

МЕТОДИЧЕСКАЯ БАЗА БИОТЕСТИРОВАНИЯ В МОНИТОРИНГЕ КАЧЕСТВА ВОД

Бакаева Е.Н.^{1,2}, Коваленко И.А.²

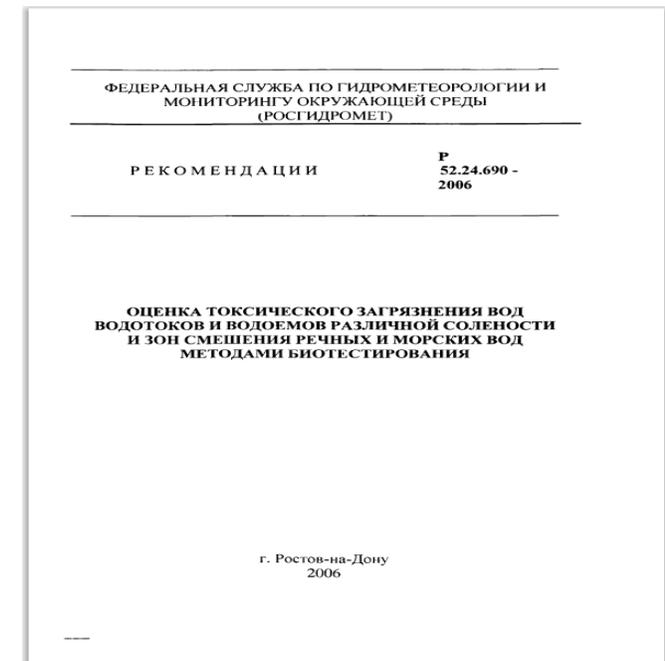
¹Гидрохимический институт Росгидромета

²Институт наук о Земле,
Южный федеральный университет

Биотестирование – экспериментальная оценка токсичности водной среды, основанная на регистрации физиологических, этологических и биологических откликов биологических тест-объектов.



На сегодняшний момент развития водной экотоксикологии наработанная методологическая база биотестирования, частично представлена в нормативно-методических документах по их применению: природоохранных нормативных документах федеративных токсикологических (ПНД Ф Т), рекомендациях (Р), руководящих документах (РД).



В методологии биотестирования поверхностных вод общепринятыми тест-объектами являются представители фитопланктона из отдела зелёных микроводорослей (Chlorophyta) родов *Chlorella*, *Scenedesmus*, представители зоопланктона родов *Daphnia* (Ракообразные/ Crustacea), *Brachionus* (Коловратки/Rotifera/Rotatoria), *Paramecium* (Инфузории/Infusoria).



Ветвистоусый рачок *Daphnia magna*



Зеленая микроводоросль *Scenedesmus obliquus*

К настоящему моменту стало очевидно, что для адекватной оценки токсичности компонентов окружающей среды, целесообразно использовать не один биотест, а набор биотестов (biotest battery).

Современные направления и проблемы методологии биотестирования

«Адресность» биотестирования

Инструментализация существующих биотестов

Разработка новых, позволяющих экспрессно получать информацию о сублетальном действии, распределённых в водной экосистеме загрязняющих веществ

Формирование и использование набора биотестов (biotest battery)

Оценка токсичности воды по набору биотестов или комплексу тест-показателей одного тест-объекта

Список гидробионтов, используемых в качестве тест-объектов, в связи с их экологическими особенностями

Тест-объект	Пресноводные	Солоноватоводные	Теплолюбивые	Холодолобивые	Олигосапробы	Мезосапробы	Ацидофилы	Алкофилы
МИКРОВОДОРОСЛИ								
CHLOROPHYTA (зеленые):								
<i>Chlorella vulgaris</i>	+		+			+		
<i>Chlorella marina</i>		+	+			+		
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	+		+			+		
<i>Scenedesmus obliquus</i>	+		+			+		
<i>Dunaliella</i> sp.		+	+	+	+			
<i>Nephrochloris</i> sp.		+	+	+	+			
CYANOPHYTA (Сине-зеленые):								
<i>Anabaena flos-aquae</i>	+		+			+		
<i>Oscillatoria</i> sp.	+	+	+			+		
<i>Synechocystis</i> sp.	+	+				+		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+		+			+		
Bacillariophyta (Диатомовые):								
<i>Thalassiosira pseudonana</i>		+		+	+			
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>		+	+		+			
<i>Skeletonema costatum</i>		+		+	+			
<i>Chaetoceros</i> sp.		+		+	+			
PROTOZOA (Простейшие):								
<i>Paramecium caudatum</i>	+	+				+		+
<i>Paramecium putrinum</i>	+	+				+		
<i>Tetrachimena pyriformis</i>	+	+				+	+	+
<i>Colpidium</i> sp.	+					+		
<i>Stylonichia mytilus</i>	+					+		

<i>Euplotis harpa</i>		+			+			
<i>Euplotis vannus</i> (бентический)		Морской		+				
<i>Cristira</i> sp. (бентический)		+		+				
<i>Uronema marinum</i> (бентический)		+		+				
<i>Pavella</i> sp. (пелагический)		+		+	+			
<i>Balanois</i> sp. (пелагический)		+		+	+			
ROTATORIA (Коловратки):								
<i>Brachionus calyciflorus</i>	+		+				+	+
<i>Brachionus rubens</i>	+		+	+				+
<i>Brachionus plicatilis</i>		+	+				+	+
<i>Philodina roseola</i>	+		+				+	
<i>Pilodina acuticornis odiosa</i>	+		+				+	
CRUSTACEA (Ракообразные):								
<i>Daphnia magna</i>	+		+				+	
<i>Moina macrocopa</i>	+		++				+	
<i>Bosmina longirostris</i>	+		+	+	+			
<i>Ceriodaphnia recticulata</i>	+		+				+	
<i>Artemia salina</i>		+					+	
MOLLUSCA (Моллюски):								
<i>Lymnaea stagnalis</i>	+		+					
<i>Anadonta</i> sp.	+		+					
<i>Dreissena</i> sp.	+	+	+	+				
<i>Crassostrea virginica</i> устрицы		+	+	+			+	+
<i>Ostrea iridescens</i> устрицы		+	+				+	+
<i>Mytilus galloprovincialis</i> мидии		+	+				+	+
<i>Mytilus edulis</i> мидии		+	+				+	+
<i>Mya arenaria</i>		+	+				+	+
<i>Mytilaster</i> sp.		+	+				+	+
<i>Patella vulgata</i>		+	+				+	+
<i>Rapana tomassina</i>		+	+	+			+	+
OLIGOCHAETA (малощетинковые черви)								
<i>Aeolosoma hemprichi</i>	+		+				+	
INSECTA (Насекомые):								
<i>Chironomus plumosus</i>	+		+	+				+

Примечание – Знаком «+» обозначено наличие указанных экологических особенностей

К настоящему времени разработаны и достаточно активно применяются приборы Биотокс-10 и Биотестер, комплект устройств для поддержания культур тест-объектов и проведения биотестирования с тест-объектами *Chlorella vulgaris* и *Daphnia magna*.



Разработка новых биотестов, позволяющих в краткие сроки получать информацию о сублетальном действии токсикантов, проводится, как правило, на микроуровне. В этом направлении результативны и перспективны работы по использованию биомаркеров, разрабатываемые в Институте биологии внутренних вод РАН. Активно разрабатываются биотесты с бактериальными люминесцентными сенсорами в Южном федеральном университете.



Формирование и использование набора биотестов (biotest battery).

Одна и та же проба на разные тест-объекты оказывает разный уровень воздействия. Это обусловлено экологическими особенностями жизнедеятельности видов, взятых в качестве тест-объектов в биотестовый анализ. Поэтому использование набора тест-объектов является основой методологии биотестирования токсичности вод при разработке нормативов токсичности отдельных веществ для водных объектов (ПДК р/х), гигиенических нормативов питьевых вод, при оценке токсичности отдельных химических веществ, сточных, природных поверхностных и подземных вод.



Оценка уровня токсического загрязнения донных отложений водного объекта

Тип и характер донных отложений	Участки водного объекта, где в пробах обнаружено загрязнение	Уровень токсического загрязнения
Ил преимущественно мелкодетритный	На отдельных участках водного объекта	Умеренно загрязненный
Ил мелко- и крупнодетритный	На значительной части участков	Загрязненный
Ил всех типов, илистый песок	На всех участках	Грязный
Донные отложения всех типов, поверхность камней, гравия, гальки	На всех участках	Очень грязный

Оценка токсического загрязнения испытываемой пробы воды или водной вытяжки донных отложений при биотестировании на коловратках

Экспозиция, ч	Увеличение показателя гибели в сравнении с контрольным, %	Отклонение показателя плодовитости от контрольного, %	Токсическое загрязнение
24	Менее 25	Менее 25	Не оказывает острого токсического действия (ОТД) Оказывает ОТД
		Более 25	
48 – 72	Менее 25	Менее 25	Не оказывает подострого токсического действия (П/ОТД) Оказывает П/ОТД
		Более 25	
96	Менее 25	Менее 25	Не оказывает хронического токсического действия (ХТД) Оказывает ХТД
		Более 25*	
		Более 25	

Примечание.

* Если гибель составляет 25 % и более, пробу считают токсичной и показатель плодовитости не рассчитывают

Таким образом анализ нормативно-методической базы биотестирования показал расширение его направлений и выявил ряд проблем. Разработать один универсальный набор биотестов невозможно как вследствие разнообразия природных особенностей водных экосистем разных природно-климатических зон, так и в силу значительного количества применяемых документов по определению токсичности природных сред. Приоритет отдают набору биотестов. Однако проблема итоговой оценки экотоксикологического состояния экосистем остаётся открытой. Разработка универсальной оценочной шкалы для всего многообразия водных объектов и типов загрязнений является весьма трудной и, вероятно нереализуемой задачей. Необходим учёт региональных особенностей исследуемых водных объектов.

Использованная литература

- Приказ Министерства природных ресурсов РФ от 15 июня 2001 г. N 511 "Об утверждении Критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды".
- РД 52.24.309-2016. Организация и проведение режимных наблюдений за состоянием и загрязнением поверхностных вод суши. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2016.-100 с.
- Бакаева Е.Н., Никаноров А.М. Биологические подходы к оценке экотоксикологического состояния водных экосистем. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*, 2015. 1: 72–83. [In Russian].<https://doi.org>
- Р 52.24.690-2006 Оценка токсического загрязнения вод водостоков и водоёмов различной сложности и зон смешения речных и морских вод методом биотестирования. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2008. 28 с.
- ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 (ПНД Ф 16.1:2.3:3.8-04) Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм».
- ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.2-98 Методика определения токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий.
- Р 52.24.695-2007. Оценка токсического загрязнения природных вод и донных отложений водных экосистем по коэффициенту регенераций популяции, Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2008. 32 с. 102.
- ПНД Ф Т 14.1:2:4.16-09 и Т 16.1:2.3:3.14-09 (Издание 2012 г.). Методика определения токсичности питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer).
- Р 52.24.905-2020. Оценка токсичности воды и водных вытяжек донных отложений поверхностных водных объектов методом биотестирования по изменению оптической плотности культуры микроводоросли *Chlorella vulgaris*. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2021.-34 с.
- Р 52.24.662-2004. Оценка токсического загрязнения природных вод и донных отложений пресноводных экосистем методом биотестирования с использованием коловраток. СПб.: Гидрометеоиздат, 2006.-56 с.
- РД 52.24.669-2005. Унифицированные методы биотестирования для обнаружения токсического загрязнения поверхностных вод суши с использованием микрозоопланктона. СПб.: Гидрометеоиздат, 2006.- 57 с.
- Р 52.24.741-2010. Оценка токсичности поверхностных вод суши в условиях чрезвычайных ситуаций методом экспрессного биотестирования // Обеспечение безопасности поверхностных вод суши РФ в условиях чрезвычайных ситуаций: Сборник рекомендаций. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ» , 2011 - С.67-90 .
- РД 52.24.784-2013. Массовая концентрация хлорофила *a*. Методика измерений спектрофотометрическим методом с экстракцией этанолом. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2013.-32 с.

- Р 52.24.868 2017. Использование методов биотестирования воды и донных отложений водотоков и водоемов. Ростов-на-Дону: Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2020 -57 с.
- ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 ПНД Ф Т 16.1:2:2.3:3.7-04 Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. - М., 2014. - 36 с.
- Чуйко Г.М., Томилина И.И., Холмогорова Н.В. 2022. Методы биодиагностики в водной экотоксикологии. *Токсикологический вестник* 30(5):315-22. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-5-315-322>
- Сазыкина М.А. 2014. Экотоксикологическая оценка водных экосистем с использованием биосенсоров на основе люминесцентных бактерий Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, 358 с.
- Сазыкина М.А., Мирина Е.А., Сазыкин И.С. 2015. Использование биосенсоров для детекции антропогенного загрязнения природных вод. *Вода: Химия и экология*, 10: 67-79.
- Филенко О.Ф., Чуйко Г.М. 2017. [Водная экотоксикология в России: от прошлого к настоящему. Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 77 \(80\): 124-142](#)
- 20. Закруткин В. Е., Решетняк О. С., Бакаева Е. Н. 2020. Гидроэкологические особенности поверхностных вод углепромышленных территорий Восточного Донбасса. *Известия РАН. Серия географическая*, 84(3): 451–46.