



Трансформация экосистем Ecosystem Transformation www.ecosysttrans.com

Биотестирование вод эстуария реки Черной (Севастопольская бухта, Черное море) с помощью жаброногого рачка артемии

И.И. Руднева*, В.Г. Шайда

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», 299011, Крым, Севастополь, пр. Нахимова, д. 2

*svg-41@mail.ru

Поступила в редакцию: 13.02.2019

Принята к печати: 31.05.2019

Опубликована онлайн: 16.08.2019

DOI: 10.23859/estr-190213

УДК 57.083.3:628.19

URL: http://www.ecosysttrans.com/publikatsii/detail_page.php?ID=131

ISSN 2619-094X Print

ISSN 2619-0931 Online

Севастопольская бухта представляет собой гетерогенную систему, в кутовой части которой формируется эстуарий реки Черной. Для оценки экологического состояния различных участков бухты и эстуария в летний период 2018 г. в воде, отобранной в семи прибрежных районах, различающихся расположением, гидрологическими условиями и степенью антропогенного влияния, определяли содержание кислорода, соленость, pH, Eh, а также долю выклюнувшихся науплиев из цист артемии *Artemia* sp. Для разных районов показаны различия гидрохимических показателей тестируемых образцов воды и величин выклева личинок из яиц рачка, которые были существенно ниже в наиболее загрязненных пробах воды из области эстуария. Обсуждается возможность использования совокупности методов гидрохимического анализа и биотестирования для повышения информативности оценки экологического состояния прибрежных морских вод на примере Севастопольской бухты и эстуария реки Черной.

Ключевые слова: эстуарий, загрязнение, артемия, цисты, соленость, кислород, окислительно-восстановительный потенциал, биотестирование.

Руднева, И.И., Шайда, В.Г., 2019. Биотестирование вод эстуария реки Черной (Севастопольская бухта, Черное море) с помощью жаброногого рачка артемии. *Трансформация экосистем* 2 (3), 76–84.

Введение

Севастопольская бухта представляет собой сложную систему, в которую входят около 20 бухт, различающихся своей топографией, гидрологическим режимом, береговой инфраструктурой и уровнем антропогенного воздействия (Рис. 1). Длина ее составляет более 7.5 км, площадь – 7.96 км², максимальная глубина – 21 м. От открытого моря Севастопольская бухта отделена искусственным молом, который в значительной степени затрудняет ее водообмен и способствует накоплению в воде и в грунтах загрязнителей различной природы. Основными загрязнителями бухт Севастополя являются нефтепродукты,

тяжелые металлы, биогены, хлорорганические соединения, фенолы и поверхностно-активные вещества (Беляева, 2012; Копытов и др., 2010; Субботин и др., 2007). Такая ситуация характерна для большинства прибрежных вод Крыма. При этом основными источниками загрязнения являются коммунальные стоки, которые в настоящее время составляют 83% от всего объема сброса сточных вод Крымского полуострова и попадают в морскую среду как непосредственно с побережья, так и через реки. В 2016 г. в реки бассейна Черного моря было сброшено 3.067 т нефтепродуктов, 8.167 т СПАВ, 10 370 т сульфатов, 25 650 т хлоридов, 1 721 т нитратов. Объем сточных вод,

имеющих в своем составе загрязнители, составил 84.7% в 2014 г. и 75.8% – в 2016 г. (Иванютин и Подовалова, 2018).

Уровень загрязнения прибрежных акваторий может изменяться, в том числе и в Севастопольской бухте, так как в ней имеются течения, переносящие поллютанты в разные районы, где они оседают на дно. Поэтому подчас довольно сложно определить экологическое состояние морских акваторий, основываясь только на определении в них концентраций загрязняющих веществ. Помимо этого, различные соединения могут взаимодействовать между собой и с компонентами морской воды, проявляя при этом синергические или антагонистические эффекты.

В конце Севастопольская бухта постепенно сужается и оканчивается эстуарием, куда впадает река Черная (Рис. 1). До середины XX века самая верхняя часть Севастопольской бухты имела почти прямоугольную форму и заканчивалась обширным Инкерманским болотом, вдоль юго-западной границы которого располагалась устьевая часть течения р. Черная. В 1950-е гг. после осушения болота и проведения дноуглубительных работ на его месте был образован Инкерманский ковш, характеризующийся сложной береговой инфраструктурой, имеющий площадь акватории около 0.18 км² с преобладающими глубинами от 5 до 8 м, максимальной глубиной – 8.6 м. Ковш был соединен с бухтой глубоководным (до 8.4 м) Чернореченским каналом. От места впадения реки в Инкерманский ковш на расстоянии примерно 100 м вверх по течению русло реки Черной было спрямлено и углублено до 5–6 м; в настоящее время глубины уменьшились до 1.5–3 м. В результате этих значительных антропогенных преобразований сформировался единственный в Крыму типичный эстуарий. Для него характер-

но увеличение солености воды от поверхности к дну и по направлению к морю, с выраженным клином соленой воды, проникающим относительно далеко вверх по течению реки и двухслойностью, обусловленной большим градиентом плотности между распресненными поверхностными и солеными придонными водами. Положение его границ квазистационарно, условно проходит в нижнем течении р. Черной (в среднем примерно в 1800 м от устья) и на выходе из Чернореченского канала в бухту и полностью охватывает Инкерманский ковш (Болтачев и Карпова, 2012). Этот район, называемый Инкерманом, представляет особый интерес в экологическом плане, так как сочетание природных и антропогенных факторов создали уникальную экосистему, позволяющую проанализировать интегральное влияние этих компонентов на условия обитания гидробионтов. Здесь смешиваются морские и пресные воды, соленость и температура которых может меняться как в течение года, так и на протяжении суток.

Прибрежная территория Инкермана имеет сложную инфраструктуру: здесь находится выпуск вод ГРЭС, предприятие по разделке отслуживших и подлежащих утилизации кораблей («разделочная стенка»), стоянки кораблей, погрузочный и перевалочный комплекс «Авлита», через который осуществляется транспортировка различных грузов, и т.д. Таким образом, наряду с природными особенностями этой акватории, обусловленными перемешиванием морских и пресных вод, имеет место и их загрязнение в результате интенсивной хозяйственной деятельности на побережье, включая объекты коммунального хозяйства. В то же время данные по загрязнению этой акватории практически отсутствуют. Активная динамика перемещения водных масс и содержащихся в них соединений антропогенного происхождения соз-

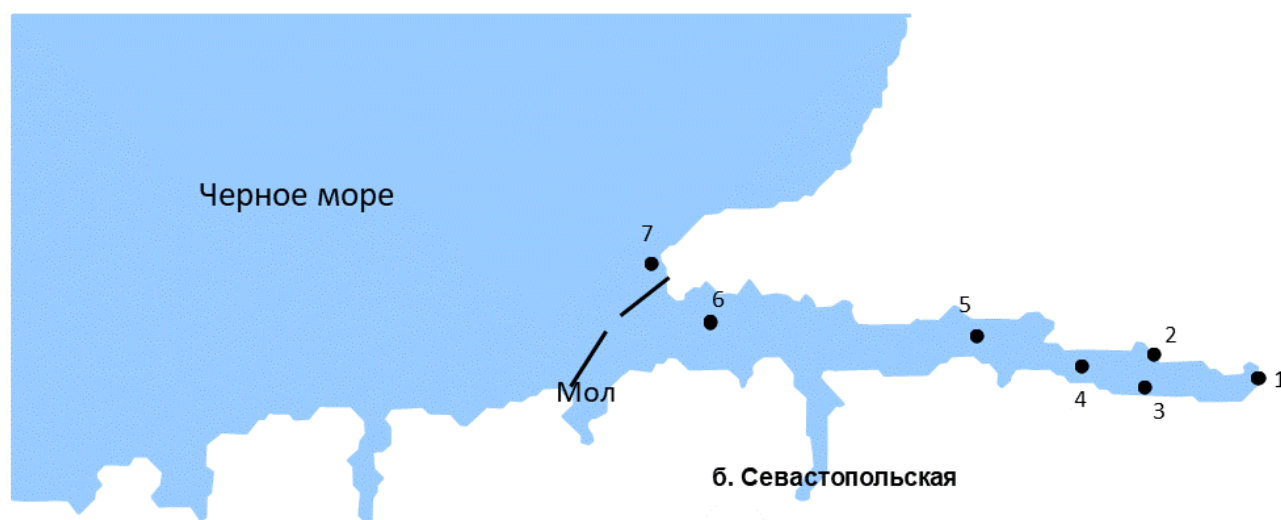


Рис. 1. Севастопольская бухта и станции отбора проб. 1 – Инкерманский мост; 2 – ковш; 3 – «разделочная стенка»; 4 – конец канала; 5 – бухта Сухарная; 6 – Константиновский рavelин; 7 – мыс Толстый.

дает определенные сложности для диагностики экологического состояния отдельных участков бухты. В связи с этим методы биотестирования могут быть полезны для решения данных задач.

В настоящее время для оценки токсичности природных вод недостаточно определить в них наличие тех или иных загрязнителей и установить их концентрации. Полученные данные могут не отражать истинной картины экологического состояния водных объектов с постоянно изменяющимся гидрологическим и гидрохимическим режимом, к которым в том числе относятся эстуарии. Поэтому все чаще применяют методы биотестирования с использованием для этого различных гидробионтов. Одним из них является артемия *Artemia* sp. (Crustacea: Branchiopoda) – типичный обитатель соленых вод. Артемия является неселективным фильтратором. Обладая эффективной системой осморегуляции, она способна переносить достаточно резкие колебания солености. Рачок может существовать в среде с соленостью менее 70 г/л, если в соответствующем биотопе нет хищников, а также выживает при солености более 250 г/л, продуцируя при этом цисты. Благодаря синтезу специальных ферментов, способных удерживать кислород, артемия переносит его снижение в воде до критических значений. Большинство географических рас рачка адаптировано к существованию при температурах 6–35 °С, соответствующей солености и ионному составу среды обитания (van Stappen, 1996). Жизненные стадии рачка весьма чувствительны к разным видам загрязнения, в связи с чем артемия рекомендована как тест-объект для проведения оценки состояния природных вод и для мониторинга естественных морских и соленых акваторий (van Steertegem and Persoone, 1993; United States environmental protection agency, 1983). В качестве «конечных точек» в токсикологических исследованиях учитывают долю цист артемии, из которых вылупились науплии, их выживаемость в течение определенного времени, изменения их морфологических характеристик, а также поведение, скорость плавания взрослых особей, их биохимические параметры (Bagshaw et al., 1986; Brix et al., 2006; Neumeyer et al., 2014).

На основании приведенных выше данных можно прогнозировать формирование различных уровней загрязнения тестируемых акваторий Севастопольской бухты и изменение гидрохимических показателей воды, которые оказывают непосредственное влияние на состояние среды обитания гидробионтов. Целью настоящей работы явилось исследование некоторых физико-химических параметров воды в различных районах Севастопольской бухты и их биотестирование с использованием характеристик вылупления личинок из цист артемии.

Материалы и методы исследований

Пробы воды отбирали в августе 2018 г. в разных районах Севастопольской бухты на 7 станциях: станция 1 – Инкерманский мост, непосредственно прилегающий к устью реки Черной; станция 2 – ковш; станция 3 – «разделочная стенка»; станция 4 – конец канала; станция 5 – бухта Сухарная; станция 6 – акватория у Константиновского равелина, располагающегося за искусственным молотом; станция 7 – акватория у мыса Толстого в открытом море (Рис. 1). Температуру измеряли непосредственно в воде с помощью электронного термометра HANNA Instruments Check Temp-1 (Россия). Водородный показатель pH, окислительно-восстановительный потенциал (Eh), концентрацию растворенного в воде кислорода определяли в лабораторных условиях с помощью анализатора Expert-001 (Econix-Expert Моеха CoLtd, Москва, Россия) с использованием соответствующих селективных электродов фирмы Вольта (Санкт-Петербург, Россия).

Соленость воды измеряли с помощью рефрактометра PAL-06S LTrNA GO (Япония) и выражали в промилле (‰). Образцы воды, отобранные в разных участках Севастопольской бухты, перед определением перечисленных параметров хранили в холодильнике при +4 °С, измерения проводили не позднее 4–6 часов после взятия проб.

Биотестирование воды с помощью параметров вылупления науплиев из цист артемии

Для биотестирования проб воды из разных участков Севастопольской бухты использовали цисты артемии, собранные на побережье соленого Сакского озера (г. Саки, Крым). Собранные цисты рачка отмывали согласно общепринятым рекомендациям (El-Magsodi et al., 2005; van Stappen, 1996), подсушивали, после чего помещали в тестируемые образцы воды, взятые из различных участков бухты. В качестве контроля проводили инкубацию цист в морской воде с соленостью 18‰, отобранной на расстоянии 2 морских миль от берега (контроль 1), а также в стандартных условиях (контроль 2, среда инкубации соленостью 35‰) и содержали при температуре +25 °С в течение 48 часов при периодическом перемешивании. Долю вылупившихся из цист науплиев определяли как отношение числа выклюнувшихся через 24 и 48 часов науплиев к числу помещенных в инкубационную среду цист. Помимо этого, определяли процент вылупления науплиев артемии в тестируемых образцах воды по отношению к контролю в стандартных условиях (35‰) и в воде из 2-мильной зоны (18‰).

Статистический анализ результатов

Все гидрохимические определения проводили в трех повторностях. Определение числа науплиев, выклюнувшихся из цист артемии, проводили в 5 повторностях; расчет для каждого образца осуществляли 3 раза. Статистические различия между исследуемыми показателями устанавливали с помощью теста Стьюдента при уровне значимости $p < 0.05$ (Халафян, 2008). Корреляционный анализ проводили с помощью компьютерной программы CURFVIT (версия 2.10-L).

Результаты исследований

Результаты исследований позволили установить, что содержание кислорода в исследуемых образцах воды изменялось в пределах 7.37–9.26 мг/л (Рис. 2). При этом самые высокие значения были отмечены в прибрежных водах Константиновского равелина (станция 6, 9.26 мг/л), а самые низкие – у устья реки Черной в районе Инкермана (станция 1) и у «разделочной стенки» (станция 3). Показатели рН изменялись в меньшей степени, но и в этом случае можно отметить их снижение до 7.49–7.51 в пробах воды, отобранных на станциях 1 и 3 по сравнению с другими образцами, в которых они были выше 7.61. Соленость изменялась в диапазоне 15–19‰, причем была существенно ниже в двух местах отбора проб – на станциях 1 и 3, как и в предыдущих случаях. Такая же тенденция была отмечена для показателей Eh, но только для образцов воды со станции 1. Не установлено корреляционной зависимости между содержанием кислорода и соленостью. В то же время между концентрацией

кислорода в воде и рН и Eh обнаружена умеренная связь ($r = 0.44–0.56$), так же как между соленостью, рН и Eh ($r = 0.44–0.52$). Однако между рН и Eh отмечена высокая корреляция ($r = 0.97$).

Таким образом, результаты исследований позволили установить определенные различия между исследуемыми гидрохимическими характеристиками тестируемых акваторий Севастопольской бухты.

Как показало биотестирование качества образцов воды с помощью цист артемии, доля вылупившихся из них науплиев в исследуемых районах также была различной (Рис. 3). Через 24 часа и 48 часов инкубации процент вылупившихся личинок практически не изменился в тестируемых пробах воды, отобранных на станции 7 у мыса Толстого ($14.3 \pm 1.3\%$ и $16.9 \pm 2.9\%$), в пробах воды со станций 5 (11.0 ± 1.6 и $11.0 \pm 2.6\%$) и 1 (16.0 ± 1.7 и $15.0 \pm 2.5\%$ соответственно), но этот показатель существенно возрос через 48 часов в образцах, взятых у Константиновского равелина на станции 6 ($11.7 \pm 1.4\%$ через 24 часа против $28.7 \pm 4.5\%$ через 48 часов). Такая же тенденция, но выраженная в меньшей степени, установлена при определении выклева науплиев из цист в воде станций 3 ($13.1 \pm 1.2\%$ и $17.3 \pm 2.3\%$), 2 ($9.8 \pm 1.2\%$ и $14.8 \pm 2.5\%$) и 4 ($11.7 \pm 1.8\%$ и $15.2 \pm 2.1\%$ соответственно).

Сравнительный анализ доли вылупившихся науплиев из цист артемии в тестируемых пробах воды из разных участков Севастопольской бухты и контрольных значений также позволил выявить некоторые особенности (Табл. 1). Как можно видеть, процент вылупления науплиев из цист артемии, инкубированных в течение 24 часов во всех опытных образцах, почти не различался или имел

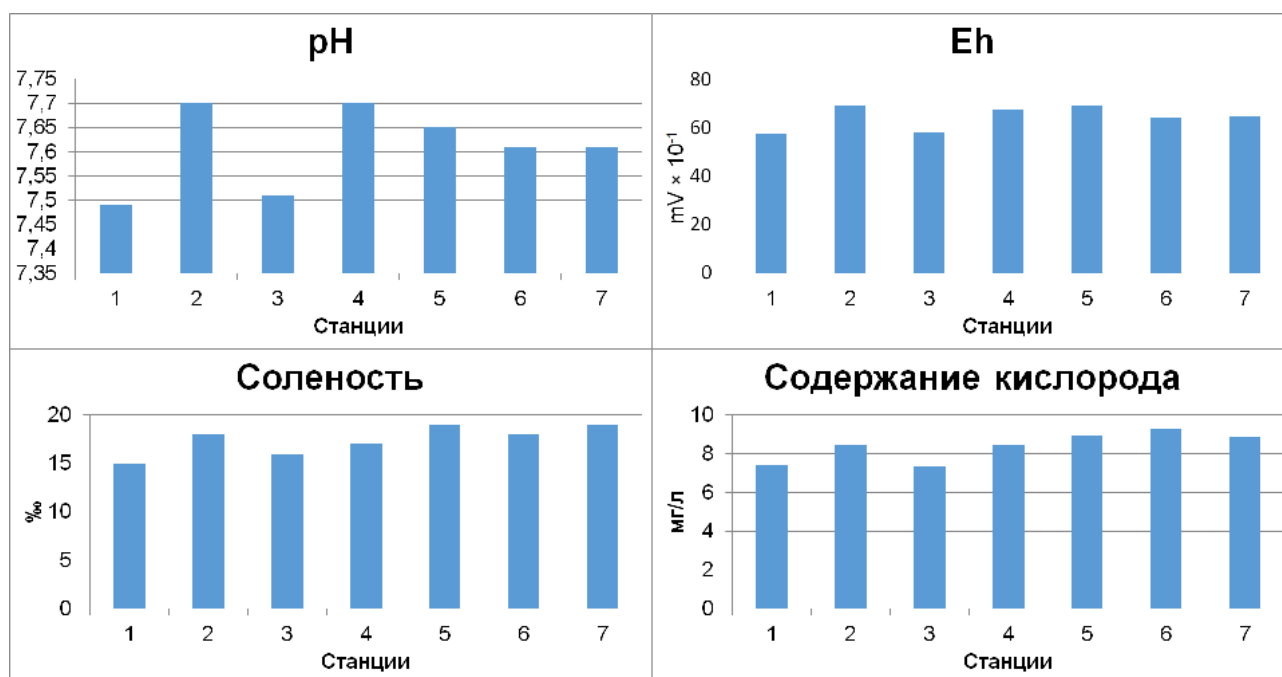


Рис. 2. Гидрохимические параметры проб воды из разных районов Севастопольской бухты.

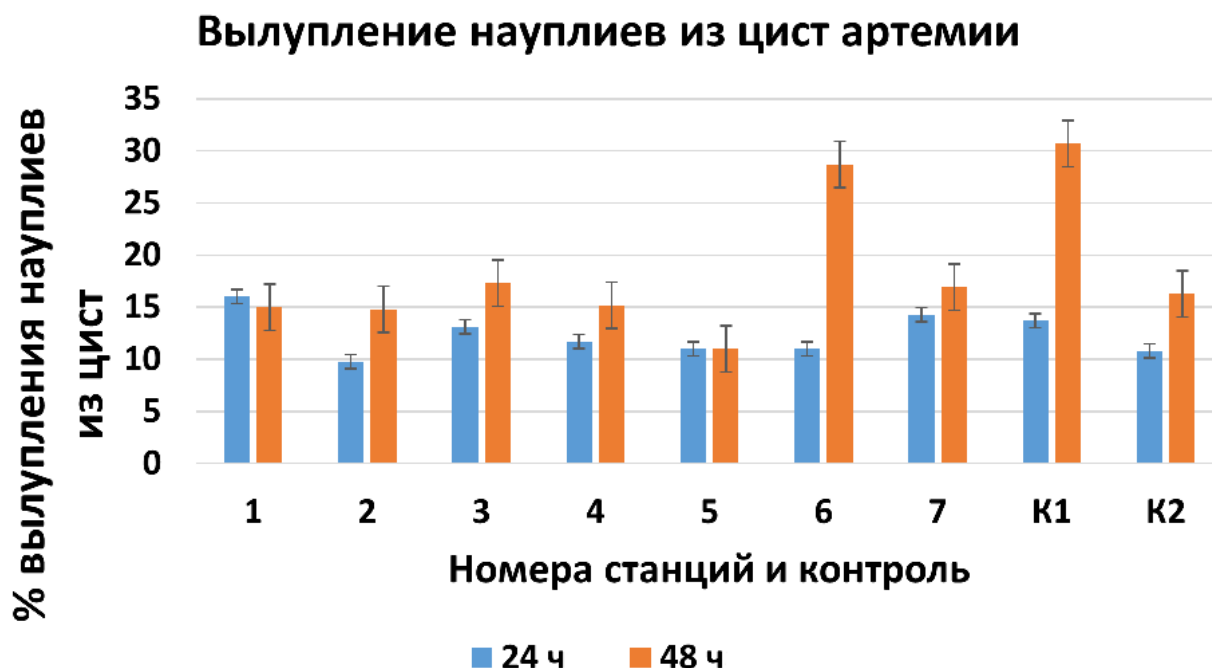


Рис. 3. Вылупление науплиев из цист (среднее \pm ст. откл., $n = 15$) в воде из разных районов Севастопольской бухты. 1–7 – станции отбора проб, K1 – контроль 1 (инкубация цист происходила в черноморской воде соленостью 18‰, взятой в 2-мильной зоне); K2 – контроль 2 (инкубация цист происходила в стандартных условиях в воде соленостью 35‰).

тенденцию к снижению по сравнению с данными, полученными для контроля 1. Через 48 часов отмеченная тенденция проявлялась в большей степени, и процент вылупления науплиев из яиц рачка во всех опытных вариантах был снижен по сравнению с контролем 1 на 7–64%. При этом наиболее отчетливо установленная закономерность выражена при тестировании проб воды со станций 1–5 и 7.

Сравнительный анализ доли вылупившихся науплиев из цист артемии в воде тестируемых акваторий по отношению к величинам контроля 2 (инкубационная среда соленостью 35‰) также не показал достоверных различий через 24 часа инкубации. Через 48 часов картина была несколько иной, но различия также были не достоверны. Вместе с тем можно отметить тенденцию увеличения доли выклева науплиев из цист артемии, инкубированных в воде из акватории станции 6 близ Константиновского равелина, но незначительное снижение этого показателя в пробах воды из районов станций 1–5.

Таким образом, результаты исследований показали различное влияние среды инкубации, в качестве которой использовали воду из разных частей Севастопольской бухты, на вылупление личинок из цист артемии, используемых как тест-объект. При этом в большинстве случаев тестируемые пробы воды из разных районов Севастопольской бухты и особенно из акваторий Инкермана оказывали ингибирующий эффект на выклев личинок из цист

рачка. Не обнаружено существенной корреляции между гидрохимическими параметрами воды и вылуплением науплиев из цист артемии, за исключением умеренной зависимости между pH, Eh и процентом вылупления науплиев из цист через 24 часа ($r = 0.45$ и 0.39 соответственно).

Обсуждение результатов

На основании проведенных исследований можно видеть существенные различия тестируемых гидрохимических показателей прибрежных акваторий Севастопольской бухты. Сравнительный анализ изучаемых параметров показал, что содержание кислорода в воде было выше в открытой части моря, то есть на станции 7, примыкающей к мысу Толстый, в Севастопольской бухте на станции 6, расположенной около Константиновского равелина, и на станции 5 в б. Сухарная, тогда как по направлению к эстуарию (станции с 4 по 1) его величина снижалась. Такая же тенденция была отмечена для значений окислительно-восстановительного потенциала Eh. Наравне с активной реакцией среды pH это показатель оказывает существенное влияние на экологическое состояние водоема. От значений Eh зависит интенсивность фотосинтеза, дыхания и окислительно-восстановительных процессов (Hargrave et al., 2008). Известно, что в естественных водоемах Eh колеблется от -400 до $+700$ мВ, что определяется совокупностью всех происходящих в них окислительных и восстановительных процессов.

Табл. 1. Вылупление науплиев из цист артемии в тестируемых пробах воды из Севастопольской бухты по отношению к контролю 1 (черноморская вода из 2-х мильной зоны соленостью 18‰) и контролю 2 (стандартная среда инкубации соленостью 35‰), взятых за 100%; н/д – различие не достоверно по отношению к контролю.

Район отбора проб	% к контролю 1		% к контролю 2	
	24 часа	48 часов	24 часа	48 часов
Станция 1	+16.8 (н/д)	-44.0 (p < 0.01)	+48.1 (н/д)	-8.0 (н/д)
Станция 2	-28.5 (н/д)	-50.0 (p < 0.01)	-10.0 (н/д)	-9.3 (н/д)
Станция 3	0 (н/д)	-52.0 (p < 0.01)	+21.3 (н/д)	+6.0 (н/д)
Станция 4	-15.0 (н/д)	-50.0 (p < 0.01)	+8.3 (н/д)	-7.0 (н/д)
Станция 5	-20.0 (н/д)	-64.0 (p < 0.01)	+1.8 (н/д)	-33.5 (н/д)
Станция 6	-20.0 (н/д)	-7.0 (p < 0.01)	+1.8 (н/д)	+76.0 (н/д)
Станция 7	+4.0 (н/д)	-45.0 (p < 0.05)	+32.4 (н/д)	+3.6 (н/д)

В исследуемых акваториях Севастопольской бухты этот показатель варьировал незначительно в пределах от -57.7 до -69.6 мВ.

Кислород в природной воде обладает самой мощной окислительной способностью, водород – восстановительной. В воде постоянно происходят как окислительные, так и восстановительные реакции. При загрязнении водоема и попадании в него большого количества минеральных и органических веществ или при разложении отмерших частей растений и животных окислительно-восстановительный потенциал может резко возрасти. Повышает этот показатель и процесс эвтрофирования, что обусловлено интенсивным развитием фитопланктона и активной жизнедеятельностью микроводорослей в морской среде (Ciglenecki and Cosovic, 1996). Окислительные процессы уменьшают рН воды, восстановительные способствуют его повышению. В свою очередь, показатель рН влияет на величину Eh. Редокс-потенциал имеет более низкие значения в придонных слоях воды. У поверхности грунта он больше, чем в самом грунте. Поскольку показатели рН колеблются в течение суток, изменяется и величина Eh, которая зависит также от температуры (Федоров и др., 2011; Plavsic et al., 2011).

В части Севастопольской бухты, примыкающей к дельте р. Черной, в течение года температура воды на поверхности изменяется от 0 до 26.6 °С, а у дна зимой не опускается ниже 4 °С; соленость колеблется от 3.25 до 16.13 ‰ на поверхности и от 14.74 до 17.36 ‰ в придонном слое. Для данного эстуария характерна высокая динамика термогалинных характеристик, которые в зависимости от гидрометеорологических условий могут изменяться как по горизонтали, так и по вертикали в различном временном интервале от нескольких десятков минут и часов до сезонов. Было показано, что на расстоянии около 380 м от

современного устья реки соленость воды в течение года на поверхности изменялась в пределах от 4.90 до 15.04 ‰, а у дна – от 14.34 до 17.42 ‰. Крайние значения температур поверхностного слоя воды менялись от 0 °С с образованием льда зимой до 27.6 °С летом. Анализ межгодовой динамики термогалинных характеристик выявил тенденции увеличения солености воды как в придонном, так и, в большей степени, в поверхностном слое и значительное уменьшение амплитуды колебаний этого показателя в эстуарии в целом (Болтачев и Карпова, 2012).

Проведенные исследования также показали различие гидрохимических характеристик образцов воды, отобранных в разных районах Севастопольской бухты. Если в прибрежье Константиновского равелина (станция 6) и у мыса Толстый (станция 7) гидрохимические параметры имели сходство, то по мере удаления от открытого моря они существенно менялись. Это выразилось в снижении солености и содержания кислорода, что, вероятно, обусловлено непосредственным влиянием стока р. Черной. Однако, помимо этого, следует учитывать также и воздействие антропогенной деятельности на экологическое состояние прибрежных вод, что особенно проявляется в акватории Севастопольской бухты в районе Инкермана на станциях 1–5.

В воду устья р. Черной происходит слив сельскохозяйственных стоков в количестве 600 000 м³ в год (Овсяный и др., 2001). Совершенно очевидно, что содержащиеся в них загрязнители попадают в р. Черную и по ее течению – в Севастопольскую бухту. В них содержится от 48% до 52% минерального азота и фосфора. В пруду-напителе концентрация нитратов в 5–10 раз выше, чем в воде Севастопольской бухты. Дополнительный вклад в загрязнение этой части бухты вносят муниципальные стоки, выпуски с кораблей и ме-

таллоразделочных предприятий, а также сброс теплых вод ГРЭС, которые распределяются по акватории под воздействием подводных течений, характерных для этой бухты.

Ранее нами было показано, что загрязнение Севастопольской бухты в районе эстуария р. Черной достигает существенных величин, что крайне неблагоприятно сказывается на состоянии обитателей этой части акватории (Rudneva et al., 2016). Однако оценить экологическое состояние отдельных прибрежных районов достаточно сложно, так как комплексное загрязнение, которое они испытывают в результате масштабной антропогенной деятельности на берегах бухты и в прибрежных водах, с учетом особенностей гидродинамической ситуации не позволяют выделить доминирующие негативные факторы.

В связи с этим нами было предпринято биотестирование исследуемых районов на основе метода расчета количества вылупившихся науплиев из цист артемии, который широко применяется в экотоксикологических исследованиях (Neumeier et al., 2014; Yu and Lu, 2018). В этом случае биотестирование образцов воды позволяет определить качество среды для жизнедеятельности гидробионтов.

Результаты показали, что выклев личинок из яиц артемии оказался ниже при инкубировании их в пробах воды из тестируемых участков станций 1, 2, 4 и 5 по сравнению с соответствующими результатами, полученными при содержании цист в воде из 2-мильной зоны открытого моря (контроль 1). Очевидно, в этом случае в исследуемых образцах воды могут содержаться компоненты, отрицательно воздействующие на процесс развития эмбрионов рачка и их выход из оболочки цист. Результаты, полученные другими авторами, показали, что на процесс вылупления науплиев из цист артемии могут влиять тяжелые металлы, присутствующие в среде инкубации (Bagshaw et al., 1986; Brix et al., 2006). В частности, было отмечено, что кадмий (6.5 и 65 мг/л) и цинк (11.2 и 112 мг/л) блокировали выклев науплиев из цист даже через 48 часов инкубации. Более того, происходила существенная задержка процесса выхода личинок и изменение их дальнейшего развития (Bagshaw et al., 1986). В то же время концентрация кадмия в воде в пределах 0.01–5 мг/л существенно не повлияла на выклев личинок рачка, но впоследствии плодовитость самок, полученных в среде с тяжелым металлом, была ниже, чем в контроле (Sarabia et al., 2003). Далее было обнаружено, что в еще большей степени на процесс вылупления влияло присутствие в воде ионов меди, к которым разные онтогенетические стадии рачка оказались очень чувствительными (Brix et al., 2006). Значительно снижалось количество вылупившихся науплиев в присутствии диурона и иргарола – препаратов,

применяемых против обрастания корпуса морских судов, доков и аквакультурных конструкций. Исследования токсичности этих компонентов для артемии показали незначительное снижение процента выклева личинок из цист при концентрации иргарола в среде 1 и 3 мг/л, тогда как при концентрации диурона 1 и 25 мг/л наблюдалось достоверное уменьшение этого показателя (Alyuruk and Cavas, 2013). Авторы предположили, что эти компоненты блокировали активный центр специальных ферментов сериновых протеаз, которые принимают непосредственное участие в обеспечении успешного выхода личинок из яйца. Однако в дальнейшем существенных отклонений в развитии личинок отмечено не было.

Дозозависимые эффекты ингибирования выклева науплиев из яиц были установлены в присутствии в среде инкубации диэтиленгликоля и додецилсульфата натрия (Rotini et al., 2015). Некоторые препараты, применяемые в аквакультуре, включая антибиотики, также способны ингибировать вылупление науплиев из цист артемии, изменять пигментацию и выживаемость личинок (Migliore et al., 1997).

В то же время следует отметить, что соленость также влияет на выклев науплиев и их дальнейшее развитие, что подтверждает сравнительный анализ результатов, полученных при сравнении с показателями контроля 2 (инкубация цист в воде соленостью 35‰) и согласуется с данными других авторов (Neumeier et al., 2014). В частности, даже небольшое увеличение солености в допустимых пределах (20–35‰) может привести к неполному вылуплению или изменениям морфологического строения личинок. Кроме того, изменение солености существенно модифицирует токсический эффект соединений, находящихся в среде. Так, снижение солености привело к значительному уменьшению токсического действия медь-пиритиона (аналог трибутилина, применяемого как антифолиант в красках для корпуса кораблей) на науплиев артемии (Koutsaftis and Aoyama, 2008).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили заключить, что снижение выклева науплиев из цист артемии в воде, отобранной из разных участков акватории Севастопольской бухты по сравнению с показателями контроля, где в качестве среды использовали воду из 2-мильной зоны, свидетельствует о негативном влиянии компонентов, содержащихся в опытных образцах, на процесс выклева личинок из яиц рачка. В частности, к таким компонентам могут быть отнесены тяжелые металлы, нефтепродукты, антифолианты, входящие в состав краски для обработки корпуса кораблей и попадающие в морскую воду в результате их утилизации на предприятиях, расположенных в этом районе.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о значительных различиях гидрохимических показателей прибрежных вод разных районов Севастопольской бухты, которые определяются как естественными факторами, так и уровнем антропогенного воздействия. Учитывая специфичность исследуемой акватории, обусловленной наличием эстуария реки Черной, существенный вклад в оценку экологического состояния акватории может дать комплексное исследование физико-химических параметров воды и оценка ее качества с помощью методов биотестирования.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-44-920007 «Роль глобальных и локальных факторов в формировании ихтиопланктонных сообществ Черного моря». Авторы выражают искреннюю благодарность сотруднику ИнБЮМ РАН В.И. Губанову за помощь в отборе проб воды в Севастопольской бухте.

Список литературы

- Беляева, О.И., 2012. О загрязнении ливневых стоков, поступающих в прибрежную зону Черного моря (обзор). *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: География* **25** (64), № 2, 20–27.
- Болтачев, А.Р., Карпова, Е.П., 2012. Ихтиофауна прибрежной зоны Севастополя (Черное море). *Морской экологический журнал* **11** (2), 10–27.
- Иванютин, Н.М., Подовалова, С.В. 2018. Загрязнение водных объектов Крыма сточными водами. *Экология и строительство* **1**, 4–8. <https://doi.org/10.24411/2413-8452-2018-00001>.
- Копытов, Ю.П., Минкина, Н.И., Самышев, Э.З., 2010. Уровень загрязненности воды и донных отложений Севастопольской бухты (Черное море). *Системы контроля окружающей среды* **14**, 199–208.
- Овсяный, Е.И., Романов, А.С., Миньковская, Р.Я., 2001. Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона. *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа* **2**, 138–152.
- Субботин, А.А., Губанов, В.И., Трощенко, О.А., 2007. Современное состояние отдельных элементов экосистемы бухты Александровская (район Севастополя). *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа* **15**, 89–93.
- Федоров, Ю.А., Зимовец, А.А., Овсепян, И.В., Доценко, А.Э., 2011. Физико-химические условия в устьевой области Северной Двины и их влияние на формы нахождения и миграции ртути. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки* **2**, 86–89.
- Халафян, А.А., 2008. Глава 8. Анализ вариаций. *Статистика 6. Статистический анализ данных*. Биом, Москва, Россия, 133–152.
- Alyuruk, H., Cavas, L., 2013. Toxicity of diuron and irgarol on the hatchability and early stage development of *Artemia salina*. *Turkish Journal of Biology* **37**, 151–157. <https://doi.org/10.3906/biy-1205-39>.
- Bagshaw, J.C., Rafiee, P., Matthews, C.O., MacRae, T.H., 1986. Cadmium and zinc reversibly arrest development of *Artemia* larvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **37**, 289–296.
- Brix, K.V., Gerdes, R.M., Adams, W.J., Grosell, M., 2006. Effect of copper, cadmium, and zinc on the hatching success of brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **51**, 580–583. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0244-z>.
- Ciglenceki, I., Cosovic, B., 1996. Electrochemical study of sulphur species in seawater and marine phytoplankton cultures. *Marine Chemistry* **52**, 87–97.
- El-Magsodi, M.O., El-Ghebli, H.M., Hamza, M., Stappen, van, G., Sorgeloos, P., 2005. Characterization of Libyan *Artemia* from Abu Kammash Sabkha. *Libyan Journal of Marine Science* **10**, 19–29.
- Hargrave, B.T., Holmer, M., Newcombe, C.P., 2008. Towards a classification of organic enrichment in marine sediments based on biochemical indicators. *Marine Pollution Bulletin* **56**, 810–824. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.02.006>.
- Koutsaftis, A., Aoyama, I., 2008. Toxicity of diuron and copper pyrithione on the brine shrimp *Artemia franciscana*: the effects of temperature and salinity. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **43**, 1581–1585. <https://doi.org/10.1080/10934520802329794>.
- Migliore, L., Civitareale, C., Brambilla, G., Dojmi di Delupis, G., 1997. Toxicity of several important

- antibiotics to *Artemia*. *Water Resources* **31**, 1801–1806.
- Neumeyer, C.H., Gerlach, J.L., Ruggiero, K.M., Covi, J.A., 2014. A novel model of early development in the brine shrimp, *Artemia franciscana*, and its use in assessing the effects of environmental variables on development, emergence, and hatching. *Journal of Morphology* **276**, 342–360. <https://doi.org/10.1002/jmor.20344>.
- Plavsic, M., Ciglenceki-Jusic, I., Strmecki, S., Bura-Nakic, E., 2011. Seasonal distribution of organic matter and copper under stratified conditions in the karstic, marine, sulfide rich environment (Rogoznica Lake, Croatia). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **92**, 277–285.
- Rotini, A., Rotini, L., Manfra, S., Canepa, A., Tornambè, L., Migliore, A., 2015. *Artemia* hatching assay be a (sensitive) alternative tool to acute toxicity test?! *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **95**, 745–751.
- Rudneva, I.I., Boltachev, A.R., Karpova, E.P., Kovyreshina, T.B., Skuratovskaya, E.N., Chesnokova, I.I., 2016. Chapter 2. *Gobiidae* species in Black Sea estuaries and Bays: Biodiversity, Health Status and Conservation. In: Martinez, E.K. (ed.) *Coastal Fishes: Habitat, Behavior and Conservation*. Nova Science Publishers, New York, USA, 63–114.
- Sarabia, R., Del Ramo, J., Diaz-Mavans, J., Torreblanca, A., 2003. Development and reproductive effects of low cadmium concentration on *Artemia parthenogenetica*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **38**, 1065–1071. <https://doi.org/10.1081/ESE-120019864>.
- Stappen, van, G., 1996. Use of cysts. *FAO Fisheries Technical Paper* **36**, 102–123.
- Steertegem, van, M., Persoone, G., 1993. Cyst-based toxicity tests: V. Development and critical evaluation of standardized toxicity tests with the brine shrimp (Anostraca, Crustacea). In: Soares, A.M.V.M., Calow, P. (eds.), *Progress in Standardization of Aquatic Toxicity Tests*. Lewis Publishers, New York, USA, 81–97.
- United States environmental protection agency (US EPA), 1983. *Proceedings of seminar on methodology or monitoring the marine environment*. USE PA EPA600/4-74-004.
- Yu, J., Lu, Y., 2018. *Artemia* spp. model – a well-established method for rapidly assessing the toxicity on an environmental perspective. *Medical Research Archives* **6** (2), 1–15.

Bioassay of the estuary waters of the Chernaya River (Bay of Sevastopol, Black Sea) using the brine shrimp *Artemia* (Crustacea: Brachiopoda)

Irina I. Rudneva*, Valentin G. Shayda

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas (IBSS), Russian Academy of Sciences, pr. Nakhimova 2, Sevastopol, 299011 Republic of Crimea

*svg-41@mail.ru

The area of Sevastopol Bay is a heterogeneous system, with the estuary of the Chernaya River in the apical part. To assess the ecological status of various parts of the bay and estuary in the summer season of 2018, we determined the oxygen content, salinity, pH, Eh, as well as the proportion of nauplii hatched from the cysts of *Artemia* sp. in water samples from seven coastal areas, differing in location, hydrological conditions and level of anthropogenic influence. For different areas, hydrochemical indices of the water samples tested and hatching values of larvae from crustacean eggs are shown to be different; these were significantly lower in the most polluted water samples from the estuary area. The possibility of using a set of methods of hydrochemical analysis and biotesting to improve the information content of assessments of the ecological status of coastal sea waters is discussed, using the example of the Bay of Sevastopol and the estuary of the Chernaya River.

Keywords: estuary, pollution, *Artemia*, cysts, salinity, oxygen, redox potential, biotesting.