УДК 681.3.06

БИОМАРКЕРЫ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО БИОМОНИТОРИНГА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

В.В. Трусевич, П.В. Гайский, К.А. Кузьмин, В.Ж. Мишуров

Институт природно-технических систем
г. Севастополь, ул. Ленина, 28
E-mail: trusev@list.ru

Впервые в режиме реального времени исследованы особенности суточной ритмики движений створок черноморской мидии в естественных условиях обитания; выявлены биомаркеры поведенческих реакции моллюсков в норме и при изменении физических и химических параметров водной среды. Полученные данные являются достаточно полной базой для разработки и внедрения в нашей стране систем автоматизированного биомониторинга водной среды во всех сферах современного водопользования.

Введение. Прогрессирующая интенсивность нарастания загрязнения водной среды является глобальной проблемой современности, угрожающей безопасности человечества. Все увеличивающиеся объемы стоков неочищенных или недостаточно очищенных бытовых и промышленных вод, участившиеся случаи техногенных аварий, характеризующихся быстрым распространением масштабных негативных воздействий на крупные регионы, создающих опасность возникновения чрезвычайных ситуаций и катастроф, а также необходимость предотвращения возможных террористических актов, требуют разработки надежных, достаточно чувствительных, в первую очередь для обеспечения раннего обнаружения загрязнений, автоматизированных методов контроля состояния и защиты водных экосистем [1].

Основная часть. Существующие системы контроля водной среды, основанные преимущественно на физико-химических методах, трудоемки, дорогостоящи, не способны обнаружить весь спектр поступающих в воды ксенобиотиков, дают фрагментарные сведения, охватывают традиционный узкий круг загрязняющих агентов, не обеспечивают своевременного обнаружения внезапного выброса загрязнений и, в принципе, не могут определить степень опасности загрязняющих агентов с учетом синергизма их действия для экосистемы и человека в том числе. Отсутствие эффективного контроля обуславливает постоянное расширение зон загрязнения водной среды и создает угрозу возникновения чрезвычайных ситуаций [2, 3].

Учитывая особую опасность резко участившихся техногенных аварий, а также необходимость предотвращения возможных террористических актов на водах, в связи с неожиданностью их возникновения, массивностью выбросов загрязняющих веществ и высокой скоростью развития негативных последствий для крупных регионов, современные системы мониторинга должны:

- функционировать в непрерывном автоматическом режиме;
- в режиме реального времени обнаруживать ксенобиотики и определять степень их экологической опасности;
- формировать сигналы тревог и, используя возможности современных телекоммуникаций, передавать их в соответствующие центры слежения.

Объективная оценка состояния водных экосистем невозможна без использования тех или иных биологических методов экологического мониторинга, способных в интегрированном виде, с учетом синергизма действующих факторов, выявлять любые негативные изменения качества воды опасные для гидробионтов.

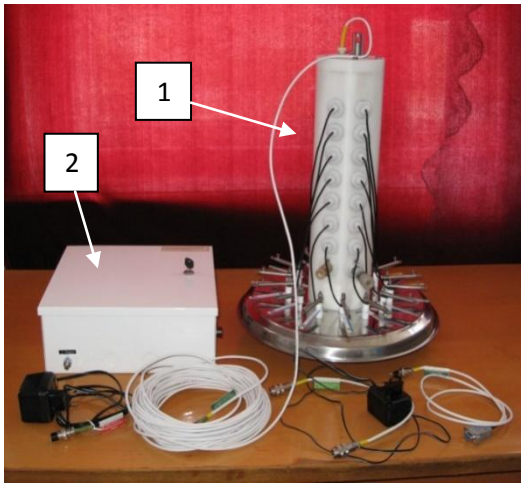
Наиболее эффективными для решения этих проблем являются биоэлектронные системы автоматизированного мониторинга поверхностных вод, интенсивно разрабатываемые во многих лабораториях мира, в которых животные непосредственно включены в состав электронной системы регистрации тех или иных физиологических, биохимических или поведенческих биомаркеров. Эти комплексы в отличие от физико-химических методов позволяют в реальном времени получать интегральную токсикологическую характеристику среды независимо от природы и состава загрязняющих веществ, оценивать качество воды как среды обитания гидробионтов. Разра-

ботанные в Европе системы на основе поведенческих реакций двустворчатых моллюсков Musselmonitor и Driessenamonitor, т.е. способности двустворчатых моллюсков (морских и пресноводных) закрывать створки на продолжительное время или изменять ритмику движений при воздействии неблагоприятных факторов, широко и успешно используются для контроля вод в зонах вывода очистных сооружений городов и промышленных предприятий, на водозаборах, в зонах интенсивной рекреации. Такие комплексы составляют основу систем раннего реагирования (или обнаружения) – Biological Early Warning Systems (BEWS), интенсивно развиваемые в ведущих странах мира и являются необходимой составной частью обязательного комплексного мониторинга водной среды [4 – 6]. Однако, на территории стран бывшего Советского Союза об использовании биоэлектронных систем мониторинга водной среды сведений не имеется. Единственным исключением является система мониторинга водной среды функционирующая с 2005 г. на водозаборах питьевой воды Санкт-Петербурга, где в качестве сенсорной системы используется кардиоактивность речных раков [7].

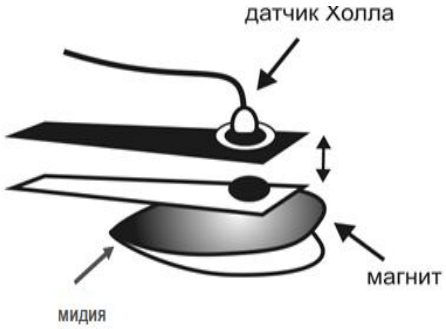
Для разработки систем автоматизированного биомониторинга на основе поведенческих реакций двустворчатых моллюсков, сведения о природе, особенностях поведенческих реакций и фоновых характеристиках ритмики активности моллюсков в естественной среде обитания являются определяющими. При этом принципиально важно использовать аборигенные виды.

Разработанный нами совместно с Карадагским природным заповедником и функционирующий с 2008 г. на морских и пресноводных объектах комплекс автоматизированного биомониторинга водной среды, на основе поведенческих реакций двустворчатых моллюсков является аналогом системы Musselmonitor. Он предназначен для проведения исследований в натурных условиях водоемов, с глубиной погружения до 20 м в телеметрическом и автономном режимах (рис. 1, 2) [8].

Впервые на этом приборе была успешно применена новая запатентованная конструкция креплений биодатчика на жестких и гибких направляющих [9].



Р и с. 1. Комплекс автоматизированного биомониторинга водной среды (1 – Погружной модуль, 2 – Береговой модуль)



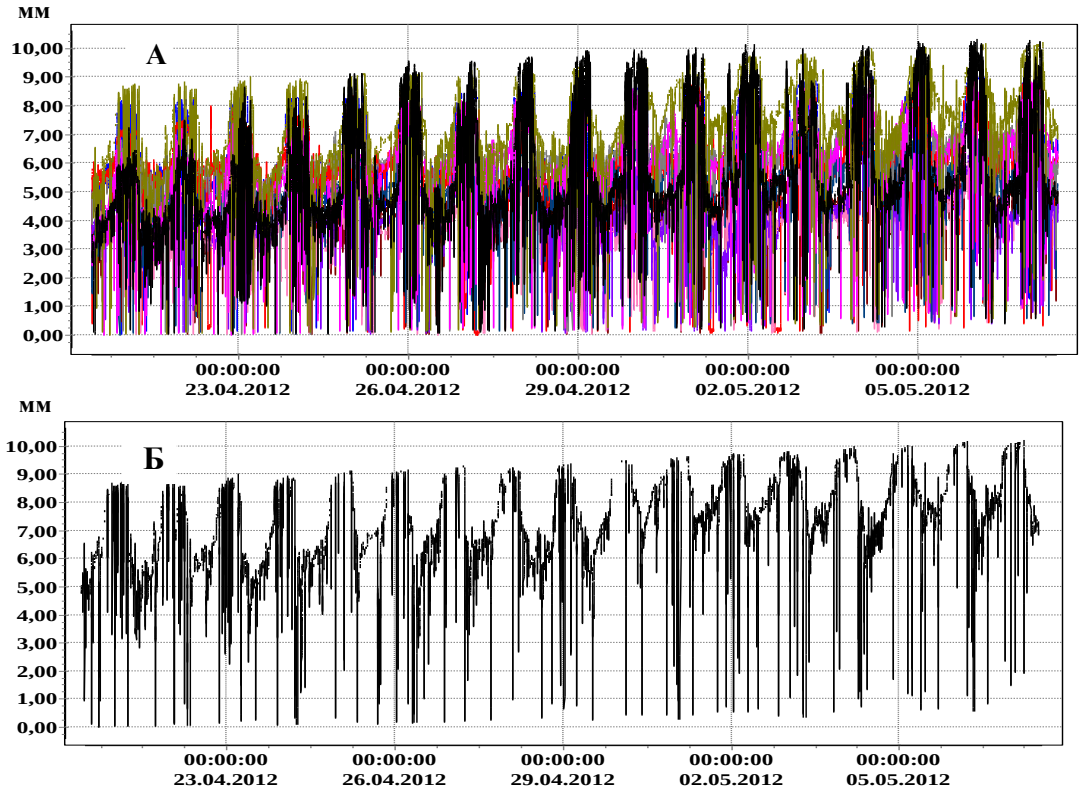
Р и с. 2. Общий вид конструкции крепления датчика Холла и магнита на направляющих относительно створок двустворчатого моллюска

Комплекс автоматически в режиме реального времени обеспечивает получение цифровой информации о движении створок 14 моллюсков. Синхронная реакция группы моллюсков (обычно не менее 70% от общего числа) является причиной выработки сигнала тревоги, решение о котором формируется алгоритмически-программным обеспечением бортового компьютера. Непрерывный съем информации, с регистрацией сигналов, может осуществляться с различным периодом от 1 с до 1 минуты.

Латентный период реагирования системы на загрязнение, в зависимости от природы и концентрации, составляет от нескольких секунд до нескольких минут [10].

С помощью комплекса впервые были проведены практически непрерывные (в течение 4 лет) наблюдения и записи дви-

жений створок 14 черноморских мидий в естественных условиях обитания в районе наиболее чистой воды (г. Севастополь, бухта Казачья). В результате анализа полученных данных с полной достоверностью было установлено, что независимо от сезона года движения створок мидий подчинены ярко выраженному четкому суточному ритму с максимальным раскрытием створок в ночное время и минимальным в дневное (рис. 3). Переходы от ночной к дневной части суточного цикла движения створок и обратно у мидий четко связаны с началом и концом сумерек в данный период года и осуществляются у группы мидий в течение 30 – 60 минут.



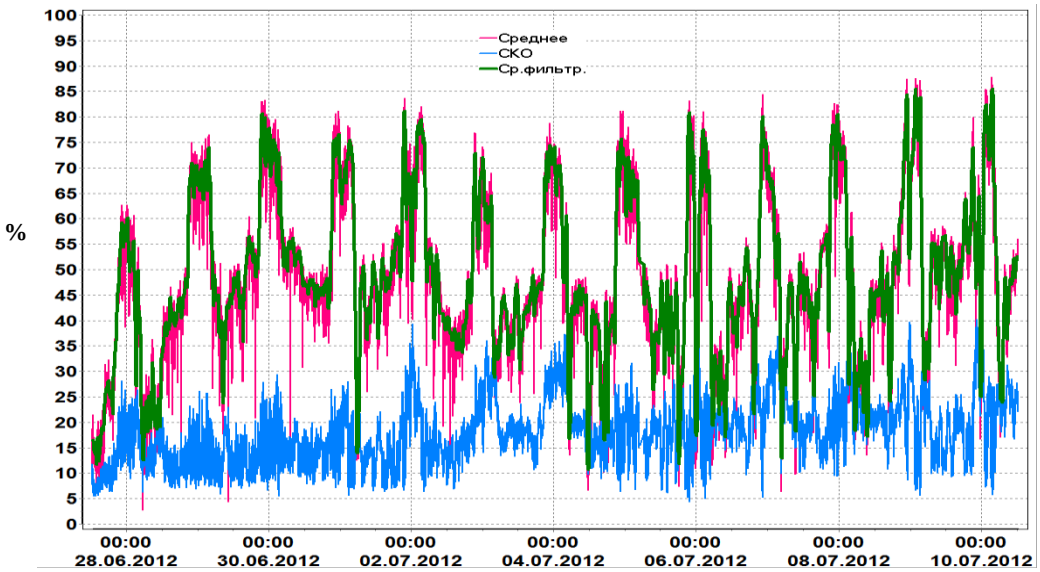
Р и с. 3. Суточная ритмика движения створок мидий (А – суммарный график движения створок всех 14 мидий, Б – одиночной мидии; ось ординат – величина раскрытия створок в мм, ось абсцисс – дата, время)

Для того, чтобы нивелировать индивидуальные различия амплитуды раскрытия створок, данные пересчитываются в процентах к величине максимального раскрытия створок каждой мидии, что является необходимым элементом обнаружения синхронных реакций моллюсков (рис. 4).

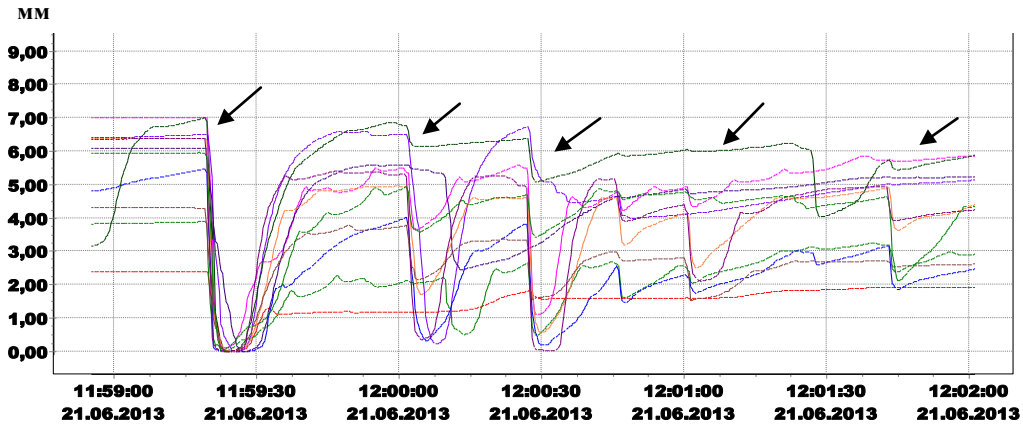
В естественных условиях обитания всем живым организмам присуща определенная ритмика активности в соответствии с сезонными и суточными колебаниями параметров окружающей среды. Изменения поведенческих реакций, возникающие в процессе физиологических адаптаций, отражают ответ организма (различных его систем) на изменения факторов внешней среды. У моллюсков в первую очередь изменяется величина раскрытия и ритмика движения створок, определяющих уровень питания и фильтрационную активность [11, 12].

Моллюски остро реагируют на многие резкие изменения физических фактов окружающей среды. Постукивания по аквариуму (рис. 5), резкие звуки, вибрации, резко упавшая тень на аквариум, выключение света, прикосновение к раковине, изменение скорости течения и т.п. вызывают у моллюсков мгновенное (за 2-3 с) закрывание створок на непродолжительное время, от нескольких секунд до нескольких минут в зависимости от интенсивности воздействия, что, очевидно, является проявлением защитных

рефлексов [2, 3]. Но, при частом повторении этих воздействий величина реакции мидий постепенно снижается и уже через 10–15 минут у мидий полностью восстанавливается нормальный ритм движения створок. Такие кратковременные синхронные реакции моллюсков практически не отражаются на общей ритмике и при создании автоматизированных систем мониторинга водной среды и должны исключаться управляющими компьютерными программами как ложные сигналы.

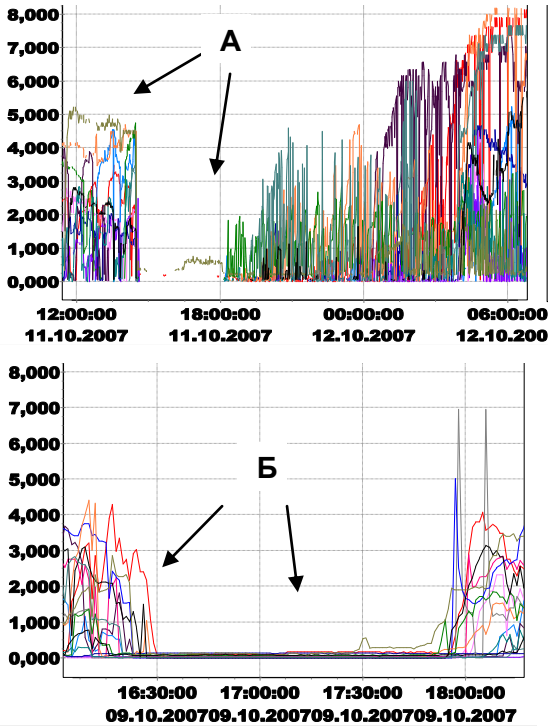


Р и с. 4. Суточный ритм движения створок (среднее по всем мидиям (среднее арифметическое, среднее фильтрованное, среднее квадратическое отклонение) (ось ординат – уровень раскрытия створок в % к максимальному, ось абсцисс – время, дата)



Р и с. 5. Реакция мидий на последовательные постукивания по аквариуму (стрелками отмечены моменты постукиваний (через 30 с))

На острые химические воздействия моллюски отвечают синхронным быстрым закрыванием створок на время присутствия ксенобиотика в воде (рис.6). Латентный период развития реакции от нескольких секунд до нескольких минут. Время возвращения моллюсков к нормальному ритму определяется природой, концентрацией и продолжительностью воздействия загрязняющего агента, т.е. степенью поражения тканей моллюска, и составляет от нескольких минут до нескольких суток.



Р и с. 6. Реакция моллюсков на острые химические воздействия высокой интенсивности (суммарные графики 16 моллюсков; А – Аммиак – 10 ПДК; Б – Гидрохинон – 1 г/л; Стрелками обозначены моменты начала и конца воздействия; ось ординат – уровень раскрытия створок в мм; ось абсцисс – время, дата)

Хроническое воздействие ксенобиотиков невысокой концентрации приводит к быстрому разрушению суточного ритма (рис.7):

А. Среднее арифметическое 14 моллюсков.

Б. График движения створок одиночной мидии (ось ординат – уровень раскрытия створок, мм; ось абсцисс – время, дата).

В. Продолжительность пребывания моллюсков (среднее для 14 мидий) с закрытыми створками в условиях хронического загрязнения воды. Передний столбик пары – время нахождения мидий в закрытом состоянии более 30 минут, второй – общее время пребывания мидии в закрытом состоянии на протяжении суток (ось ординат – продолжительность времени нахождения мидий в закрытом состоянии в минутах и часах, соответственно количеству процентов от времени суток, указанных в табличке вверху столбика; ось ординат – время суток, ось абсцисс – дата).

У моллюсков несинхронно быстро нарастает продолжительность нахождения в закрытом состоянии (в норме 2-3% общего времени суток) от нескольких часов до нескольких суток, изменяется ритмика движений и уменьшается амплитуда раскрытия створок.

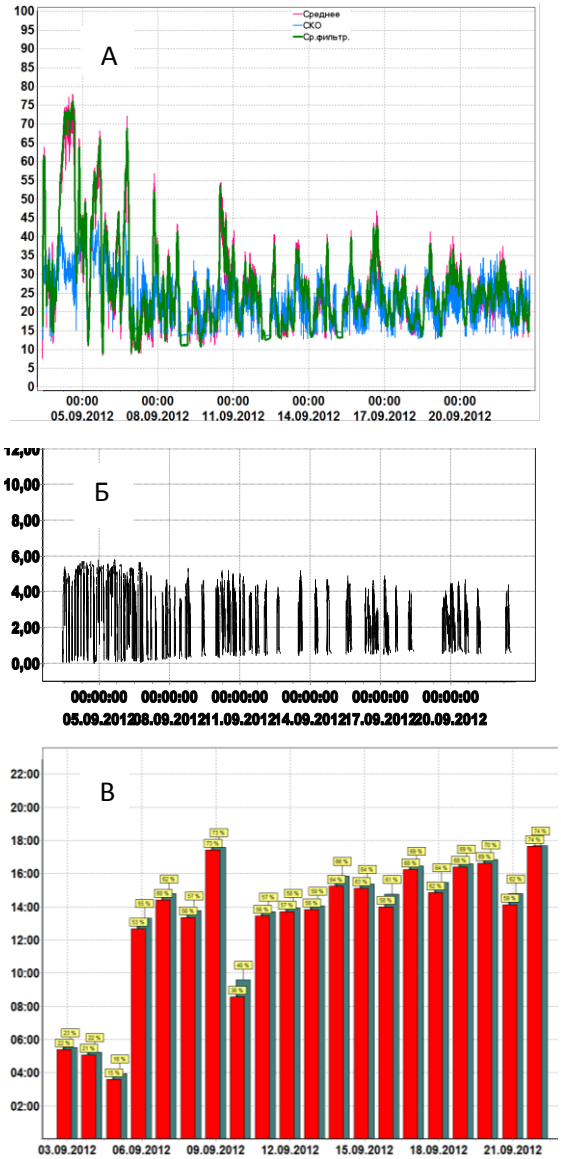


Рис. 7. Суточный ритм движения створок моллюсков в условиях хронического воздействия ксенобиотиков

Во все укорачивающиеся периоды активности моллюски совершают бессистемные схлопывания створками. Это является явным признаком развития стрессовой ситуации, когда моллюски усилением вентиляции жабр пытаются освободиться от опасных для жизни компонентов и свидетельствует о нарушении процессов фильтрации, дыхания и питания [12].

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что биомаркерами благополучного состояния водной среды являются наличие строгой суточной ритмики в движении створок моллюсков в естественных условиях обитания и стабильность проявления циркадного ритма в движении створок.

Биомаркерами хронического воздействия загрязняющих веществ невысокой концентрации являются быстрое нарастание продолжительности периодов пребывания моллюсков в состоянии с закрытыми створками, уменьшение амплитуды раскрытия, изменения характера и частоты схлопываний (аддукций), быстрое разрушении суточного ритма.

Ответной реакцией моллюсков на острые химические воздействия является мгновенное закрывание створок на время присутствия загрязняющего агента в водной среде.

Полученные данные и результаты испытаний являются достаточно полной базой для разработки и внедрения в нашей стране систем автоматизированного биомониторинга водной среды, на основе поведенческих реакций моллюсков, во всех сферах современного водопользования. К числу важнейших преимуществ рассматриваемой системы следует отнести: высокую степень автоматизации мониторинга, возможность легко создавать крупные сети непрерывного, автоматизированного контроля водной среды, высокую надежность, простоту в обслуживании, высокую степень автономности, долговечность и сравнительно невысокую стоимость.

Биологические методы должны использоваться в качестве средств раннего оповещения о возникновении экологически опасного уровня загрязнения воды. В то же время, для определения вида (типа) загрязняющих веществ альтернативы использованию методов физико-химического анализа характеристик воды в настоящее время не существует.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Крайнюкова А.Н.* Биотестирование в системеоценки и контроля источников загрязнения водной среды: автореф. дис. … докт. биол. наук. – Харьков, 1991. – 23 с.
2. *Kramer K.J.M., Botterweg J.M.* Aquatic biological early warning systems // Bioindicators and environmental management. D.W. Jeffrey, B. Madden (eds). – London: Academic Press, 1991. – P. 95–126.
3. *Gunatilaka A., Dreher J. E.* Management of urban groundwater // Part II. Qualitative aspects. In: Groundwater Ecology – A Tool for Management of Water Resources. – 2001. – Eds. C. Griebler, D.L. Danielopol, J. Gibert, H.P. Nachtnebel& J. Notenboom. European Commission Environment and Climate Programme, Energy, Environment and Sustainable.
4. http://www.mosselmonitor.nl (дата обращения: 10.11.2015).
5. http://www.mermayde.nl (дата обращения: 10.11.2015).
6. *Borcherding J.* Ten years of practical experience with the Dreissena-Monitor, a biological early warning system for continuous water quality monitoring // Hydrobiologia, 2006. – 556, 417 – 426.
7. *Холодкевич С.В.* Биоэлектронный мониторинг уровня токсичности природных и сточных вод в реальном времени // Экологическая химия. – 2007. – 16 (4). – С. 223–232.
8. *Трусевич В.В., Мишуров В.Ж., Кузьмин К.А.* Современные биотехнологии в организации мониторинга водной среды // Системы контроля окружающей среды. – Севастополь: МГИ НАН Украины, 2008. – С. 395–399.
9. ПАТЕНТ UA №106661 Устройство для измерения двигательной активности створок моллюсков *Гайский П.В.* Опубл. – 25.09.2014. – Бюл. № 18.
10. *Трусевич В.В., Гайский П.В, Кузьмин К.А.* Автоматизированный биомониторинг водной среды с использованием реакций двустворчатых моллюсков // Морской гидрофизический журнал. МГИ НАНУ. – Севастополь. – 2010. – № 3. – С. 75–83.
11. *Edgar B.A., Lehner C.F.* Developmental control of cell cycle regulators: a fly's perspective // Science. – 1996. – Vol. 274. – P. 1646–1652.
12. *Ortmann C., Grieshaber M.* Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam Corbicula fluminea // J. Exp. Biol. – 2003. – V. 206. – P. 4167–4178.
13. *Curtis T.M., Williamson R., Depledge M.H.* Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel Mytilusedulis exposed to copper // Mar. Biol. – 2000. – V. 136. – P. 837–846.