

БИОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ Г. СЕВАСТОПОЛЯ

Скуратовская Е.Н.¹, Дорошенко Ю.В.¹, Алёмова А.С.², Ковалева М.А.¹

¹ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН
просп. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ; e-mail: skuratovskaya2007@rambler.ru

² Воронежский государственный университет
Университетская площадь, 1, г. Воронеж, 394018, РФ

Поступила в редакцию: 15.07.2020

Аннотация. Активная эксплуатация прибрежных районов в комплексе с техногенным загрязнением неизбежно приводит к истощению биологических ресурсов и ухудшению их состояния. Одним из таких районов является акватория г. Севастополя, которая служит коллектором различных загрязнителей. В связи с этим контроль загрязнения водной среды и состояния биоты севастопольских бухт остаются основными задачами регионального экологического мониторинга с применением методов биоиндикации. Методы микробной индикации дают возможность выявлять и контролировать появление загрязняющих веществ в воде гораздо раньше, чем происходят необратимые токсические эффекты у гидробионтов. Мидии часто используются в качестве биоиндикаторов загрязнённости морской воды благодаря значительной аккумуляции загрязняющих веществ в их организме при относительно низкой концентрации поллютантов в среде. В работе проведена оценка экологического состояния прибрежных акваторий г. Севастополя по результатам микробиологического мониторинга донных отложений (общее количество гетеротрофов и численность углеводородокисляющих бактерий) и параметрам прооксидантно-антиоксидантной системы (уровень окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов, активность супероксиддисмутазы и каталазы) гепатопанкреаса мидии *Mytilus galloprovincialis*. Исследования проводили в трех севастопольских бухтах с разным уровнем загрязнения летом 2019 г.: Ласпи, Казачьей, Стрелецкой. Максимальные значения численности гетеротрофных и углеводородокисляющих микроорганизмов обнаружены в грунтах б. Стрелецкой, минимальные – в донных отложениях б. Ласпи. Отмечено достоверное увеличение параметров прооксидантно-антиоксидантной системы в гепатопанкреасе мидий из бухты Стрелецкой по сравнению с соответствующими показателями экземпляров из б. Казачьей и б. Ласпи. Полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне загрязнения и менее благоприятных условиях обитания гидробионтов в акватории б. Стрелецкой. Исследованные показатели можно использовать в экологическом мониторинге прибрежных акваторий г. Севастополя для оценки состояния гидробионтов и среды их обитания.

Ключевые слова: биоиндикаторы, мидии, гетеротрофные бактерии, углеводородокисляющие бактерии, биомаркеры, прооксидантно-антиоксидантная система, Чёрное море.

В настоящее время проблема хронического загрязнения морских прибрежных акваторий привлекает всё большее внимание исследователей и общественности. Активная эксплуатация прибрежных районов в комплексе с техногенным загрязнением неизбежно приводит к истощению биологических ресурсов и ухудшению их состояния. В результате хозяйственной деятельности человека в море попадают сточные воды, содержащие отходы производства и коммунального хозяйства, сливы с сельскохозяйственных угодий и морского транспорта. Все это приводит к аккумуляции токсических веществ в донных отложениях, изменению физико-химических свойств воды и грунтов, что негативно влияет на биоту. Одним из таких районов является акватория г. Севастополя, которая служит коллектором различных загрязнителей. В её водные массы поступают неочищенные или условно-чистые промышленные и хозяйственно-бытовые сточные воды. Как следствие, в прибрежных районах сформировались зоны с высокими концентрациями токсикантов в донных осадках: тяжёлых металлов, хлор- и фосфорорганических соединений, нефтяных углеводородов, радионуклидов. Поллютанты поглощаются и накапливаются гидробионтами, вызывая реорганизацию обменных процессов, интоксикацию [1-4].

В связи со сложившейся ситуацией контроль загрязнения водной среды и биоты остаются основными задачами экологического мониторинга. Однако применяемые в настоящее время методы физико-химического анализа не позволяют оценить состояние морских прибрежных экосистем, так как отражают ситуацию непосредственно в период взятия проб и не позволяют определять все известные и искать неизвестные виды загрязнителей водной среды. Поэтому в настоящее время для комплексной оценки экологического состояния прибрежных акваторий, наряду с традиционными физико-химическими методами, широко применяются методы биоиндикации, наиболее полно отражающие качество окружающей природной среды и реакцию гидробионтов на весь комплекс негативного влияния среды в целом. Применение данного подхода требует подбора биоиндикаторных видов и информативных показателей (биомаркеров), по которым можно оценить степень нарушения биологических функций гидробионтов в условиях многофакторного антропогенного прессинга [4-7].

Микроорганизмы благодаря высокой экологической пластичности, обусловленной уникальными физиолого-биохимическими и генетическими особенностями, быстро реагируют на изменение качества среды и действие стрессовых факторов и могут служить индикаторами загрязнения морских акваторий. Методы микробной индикации дают возможность выявлять и контролировать появление загрязняющих веществ в воде гораздо раньше, чем происходят необратимые токсические эффекты у гидробионтов. По показателям численности микроорганизмов можно судить о степени загрязнения водной среды [8]. В то же время, донные беспозвоночные и их сообщества являются чувствительными индикаторами загрязнения водных объектов. Структурные и функциональные характеристики зообентоса являются перспективным элементом системы мониторинга загрязнения водной среды [5]. Бентосные организмы в наибольшей степени подвержены влиянию химического загрязнения, так как они обитают непосредственно в придонной части, где оседают и накапливаются различные токсиканты. В объектах питания бентосных организмов содержание токсических веществ повышено вследствие их поступления из придонных слоёв воды и грунта. Доминирующим видом в сообществах макрозообентоса севастопольских бухт является мидия *Mytilus galloprovincialis*. Благодаря значительной аккумуляции загрязняющих веществ в организме при относительно низкой их концентрации в морской воде, мидии часто используются в качестве биоиндикаторов загрязнённости морской воды тяжелыми металлами, нефтяными углеводородами, пестицидами [9-11].

Для обнаружения самых ранних «сигнальных» изменений в метаболизме водных организмов используют молекулярные биомаркеры, позволяющие выявить механизмы воздействия комплекса негативных факторов среды на конкретные звенья метаболизма, определить основную стратегию и особенности структурно-функциональных изменений в организме при адаптации к неблагоприятным условиям обитания. В качестве таких биомаркеров широко используют параметры прооксидантно-антиоксидантной системы (ПАС) [4,6,7,12].

Цель работы – оценка экологического состояния прибрежных акваторий г. Севастополя по результатам микробиологического мониторинга донных отложений и параметрам прооксидантно-антиоксидантной системы гепатопанкреаса мидии *Mytilus galloprovincialis*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в 3-х севастопольских бухтах с разным уровнем загрязнения летом 2019 г. - Ласпи, Казачьей, Стрелецкой (рис. 1).

Характеристика районов исследований. Стрелецкая бухта является одной из наиболее подверженных антропогенному прессу акваторий г. Севастополя. Вдоль восточного побережья базируются корабли Черноморского флота. Западное побережье занято городскими жилыми застройками. В последние десятилетия наблюдается изменение «качества» антропогенной нагрузки в данной акватории, в частности за счёт интенсивной застройки береговой полосы коммунальными и гостинично-туристическими комплексами, расширения сети причалов для судов малого (прогулочного) флота [2,13]. Для осадков Стрелецкой бухты характерны заиленные ракушняки, пески и чёрные илы. Рыхлые грунты б. Стрелецкой представлены в основном алевроито-пелитовыми фракциями, обладающими наибольшей аккумулирующей способностью, в связи с чем бухта характеризуется высоким загрязнением донных осадков хлорорганическими соединениями и нефтяными углеводородами [1,2].

Б. Казачья расположена в 15 км от центра города и является одной из наиболее чистых в системе севастопольских бухт. Донные отложения Казачьей бухты представлены в основном заиленными ракушняками и песками. Такие крупнозернистые осадки характеризуются хорошей промываемостью и малой сорбционной ёмкостью загрязняющих веществ [14].

Бухта Ласпи является большой открытой бухтой, расположенной на Южном берегу Крыма. Оценка динамической активности вод показывает, что процесс водообмена в районе бухты Ласпи происходит довольно интенсивно, что свидетельствует о благополучном экологическом состоянии акватории [15]. В б. Ласпи донные отложения представлены в основном песками, слабо сорбирующими гидрофобные загрязняющие вещества.

Концентрация хлорорганических загрязнителей и нефтяных углеводородов здесь намного ниже, чем в других исследуемых районах [1].



Рисунок 1. Районы исследований: 1 – б. Стрелецкая, 2 – б. Казачья, 3 – б. Ласпи

Таким образом, уровень загрязнения тестируемых бухт существенно различается, что особенно выражено для грунтов, с которыми тесно контактируют объекты исследований.

Микробиологический анализ. Для микробиологического анализа отбирали пробы донных осадков. После доставки в лабораторию вся последующая обработка проб проводилась в стерильных условиях. Численность углеводородокисляющих бактерий (УОБ) и общее количество гетеротрофов определяли методом предельных разведений на соответствующих селективных питательных средах. Для исследования общего количества гетеротрофов использовали пептонную воду, для определения численности УОБ – среду Диановой-Ворошиловой с добавлением дизельного топлива. Наиболее вероятное число микроорганизмов в единице объёма рассчитывали по таблице Мак–Креди, разработанной на основании методов вариационной статистики [16].

Биохимический анализ. В бухтах отбирали одноразмерных мидий (со средней длиной 50 мм), проводили их полный биологический анализ. Для биохимического анализа использовали гепатопанкреас. Образцы тканей несколько раз промывали холодным 0.85% физ. раствором, гомогенизировали, центрифугировали при 8000 g 15 минут. Для дальнейшего анализа использовали супернатант. В качестве параметров ПАС в супернатанте анализировали активность ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ), показатели окислительного стресса – содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБКРП), отражающих уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), и уровень окислительной модификации белков (ОМБ). Активность СОД определяли в системе нитросиний тетразолиевый – феназинметасульфат – никотиамиддинуклеотид [17], активность каталазы (КАТ) – по реакции взаимодействия перекиси водорода с молибдатом аммония [18], содержание ТБК-реактивных продуктов – по образованию окрашенного комплекса с тиобарбитуровой кислотой [19]. Уровень ОМБ анализировали на основе реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белка с 2,4-динитрофенилгидразином [20]. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при следующих длинах волн: 346 нм и 370 нм (альдегидные (D346) и кетонные (D370) продукты окислительной модификации нейтрального характера), а также при 430 нм и 530 нм (альдегидные (D430) и кетонные (D530) продукты окислительной модификации основного характера). Все определения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Биохимические показатели пересчитывали на 1 мг белка сырой массы ткани, концентрацию которого определяли с использованием стандартного набора реагентов “ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ” (Россия). Результаты биохимического анализа обрабатывали статистически, вычисляли среднее арифметическое и стандартную ошибку средней. Достоверность различий между выборками оценивали с применением U-критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели ПАС системы гепатопанкреаса *Mytilus galloprovincialis* представлены в таблице 1.

Активность СОД, КАТ, содержание ТБКРП в гепатопанкреасе мидий из б. Стрелецкой значительно превышали значения особей из б. Казачьей и б. Ласпи ($p < 0,05$). Уровень ОМБ был достоверно выше у моллюсков из б. Стрелецкой по сравнению с таковым у особей из б. Ласпи (при всех длинах волн) и б. Казачьей (при $\lambda = 370$) ($p < 0,05$). В то же время, показатели СОД, ТБКРП и содержание кетонных (D530) продуктов ОМБ основного характера у экземпляров из б. Казачьей были выше, чем в б. Ласпи ($p < 0,05$).

Значения численности гетеротрофов в б. Ласпи составили 2500 кл./г, б. Казачьей - 25000 кл./г, б. Стрелецкой - 95000 кл./г. Максимальное количество углеводородокисляющих микроорганизмов отмечено в б. Стрелецкой 250 кл./г. Для б. Казачьей численность УОБ составила 45 кл./г. В б. Ласпи обнаружены лишь следовые значения - 1,5 кл./г (рис. 2).

Таблица 1. Параметры прооксидантно-антиоксидантной системы в гепатопанкреасе мидии *Mytilus galloprovincialis* из трех бухт города Севастополя

Параметр	Б. Ласпи (n=15)	Б. Казачья (n=15)	Б. Стрелецкая (n=15)
СОД, ед. опт. плот./мг бел./мин	4,25±1,04	12,27±2,42*	22,06±0,46*. **
КАТ, мкат/мг бел.	0,185±0,03	0,176±0,07	0,326±0,06*. **
ТБКРП, нмоль/мг бел.	2,92±0,42	4,84±0,35*	6,47±0,7*. **
D356, ед. опт. плот./мг бел.	0,053±0,004	0,059±0,006	0,069±0,006*
D370, ед. опт. плот./мг бел.	0,057±0,006	0,058±0,008	0,087±0,01*. **
D430, ед. опт. плот./мг бел.	0,031±0,004	0,038±0,005	0,052±0,006*
D530, ед. опт. плот./мг бел.	0,006±0,002	0,012±0,003*	0,014±0,004*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению со значениями мидий из б. Ласпи, ** - то же из б. Казачьей.

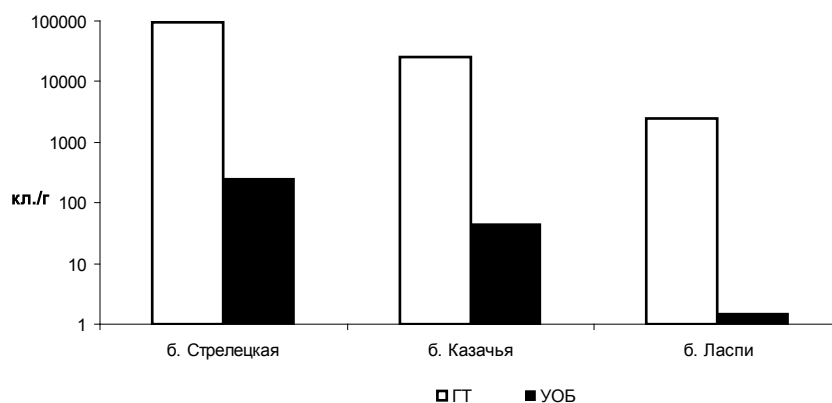


Рисунок 2. Численность общего количества гетеротрофов (ГТ) и углеводородоокисляющих бактерий (УОБ) в донных отложениях

ОБСУЖДЕНИЕ

Загрязнение водной среды вызывает нарушения процессов жизнедеятельности гидробионтов. Индикаторами этих изменений могут служить микроорганизмы. В решении проблемы загрязнения природных вод все большее внимание уделяется биологическим методам микробной индикации, основанным на способности микроорганизмов использовать в качестве единственного источника углерода специфические органические соединения, а также выживать и размножаться в среде, содержащей высокие концентрации загрязняющих токсических веществ. Численность углеводородоокисляющих микроорганизмов служит индикатором нефтяного загрязнения, тогда как общее количество гетеротрофов - индикатором наличия легко доступного органического вещества [3,8]. На основании результатов микробиологического анализа грунтов донные осадки исследуемых бухт можно расположить в следующей последовательности по уровню загрязнения: б. Ласпи → б. Казачья → б. Стрелецкая. Полученные результаты согласуются с литературными данными по содержанию нефтяных углеводородов (НУ) и хлороформ-экстрагируемых веществ (ХЭВ) в донных отложениях исследуемых районов. Так, максимальные концентрации НУ отмечены в донных осадках б. Стрелецкой – от 105 до 700 мг/100 г. В б. Казачьей содержание НУ составило 60 мг/100 г. В б. Ласпи установлены минимальные значения – 9 мг/100 г. Содержание ХЭВ в б. Ласпи составляло 37 мг/100 г, б. Казачьей – 23,4 мг/100 г, б. Стрелецкой – от 200 до 1560 мг/100 г [2,14,21].

Учитывая ключевую роль свободнорадикальных процессов в механизмах токсичности широкого спектра загрязнителей, для биоиндикационной оценки качества водной среды широко применяют показатели ПАС. ПАС включает генерацию активных форм кислорода (АФК), инициирующих свободнорадикальные процессы, и антиоксидантную защиту посредством низкомолекулярных соединений и ферментов, функции которых заключаются в восстановлении продуктов перекисного окисления и поддержании концентрации АФК на низком, оптимальном для организма уровне. Баланс процессов свободнорадикального окисления (СРО) и антиоксидантной защиты отражает адаптационные возможности и позволяет оценить ответные реакции организмов на неблагоприятные условия среды, а его смещение приводит к патологическим изменениям, повреждению молекулярных и клеточных структур, развитию окислительного стресса [4,12,22]. Универсальным показателем окислительного стресса при действии отдельных токсикантов и комплексном загрязнении акваторий является увеличение в тканях гидробионтов содержания продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков [4,23,24]. Обнаруженное в наших исследованиях повышение содержания ТБКРП и уровня ОМБ в гепатопанкреасе мидий из б. Стрелецкой может указывать на усиление свободнорадикальных процессов и развитие окислительного стресса (табл. 1). В то же время, увеличение активности ключевых антиоксидантных ферментов СОД и КАТ на фоне повышения содержания окисленных форм белков и липидов может свидетельствовать о компенсаторном характере адаптивной ответной реакции на загрязнение, направленной на снижение интенсивности СРО. Сходные ответные реакции ПАС были отмечены в тканях гидробионтов разных систематических групп в условиях высокого загрязнения водной среды [4,7,24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительный анализ микробиологических показателей грунтов и биохимических параметров мидий из тестируемых акваторий г. Севастополя позволил выявить определённые отличия и характеризовать экологическое состояние районов исследования. Максимальные значения численности гетеротрофных и углеводородоокисляющих микроорганизмов обнаружены в грунтах б. Стрелецкой, минимальные – в донных отложениях б. Ласпи. Отмечено достоверное увеличение параметров ПАС - содержания продуктов ОМБ, ПОЛ, активности СОД и КАТ в гепатопанкреасе мидий из бухты Стрелецкой по сравнению с соответствующими показателями экземпляров из б. Казачьей и б. Ласпи. Полученные результаты свидетельствует о высоком уровне загрязнения и менее благоприятных условиях обитания гидробионтов в

акватории б. Стрелецкой. Исследованные показатели можно использовать в экологическом мониторинге прибрежных акваторий г. Севастополя для оценки состояния гидробионтов и среды их обитания.

Работа выполнена в рамках тем Государственного задания ФИЦ ИнБЮМ № АААА-А18-118020890074-2, № АААА-А18-118020890090-2, при поддержке РФФИ и г. Севастополя в рамках научного проекта № 18-34-50005 («Наставник»).

Список литературы / References:

1. Малахова Л.В., Скуратовская Е.Н., Малахова Т.В., Болтачев А.Р., Лобко В.В. Хлороорганические соединения в ерше *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в акватории Севастополя (Чёрное море): пространственное распределение и биологический отклик на уровень накопления загрязнителей. *Морской биологический журнал*, 2018, т. 3, № 4, с. 51-63. [Malakhova L.V., Skuratovskaya E.N., Malakhova T.V., Boltachev A.R., Lobko V.V. Organochlorine compounds in scorpion fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 in the Sevastopol marine area (The Black sea): spatial distribution and biological response. *Marine Biological Journal*, 2018, vol. 3, no. 4, pp. 51-63. DOI: 10.21072/mbj.2018.03.4.06. (In Russ.)]
2. Тихонова Е.А., Котельянец Е.А., Волков Н.Г. Характеристика загрязнения донных отложений прибрежной акватории Севастополя на примере Стрелецкой бухты (Черное море). *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря*, 2018, № 1, с. 74-80. [Tikhonova E.A., Kotelyanets E.A., Volkov N.V. Characteristic of pollution of the bottom deposits in the coastal area of Sevastopol on the example of the Streletskaia bay (The Black sea) *Ecological safety of coastal and shelf zones of sea*, 2018, no. 1, pp. 74-80. DOI: 10.22449/2413-5577-2018-1-74-80. (In Russ.)]
3. Санитарно-биологические исследования прибрежных акваторий юго-западного Крыма в начале XXI века. Под ред.: О.Г. Миронова, С.В. Алёмова; Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН. Симферополь: ИТ "АРИАЛ", 2018, 276 с. [Sanitary and biological studies of the south-western Crimea coastal waters at the beginning of XXI century. Eds: O.G. Mironov, S.V. Alyomov. Simferopol.: Arial, 2018, 276 p. (In Russ.)]
4. Rudneva I.I., Skuratovskaya E.N., Chesnokova I. I., Shaida V.G., Kovyrshina T.B. Biomarker response of Black Sea scorpion fish *Scorpaena porcus* to anthropogenic impact. *Advances in Marine Biology*. A. Kovács, P. Nagy (Eds). New York: Nova Sci. Publs, 2016, ch. 5, vol. 1, pp. 119-147.
5. Безматерных Д.М. Зообентос как индикатор экологического состояния водных экосистем Западной Сибири: аналит. обзор. Гос. публич. науч.-техн. б-ка Сиб. отд-ния Рос. акад. наук, Ин-т вод. и экол. проблем. Новосибирск, 2007, 87 с. (Сер. Экология. Вып. 85). [Bezmaternykh D.M. Zoobentos as an indicator of water ecosystems state in Western Siberia *Novosibirsk*, 2007, 87 p. (In Russ.)]
6. Немова Н.Н., Мещерякова О.В., Лысенко Л.А., Фокина Н.Н. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу. *Труды КарНЦ*, 2014, № 5. с. 18-29. [Nemova N.N., Mecheryakova O.V., Lysenko L.A., Fokina N.N. Assessment of the state of aquatic organisms by their biochemical status. *Transactions of KarRC RAS*, 2014, no. 5, pp. 18-29. (In Russ.)]
7. Лукьянова О.Н., Корчагин В.П. Интегральный биохимический индекс состояния водных организмов в условиях загрязнения. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*, 2017, № 2, с. 174-180. [Lukyanova O.N., Korchagin V.P. Integral biochemical index of the state of aquatic organisms under pollution conditions. *Proceedings of the Russian Academy of Sciences*, 2017, no. 2, pp. 174-180. (In Russ.)]
8. Каретникова Е.А., Гаретова Л.А. Бактериопланктон и бактериобентос Амурского лимана и прилегающих акваторий летом 2006 г. *Океанология*, 2009, т. 49, № 3, с. 409-417. [Karetnikova E.A., Garetova L.A. Bacterioplankton and bacteriobentos of the Amur estuary and adjacent water areas in the summer of 2006. *Oceanology*, 2009, vol. 49, no. 3, pp. 409-417. (In Russ.)]
9. Макаров М.В., Бондаренко Л.В., Витер Т.В., Подзорова Д.В. Обрастания твердых искусственных субстратов в сезонном аспекте у побережья Севастополя (Юго-Западный Крым, Черное море). *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*, 2019, т. 5 (71), № 2, с. 116-131. [Makarov M.V., Bondarenko L.V., Viter T.V., Podzorova D.V. Fouling of solid artificial substrates in a seasonal aspect off the coast of Sevastopol (South-Western Crimea, the Black Sea). *Uchenyye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya*, 2019, vol. 5 (71), no. 2, pp. 116-131. (In Russ.)]
10. Миронов О.Г. Мидии как элемент гидробиологической очистки загрязненных морских вод. *Водные ресурсы*, 1988, № 5, с. 104-111. [Mironov O.G. Mussels as an element of the hydrobiological treatment of polluted sea waters. *Vodnyye resursy*, 1988, no. 5, pp. 104-111. (In Russ.)]
11. Узбекова О.Р., Луценко Е.С. Изучение активности мидий *Mytilus edulis* литорали Кольского залива по микробиологическим показателям. *Успехи современного естествознания*, 2011, № 8, с. 73-75. [Uzbekova O.R., Lutsenko E.S. Study of the activity of mussels *Mytilus edulis* littoral of the Gulf of Kola according to microbiological indicators. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya*, 2011, no. 8, pp. 73-75. (In Russ.)]
12. Kroon F., Streten C., Harries S. A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. *PLoS ONE*, 2017, vol. 2, no. 4, p. e0174762. DOI: 10.1371/journal.pone.0174762.
13. Осадчая Т.С. Нефтяные углеводороды в донных осадках прибрежных акваторий г. Севастополя (Чёрное море). *Scientific research and their practical application. Modern state and ways of development 2013*. (дата обращения

- 09.07.2020) [Osadchaya T.S. Oil hydrocarbons in bottom sediments of Sevastopol coastal areas (the Black Sea). *Scientific research and their practical application. Modern state and ways of development 2013*. (In Russ.)]
14. Соловьёва О.В., Тихонова Е.А., Клименко Т.Л., Скрыпник Г.В., Вотинова Т.В. Органические вещества донных отложений в условиях урбанизации побережья (на примере бухты Казачьей, Черное море). *Океанология*, 2019, т. 59, № 2, с. 234-242. [Soloveva O.V., Tikhonova E.A., Klimenko T.L., Skrupnik G.V., Votinova T.V. Organic Substances of Sea Bottom Sediments in Conditions of the Coast Urbanization (for Example Kazachiya Bay, the Black Sea) *Oceanology*, 2019, т. 59, no. 2, pp. 234-242. (In Russ.)]
15. Ациховская Ж.М., Чекменёва Н.И. Оценка динамической активности вод района бухты Ласпи (Черное море). *Экология моря*, 2002, т. 59, с. 5-8. [Atsikhovskaya Zh.M., Chekmeneva N.I. Assessment of the dynamic activity of the waters of the Laspi Bay area (Black Sea). *Ekologiya morya*, 2002, vol. 59, pp. 5-8.
16. Лысак В.В. *Микробиология*. Минск: БГУ, 2005, 364 с. [Lysak V.V. *Mikrobiology*. Minsk.: BGU, 2005, 364 p. (In Russ.)]
17. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochim. Biophys. Res. Commun*, 1972, vol. 46, no. 2, pp. 849-854.
18. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*, 1988, № 1, с. 16-19. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoye delo*, 1988, no. 1, pp.16-19. (In Russ.)]
19. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*. Москва: Медицина, 1977, с. 66-68. [Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method for determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Modern methods in biochemistry*. Moskva: Meditsina, 1977, pp. 66-68. (In Russ.)]
20. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения. *Вопросы медицинской химии*, 1995, т. 41, № 1. с. 24-26. [Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov I.G. Oxidative modification of human serum proteins, method for its determination. *Voprosy meditsinskoj khimii*, 1995, vol. 41, no. 1, pp. 24-26. (In Russ.)]
21. Тихонова Е.А., Котельянец Е.А., Соловьёва О.В. Оценка уровня загрязнения донных отложений крымского побережья Черного и Азовского морей. *Принципы экологии*, 2016, № 5 (21), с. 56-70. [Tikhonova E.A., Kotelyanets E.A., Soloveva O.V. Assessment of the level of pollution of bottom sediments of the Crimean coast of the Black and Azov Seas. *Printsipy ekologii*, 2016, no. 5 (21), pp. 56-70. (In Russ.)]
22. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты*. М.: Фирма «Слово», 2006, 556 с. [Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar I.A., Krugovykh N.F., Trufakin V.A. *Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants*. M.: Firma "Slovo", 2006, 556 p. (In Russ.)]
23. Stoliar O.B., Lushchak V.I. *Environmental Pollution and Oxidative Stress in Fish. In Oxidative Stress – Environmental Induction and Dietary Antioxidants / Ed. V. Lushchak*, 2012, p. 131-166.
24. Kovyrshina T.B., Rudneva I.I. The effects of coastal water pollution of the Black Sea on the blood biomarkers of the round goby *Neogobius melanostomus* Pallas, 1811 (Perciformes: Gobiidae). *Russian Journal of Marine Biology*, 2016, vol. 42 (1), pp. 58-64.

BIOINDICATION ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF SEVASTOPOL COASTAL WATERS

Skuratovskaya E.N.¹, Doroshenko Yu.V.¹, Alyomova A.S.², Kovaleva M.A.¹¹ A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS

Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia; e-mail: skuratovskaya2007@rambler.ru

² Voronezh State University

University Square, 1, Voronezh, 394018, Russia

Abstract. Active exploitation of coastal areas in combination with technogenic pollution inevitably leads to the depletion of biological resources and the deterioration of their condition. Sevastopol aquatic area is one of these areas, used as a collector of various pollutants. In this regard control of water pollution and the state of biota in Sevastopol bays are the main tasks of regional environmental monitoring using bioindication methods. Microbial indication methods make it possible to detect and control the appearance of pollutants in water much earlier than the irreversible toxic effects of aquatic organisms occur. Mussels are often used as bioindicators of seawater pollution, due to the significant accumulation of pollutants in their body at a relatively low concentration of pollutants in the environment. Ecological state of Sevastopol coastal waters was assessed. The studies were carried out in three Sevastopol bays with different levels of pollution in the summer 2019 - Laspi, Kazachya, Streletskaya. The estimation was based on the results of microbiological monitoring of bottom sediments (total number of heterotrophic bacteria and the number of hydrocarbon-oxidizing bacteria) and parameters of the prooxidant-antioxidant system (level of oxidized proteins and lipid peroxidation, superoxide dismutase and catalase activities) in hepatopancreas of mussel *Mytilus galloprovincialis*. Maximum abundance of heterotrophic and hydrocarbon-oxidizing microorganisms was found in soils of Streletskaya Bay, minimal abundance - in bottom sediments of Laspi. A significant increase of the prooxidant-antioxidant system parameters in hepatopancreas of mussels from Streletskaya Bay compared with Kazachya Bay and Laspi Bay was noted. The results obtained indicate a high level of pollution and less favorable living conditions for aquatic organisms in Streletskaya Bay. The studied indicators can be used in ecological monitoring of Sevastopol coastal waters for estimation the state of hydrobionts and their environment.

Key words: bioindicators, biomarkers, prooxidant-antioxidant system, mussels, heterotrophic bacteria, hydrocarbon-oxidizing bacteria, Black sea.