i Prikladnaya Gidrofizika*, 2018, vol. 11, no. 2, pp. 75–85. doi: 10.7868/S2073667318020065.
- Li L., Zheng B., Liu L. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. *Procedia Environmental Sciences*, 2010, vol. 2, pp. 1510–1524. doi: 10.1016/j.proenv.2010.10.164
- Marigomez I., Garmendia L., Soto M. et al. Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarker indices: a comparative study after the Prestige oil spill “Mussel Watch”. *Ecotoxicology*, 2013, vol. 22, pp. 486–505. doi: 10.1007/s10646-013-1042-4.
- Mel'nik E.A., Rublevskaya O.N., Pankova G.A., Holodkevich S.V. et al. Bioelectronic system for monitoring the toxicological safety of biologically treated wastewater discharged by the South-Western treatment facilities of the State Unitary Enterprise “Vodokanal of St. Petersburg” into the Neva Bay. *Vodosnabzhenie i sanitarnaya tekhnika*, 2013, no. 1, pp. 7–12. (In Russian)
- Moiseenko T.I. Assessment of water quality and “health” of ecosystems from the standpoint of the ecological paradigm. *Vodnoe hozyajstvo Rossii: problemy, tekhnologii, upravlenie*, 2017, no. 3, pp. 104–124. (In Russian)
- Moiseenko T.I., Gashev S.N., Selyukov A.G., Zhigileva O.N., Aleshina O.A. Biological methods for assessing water quality: part 1. Bioindication. *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta. Ekologiya i prirodopol'zovanie*, 2010, no. 7, pp. 20–40. (In Russian)
- Nikolic M., Kuznetsova T., Kholodkevich S. et al. Cardiac activity in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) as a biomarker for assessing sea water quality in Boka Kotorska Bay, South Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 2019, vol. 20(4), pp. 680–687. doi:10.12681/mms.18119.
- Odum E.P. Trends expected in stressed ecosystems. *Bioscience*, 1985, vol. 35, pp. 419–422.
- Pahorukov N.M., Lyamin M.Ya. Bioraznoobrazie i ekologiya bespozvonochnykh zhivotnykh. *Vodnaya fa-una: ucheb. posobie po polevoj praktike*. Perm', Permskij universitet, 2007. 156 p.
- Rapport D.J., Regier H.A., Hutchinson T.C. Ecosystem behavior under stress. *American Naturalist*, 1985, vol. 125, pp. 617–640.
- Saikia S.R., Ray S., Mukherjee J. Aquatic Ecosystem health – a review. *Aquatic Ecosystems*, 2011, pp. 57–102.
- Tett P., Gowen R., Painting S. et al. Framework for understanding marine ecosystem health. *Marine ecology progress series*, 2013, vol. 494, pp. 1–27. doi: 10.3354/meps10539.
- Zaharov V.M., Trofimov I.E. Assessment of the health of the environment: environmental regulation (assessment of the state of natural populations in terms of development stability). *Voprosy ekologicheskogo normirovaniya i razrabotka sistemy ocenki sostoyaniya vodoemov: materialy Ob'edinennogo Plenuma Nauchnogo soveta OBN RAN po gidrobiologii i ihtiologii, Gidrobiologicheskogo obshchestva pri RAN i Mezhdomstvennoj ihtiologicheskoy komissii*. Moscow, 2011. pp. 102–120. (In Russian)
- Zaryhta V.V., Zhang Z.H., Kuznecova T.V., Ozerskij P.V., Feng Y.J. Differential accumulation of heavy metals in soft tissues of three species of bivalves from the Songhua River near Harbin (China). *Zhurnal evolyucionnoj biohimii i fiziologii*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 119–126. (In Russian)
- Zarykhta V.V., Zhang Z., Zhang Y. et al. Comprehensive assessments of ecological states of Songhua River using chemical analysis and bivalves as bioindicators. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, vol. 26, no. 32, pp. 33341–33350. doi: 10.1007/s11356-019-06349-7.
- Zilov E.A. The possibility of using objective functions to assess the “health” of aquatic ecological systems: exergy. *Sibirskij ekologicheskij zhurnal*, 2006, vol. 3, pp. 269–284. (In Russian)

## 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

S. V. Kholodkevich<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg FRC RAS),  
St. Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety of the RAS,

197110, Russia, St. Petersburg, Korpusnaya st., 18

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

Revised 20.09.2022

The current state of the concept of the health of aquatic ecosystems and the main methods and technologies (mainly instrumental) for its assessment are briefly considered. The data obtained during the study of the health of ecosystems of several recreational areas of the Black Sea, the eastern part of the Gulf of Finland, several channels of the Volga delta are considered. An operational assessment of the health of ecosystems was carried out using innovative biomonitoring technology by testing the health of adult bivalve mollusks living in them by the functional load method based on the analysis of their heart rate, measured using the BioArgus bioelectronic

fiber-optic system. It has been established that the functional state of mollusks can serve as an indicator of excess pollution of coastal waters by objects that discharge insufficiently treated domestic wastewater from their local treatment facilities, including household wastewater. It is concluded that, taking into account the rather high rapidity and ease of use, this technology can be effectively used to solve the problems of screening studies and early diagnostics of the state of aquatic ecosystems as well as serve as an information basis for developing regionally oriented, science-based environmental management decisions.

*Keywords:* biomonitoring, biomarkers, functional state of animals, bioindication, health of aquatic ecosystems, heart rate of molluscs