

О.А. ЛЯШЕНКО

**БИОИНДИКАЦИЯ
И БИОТЕСТИРОВАНИЕ
В ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ
СРЕДЫ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Санкт-Петербург

2012

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ РАСТИТЕЛЬНЫХ
ПОЛИМЕРОВ»**

О.А. ЛЯШЕНКО

Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды

Учебное пособие

Санкт-Петербург

2012

УДК 628 (075)

№ 791

ББК 38.93Я7

Ляшенко О.А, Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды: учебное пособие / СПб ГТУРП. - СПб., 2012. – 67 с.

В учебном пособии рассматриваются вопросы биоиндикации наземных и водных сред и биотестирования при оценке степени опасности отходов.

Предназначено для студентов всех форм обучения по направлению 241000 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии» для подготовки по профилю «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов», а также для слушателей в системе дополнительного профессионального образования.

Рецензент: канд. техн. наук, доцент кафедры охраны окружающей среды и рационального использования природных ресурсов СПб ГТУРП А.В. Епифанов.

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом университета в качестве учебного пособия

© Ляшенко О.А. 2012

© Санкт-Петербургский
государственный технологический
университет растительных полимеров, 2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Общие положения.....	4
2. Загрязнение окружающей среды и его виды	5
3. Применение биологических методов для оценки качества среды обитания.....	9
4. История развития биоиндикации	13
5. Экологические основы биоиндикации.....	14
6. Стресс и факторы, вызывающие его у организмов.....	17
7. Биоиндикаторы, их чувствительность. Объекты биоиндикации.....	19
8. Биоиндикация на различных уровнях организации живой материи....	22
9. Биоиндикация состояния воздушной среды.....	28
10. Биоиндикация состояния почв	31
11. Биоиндикация состояния водной среды	33
12. Биоиндикация в экологическом мониторинге	35
13. Биотестирование как метод оценки токсичности химических веществ и природных сред.	36
14. Определение токсичности. Зависимость "доза-эффект" как основа критериев оценки результатов биотестирования.....	38
15. Универсальные биотесты, стратегия выбора тест-организмов и тест-операций	40
16. Развитие методов биотестирования в мировой практике.....	44
17. Биотестирование сточных вод.....	46
18. Биотестирование природных вод и донных отложений.....	48
19. Оценка качества вод методом биотестирования в системе хозяйственно-питьевого водоснабжения	50
20. Биотестирование как основа разработки нормативов содержания токсичных веществ в водных объектах рыбохозяйственного значения.	52
21. Биотестирование отходов и определение их класса опасности	54
Словарь.....	58
Библиографический список	64

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В настоящее время можно считать общепринятым, что основным индикатором устойчивого развития в конечном итоге является качество среды обитания. Любые современные технологии направлены на все более эффективное использование природных ресурсов и, тем самым, на перестройку окружающей среды. В результате происходит её деформация, возникают локальные, региональные и глобальные нарушения.

Антропогенные воздействия представляют собой, с одной стороны, новые параметры среды, с другой - обуславливают антропогенную модификацию уже имеющихся природных факторов и, тем самым, изменение свойств биологических систем.

Используемые в производственных лабораториях методы физико-химического и аналитического контроля качества окружающей среды не всегда могут дать адекватную картину действия того или иного вещества на целостный организм. Кроме того, многие вещества как природного, так и синтетического происхождения, являются многокомпонентными, что затрудняет их физико-химическую стандартизацию. При всей важности проведения оценки качества среды на всех уровнях с применением различных подходов (включая физические, химические, социальные и другие аспекты) приоритетной представляется биологическая оценка. Наиболее простым объяснением этому может быть то, что именно состояние различных видов живых существ и самого человека является конечной целью всех природоохранных мероприятий. Преимущество физико-химического контроля – прочная нормативная (документы стандартизации) и организационная (сети химико-аналитических лабораторий) базы. Их недостаток – высокая трудоемкость, низкая оперативность.

В различных областях промышленности возникает всё большая потребность в проведении разнообразных биологических тестов,

связанная с нарастанием экологических проблем, а также ростом использования биологических объектов в практике.

Биологические методы контроля в ряде ситуаций, позволяют быстро оценивать качество окружающей среды и наличие некоторых загрязнений, не обнаруживаемых химическими методами. К биологическим методам контроля относятся биоиндикация и биотестирование.

2. ЗАГРЯЗНЕНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ЕГО ВИДЫ

Загрязнение окружающей среды – процесс привнесения в среду или возникновение в ней новых, обычно нехарактерных для нее физических, химических, биологических агентов, оказывающих негативное воздействие. Основные типы загрязнений: физическое (радиация, электромагнитное излучение и т.д.), химическое (аэрозоли, тяжелые металлы и т.д.), механическое (пыль в атмосфере, строительный мусор), биологическое (микробиологическое, внесение чужеродных видов). Каждый тип загрязнения имеет характерный и специфичный для него источник загрязнения – природный или хозяйственный объект, являющийся началом поступления загрязнителя в окружающую среду.

Различают природные и антропогенные источники загрязнения.

Основные природные источники поступления токсикантов в окружающую среду – ветровая пыль, лесные пожары, вулканический материал, растительность, морские соли. Антропогенные источники – это первичное и вторичное производство цветных металлов, стали, чугуна, железа; добыча полезных ископаемых; автомобильный транспорт; химическая промышленность; производство фосфатных удобрений; процессы сжигания угля, нефти, газа, древесины, отходов и др. Антропогенный поток поступления токсикантов в окружающую

среду превалирует над естественным (50–80 %) и лишь в некоторых случаях сопоставим с ним.

Химическое загрязнение – изменение естественных химических свойств среды в результате выбросов промышленными предприятиями, транспортом, сельским хозяйством различных загрязнителей. Загрязняющие химические продукты классифицируют по источникам поступления, областям применения и характеру воздействия. Другим типом классификации химических продуктов является деление их на природные и несвойственные окружающей среде – ксенобиотики. Ксенобиотиками называют вещества, по своей структуре и биологическим свойствам чуждые биосфере и полученные исключительно в результате химического синтеза.

Для обоснованного выбора приоритетных загрязняющих химических веществ обычно придерживаются определенных требований. Приоритетными считают вещества, имеющие следующие характеристики:

- широкое распространение вещества в окружающих человека микросредах и уровни его воздействия, способные вызвать неблагоприятные изменения в состоянии здоровья населения;
- устойчивость токсического вещества к воздействию факторов окружающей среды, его накопление в организме, включение в пищевые цепи или в природные процессы циркуляции веществ;
- частота и тяжесть неблагоприятных эффектов, наблюдаемых в состоянии здоровья населения при воздействии токсичного агента, при этом особенно важны необратимые или длительно протекающие изменения в организме, приводящие к генетическим дефектам, или другие нарушения развития у потомства;
- постоянный характер действия;

- изменение (трансформация) химического вещества в окружающей среде или организме человека, приводящее к образованию продуктов, имеющих большую, чем исходное вещество, токсичность для человека;

- большая величина популяции населения, подверженного действию химического вещества (вся популяция, профессиональные контингенты или подгруппы, имеющие повышенную чувствительность к воздействию данного токсиканта).

Странами ООН, участвующими в мероприятиях по улучшению и охране окружающей среды, согласован общий перечень наиболее важных (приоритетных) веществ, загрязняющих биосферу. К их числу обычно относят соединения тяжелых металлов, пестициды, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), хлорорганические соединения (ХОС), нефтепродукты, фенолы, детергенты, нитраты. Из этого перечня приоритетных загрязняющих веществ наиболее опасными являются тяжелые металлы, полиароматические углеводороды и хлорорганические соединения.

Последствием одной из форм химического загрязнения - поступления в атмосферу продуктов сгорания топлива в энергетических установках предприятий, наземного и воздушного транспорта, выбросов химических и металлургических предприятий, является ацидификация. Кислотные осадки (дожди) формируются при растворении в воде диоксидов серы и азота. Такие осадки (с $\text{pH} < 5,6$), выпадая на поверхность Земли, отрицательно воздействуют на наземную биоту, прежде всего, на растительность, понижают pH природных вод, вызывая деградацию водных экосистем.

Физическое (параметрическое) загрязнение – воздействие, вызывающее отклонение от нормы физических параметров окружающей среды.

Виды физического (параметрического) загрязнения:

1. Радиоактивное загрязнение окружающей среды представляет особую опасность для человека и среды его обитания и заключается в поступлении в окружающую среду радиоактивных веществ. Явление радиоактивности связано с самопроизвольным распадом атомных ядер, сопровождающимся альфа-, бета- и гамма-излучениями. Радиоактивное загрязнение происходит в результате ядерных взрывов, попадания в окружающую среду отходов разработки радиоактивных руд, при авариях на атомных предприятиях и т.д.

2. Электромагнитное загрязнение окружающей среды является результатом изменения электромагнитных свойств окружающей среды (электромагнитного фона), возникающего под воздействием линий электропередач высокого напряжения, работы некоторых промышленных установок, природных явлений — магнитных бурь и др. Может привести к местным или глобальным геофизическим аномалиям и изменениям в биологических процессах.

3. Вибрационное загрязнение связано с возникновением механических колебаний разных частот вследствие работы различных технических сооружений - компрессорных, насосных станций, вентиляторов, кондиционеров, турбин и т.д. Вибрации распространяются по металлическим конструкциям оборудования и через их основания достигают фундаментов общественных и жилых зданий. В крупных городах возрастает проблема влияния на жителей вибрации, источниками которой являются работающие лифты, линии метрополитена, автотрассы. Принято различать общую и локальную вибрацию. Особую опасность представляют резонансные явления при совпадении частот колебаний органов человека и внешних вибрационных воздействий.

4. Шумовое загрязнение окружающей среды - тип физического загрязнения, характеризующийся превышением естественного уровня

шумового фона. Шум — сочетание акустических волн различной частоты и интенсивности. Характерно для городов, окрестностей аэродромов, промышленных объектов; негативно воздействует на человека, животных и даже растения.

5. Тепловое загрязнение окружающей среды – техногенное повышение температуры относительно природного фона, в основном, за счёт сжигания ископаемого топлива. Основные источники теплового загрязнения - выбросы в атмосферу нагретых отработанных газов и воздуха, сброс в водоемы нагретых сточных вод.

6. Механическое загрязнение – загрязнение среды материалами, оказывающими лишь механическое воздействие без химических последствий. Может возникать при изъятии грунтов в процессе дноуглубительных работ, поступлении пыли в атмосферу, свалке строительного мусора на земельном участке.

7. Биологическое загрязнение выражается преимущественно в бактериальном загрязнении – привнесении в окружающую среду патогенных микроорганизмов. Бактериальному загрязнению способствует поступление большого количества органических веществ с отходами пищевых, целлюлозно-бумажных производств, неочищенными канализационными сточными водами.

К биологическому загрязнению также относят проникновение в экосистемы и технологические устройства чуждых растений, животных и микроорганизмов, которое может привести к взрывообразному росту численности вселившихся организмов и иметь непредсказуемые последствия.

3. ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СРЕДЫ ОБИТАНИЯ

В настоящее время при оценке состояния окружающей среды ведущая роль отводится физическим и химическим методам

экологического контроля. Их сущность сводится к сравнению загрязнения отдельных компонентов природных комплексов с ПДК или ПДУ. Однако существующие системы нормативов не обеспечивают экологическую безопасность экосистем. Действующая сегодня в практике природопользования регламентация антропогенного воздействия на природную среду приводит к тому, что экосистема даже в идеальных случаях контроля часто подвергается чрезмерным нагрузкам.

При выявлении загрязненных зон аналитический подход является приоритетным, но в практике более широкомасштабных исследований - оценки экологического состояния среды - он имеет ряд недостатков. Кроме указанного выше, а также высокой стоимости получения репрезентативных данных, к недостаткам относятся:

- невозможность учета в практической деятельности синергического и антагонистического эффектов поллютантов;
- неразрешимость проблемы оценки влияния на токсичность или иные лимитирующие свойства поллютантов разнообразных природных факторов;
- невозможность получения информации о вторичных эффектах действия поллютантов, вызванных их накоплением и трансформацией в различных звеньях экосистем.

Изучение последствий антропогенного воздействия на окружающую среду невозможно без применения приемов биологической индикации, которая дает прямую информацию о реакции организмов на стрессорные факторы.

Биоиндикация – это определение биологически значимых нагрузок на основе реакций на них живых организмов и их сообществ. В полной мере это относится ко всем видам антропогенных загрязнений

Основой задачей биоиндикации является разработка методов и критериев, которые могли бы адекватно отражать уровень антропогенных воздействий с учетом комплексного характера

загрязнения и диагностировать ранние нарушения в наиболее чувствительных компонентах биотических сообществ. Организмы или сообщества организмов, жизненные функции которых тесно коррелируют с определенными факторами среды и могут применяться для их оценки, называются биоиндикаторами.

Существует два основных вида биоиндикации: пассивная и активная.

Пассивная биоиндикация – исследование у свободноживущих организмов видимых или незаметных повреждений и отклонений от нормы, являющихся признаками неблагоприятного воздействия.

Активная индикация или биотестирование - исследование тех же воздействий в стандартных условиях на наиболее чувствительные к данному фактору тест-организмы. Под биотестированием обычно понимают процедуру установления токсичности среды с помощью тест - объектов – специально отобранных и выращиваемых живых организмов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения их жизненно важных функций.

Методами биоиндикации и биотестирования определяется присутствие в окружающей среде того или иного загрязнителя по наличию или состоянию определенных организмов, наиболее чувствительных к изменению экологической обстановки, т.е. обнаружение и определение биологически значимых антропогенных нагрузок на основе реакции на них живых организмов и их сообществ. Таким образом, применение биологических методов для оценки среды подразумевает выделение видов животных или растений, чутко реагирующих на тот или иной тип воздействия. Методами биоиндикации с использованием подходящих индикаторных организмов в определенных условиях может осуществляться качественная и

количественная оценка (без определения степени загрязнения) эффекта антропогенного и естественного влияния на окружающую среду.

Преимуществом методов биоиндикации и биотестирования перед физико-химическими методами является интегральный характер ответных реакций организмов, которые:

- суммируют все без исключения биологически важные данные об окружающей среде и отражают ее состояние в целом;
- выявляют наличие в окружающей природной среде комплекса загрязнителей;
- позволяют судить о степени вредности тех или иных веществ для живой природы и человека;
- дают возможность контролировать действие многих синтезируемых человеком соединений;
- в условиях хронической антропогенной нагрузки могут реагировать на очень слабые воздействия в силу аккумуляции дозы;
- фиксируют скорость происходящих в окружающей среде изменений;
- указывают источники поступлений и места скоплений различного рода загрязнений в экологических системах и возможные пути попадания этих веществ в организм человека;
- помогают нормировать допустимую нагрузку на экосистемы, различающиеся по своей устойчивости к антропогенному воздействию, так как одинаковый состав и объем загрязнений может привести к различным реакциям природных систем в разных географических зонах;
- делают необязательным применение дорогостоящих, трудоемких физических и химических методов для измерения биологических параметров.

Живые организмы постоянно присутствуют в окружающей человека среде и реагируют на кратковременные и залповые выбросы

токсикантов, которые может не зарегистрировать автоматизированная система контроля с периодическим отбором проб на анализы.

4. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ БИОИНДИКАЦИИ

Становление биоиндикации шло параллельно с развитием биологии. Ещё в античные времена встречались указания на возможность оценки свойств почв и степени их увлажненности по состоянию растительного покрова. В XIX вв. развивалось учение о связи растительности с условиями местообитания (работы А.Гумбольдта).

Первые схемы растений-индикаторов горных пород были составлены А. П. Карпинским в конце XIX в., выделено новое направление учения о комплексных индикаторах - растительных сообществах. В начале XX в. биоиндикаторы широко использовались при изучении сельскохозяйственных угодий, климата, горных пород, ареалов грунтовых вод, поиске полезных ископаемых (работы Ф. Клементса, Л.Г. Раменского, В.Н.Сукачева, Б.В.Виноградова и др.).

Развитие природоохранной индикации началось со второй половины XX в. В начале 60-х гг. сформировалось понятие рекреационной дигрессии - изменения природной среды в местах массового отдыха, началось использование лишайников при оценке загрязнения атмосферного воздуха; в 70-е гг. исследовалось влияние выпаса на травостои. В конце XX в. существенно возрос интерес к решению экологических проблем, были установлены и широко используются в настоящее время группы видов-индикаторов различных антропогенных воздействий - эвтрофирования водных объектов химического загрязнения почв, влияния на биоту рекреационной нагрузки, воздействия на живые организмы приоритетных поллютантов, в том числе ксенобиотиков.

В качестве индикаторов антропогенного воздействия изучены нарушения репродуктивных функций, динамика численности и изменения структуры популяций, видового разнообразия, изменение

микробиологической активности почв и многие другие показатели. В настоящее время биоиндикация загрязнений находит все большее применение в области охраны окружающей среды и рационального природопользования.

5. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОИНДИКАЦИИ

Известно, что все живые организмы предъявляют к условиям местообитания определенные требования. Они были выработаны в процессе развития вида и определяют его существование в условиях соответствующей экологической ниши. На живой организм всегда действует совокупность экологических факторов. Широко распространено разделение факторов на абиотические (физико-географические: факторы экотопа - климатические, эдафические, орографические, химические и т. д.) и биотические (фитогенные, зоогенные, антропогенные и т.д.).

Все биологические системы - будь то организмы, популяции или биоценозы - в ходе своего развития приспособились к комплексу условий местообитания. Каждый организм обладает генетически закрепленным физиологическим порогом толерантности (выносливости) к определённом фактору, в пределах которого этот фактор является для него переносимым.

Реакция организма, его угнетение или процветание зависит от степени воздействия фактора, т.е. каждый вид приспособлен к определенной интенсивности каждого экологического фактора и к определенному диапазону его изменчивости.

Согласно «закону минимума» Ю.Либиха и «закону толерантности» Шелфорда, существование вида определяется лимитирующими факторами в области пессимума в максимальных и минимальных значениях. Вблизи точек максимума и минимума лежат сублетальные величины экологического фактора, а за пределами зоны толерантности – летальные.

Оптимальное значение фактора определить трудно, поэтому принято говорить о зоне оптимума, при котором наблюдается наивысшая продуктивность вида.

Условия среды, выходящие за пределы оптимальной зоны, называются экстремальными и составляют зону угнетения. За пределами зоны толерантности лежат летальные значения, вызывающие гибель организма (рис.1).

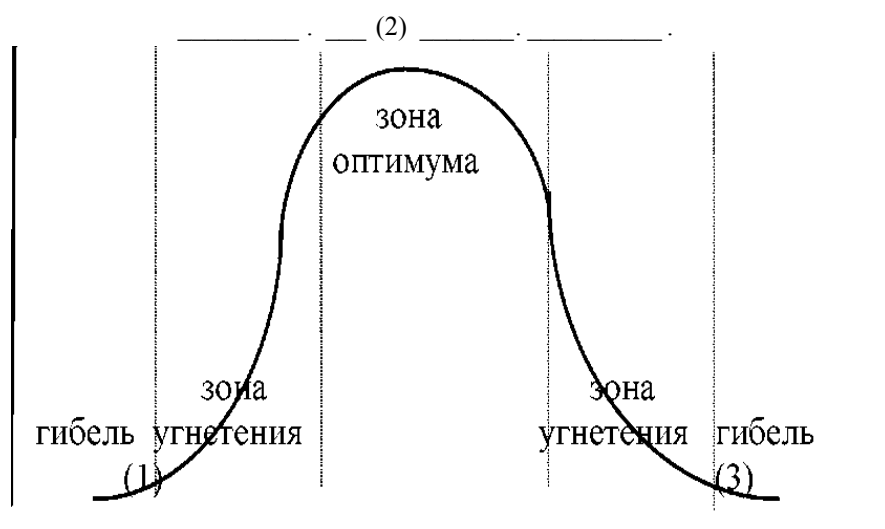


Рис. 1. Схема влияния экологического фактора. Диапазон действия (или *зона толерантности*) ограничен крайними пороговыми значениями (точки минимума (1) и максимума (3)). Точка (2), соответствующая наилучшим показателям жизнедеятельности, - это точка *оптимума*.

Физиологический диапазон толерантности обычно неодинаков для разных стадий развития организма и для всех особей данной популяции.

В природе существуют отличающиеся по присутствию и размерам от физиологических (потенциальных) диапазонов толерантности экологические диапазоны присутствия (экологической потенции), отражающие фактическую реакцию организма на воздействия всех факторов среды

Физиологическая толерантность и экологическая потенция организма определяют его индикаторную ценность. В результате каждая биологическая система (организм, популяция, биоценоз) характеризует зависящее от времени воздействие на нее факторов среды - как природных, так и измененных человеком (антропогенных).

На неблагоприятные условия среды живые организмы реагируют определенными действиями или изменением состояния, которые определяют выживание вида. Существуют два основных способа преодоления неблагоприятных воздействий: их избегание и приобретение выносливости. Первый преимущественно используется животными, обладающими подвижностью. Он представляет собой различного рода передвижения из неблагоприятных условий в благоприятные и включает различные миграции, таксисы и т. д. Большинство растений лишено такой возможности. Своего рода «пассивное» их передвижение связано с распространением семян и заселением местообитаний, пригодных для произрастания. Поэтому основной стратегией жизни растений является адаптация к неблагоприятным условиям за счет выработки различных приспособлений (за счет изменения строения, процессов жизнедеятельности и т.д.), обеспечивающих нормальное функционирование организмов.

Потребности организмов, развивающихся в составе сообществ, отличаются от потенциальных требований, которые предъявляет вид к факторам внешней среды вне биоценоза. В экологии существует понятие о фактическом (синэкологическом) и потенциальном (аутэкологическом) оптимумах. Таким образом, в условиях конкурентной борьбы в составе сообщества распространение вида зависит во многом от его конкурентоспособности и возможности (или невозможности) реализовать свои потребности в выборе условий местообитания.

6. СТРЕСС И ФАКТОРЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ЕГО У ОРГАНИЗМОВ

Стресс - это состояние критической нагрузки, которое проявляется в виде специфического синдрома, который складывается из неспецифических изменений внутри биологической системы. Стресс можно разделить на два различно действующих типа. Эустресс характеризуется физиологическими адаптивными реакциями, которые вызываются в организме биоэнергетическими процессами, когда в критических ситуациях живому существу необходимо приспособиться к изменившимся условиям среды.

Дистресс означает патогенные процессы, возникающие, как правило, при постоянных нагрузках или усилиях, которые индивид не в состоянии регулировать короткое или длительное время. В какой мере тот или иной стрессор (фактор, вызывающий стресс) обуславливает эустресс или дистресс, зависит от многочисленных факторов, например, от экзогенного сочетания раздражителей и от внутреннего состояния организма.

От биотических стрессоров, воздействующих на биологические системы в форме хищничества, инфекции и конкуренции, четко отличаются абиотические, включающие слишком высокие или слишком низкие температуры, избыток или недостаток воды, экстремальное облучение, множество химических веществ, сильные ветры, крайние значения атмосферного давления, шума, магнитных и электрических воздействий.

В естественных условиях организмы часто подвергаются воздействию различных абиотических и биотических стрессоров. К ритмически повторяющимся экстремальным условиям среды, например, холоду, засухе, жаре, многие организмы приспособились путем изменения активности (спячка, анабиоз), что делает их устойчивыми к

стрессу. Другие организмы могут уклоняться от воздействия экстремальных условий при помощи специфических приспособлений (избегание стресса) - это глубокое укоренение, уход в другие зоны обитания.

Ход адаптации, т.е. приспособления к долго действующим экстремальным условиям среды показан на рис. 2.

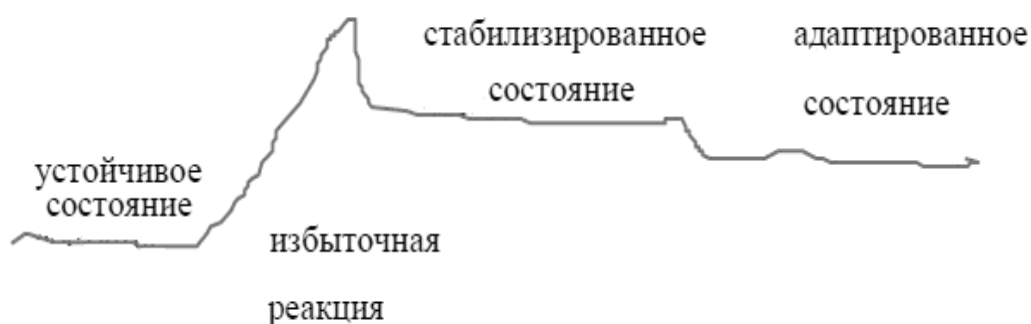


Рис. 2. Характер адаптации к долго действующим экстремальным условиям среды

Опасность антропогенных стрессоров состоит, прежде всего, в том, что биологические системы недостаточно адаптированы к ним. Антропогенные стрессоры создаются с такой скоростью, что эти системы не успевают активизировать адаптационные процессы. Многие антропогенные факторы среды потому и становятся опасными для живого (стрессорами), что они крайне отличны по величине, интенсивности, продолжительности и моменту воздействия от той обычно существующей в природе нормы, к которой адаптированы биологические системы. В результате они часто влияют на диапазон толерантности, что нередко приводит к превышению допустимой нагрузки на организмы и к распаду биологической системы.

7. БИОИНДИКАТОРЫ, ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

ОБЪЕКТЫ БИОИНДИКАЦИИ

Биоиндикаторами могут быть живые организмы, обладающие хорошо выраженной реакцией на внешнее воздействие: различные виды бактерий, водорослей, грибов, растений, животных и т.п. Существенным свойством биоиндикаторов является чувствительность. Проявление реакции организма при незначительных отклонениях характеризуется как ранняя индикация. Часть видов, наоборот, накапливает воздействия без быстрого проявления. Такие биоиндикаторы называются аккумулятивными. Если биоиндикатор реагирует значительным отклонением жизненных проявлений от нормы, то он является чувствительным биоиндикатором. В зависимости от времени развития индикационных реакций можно выделить 6 типов чувствительности (рис. 3):

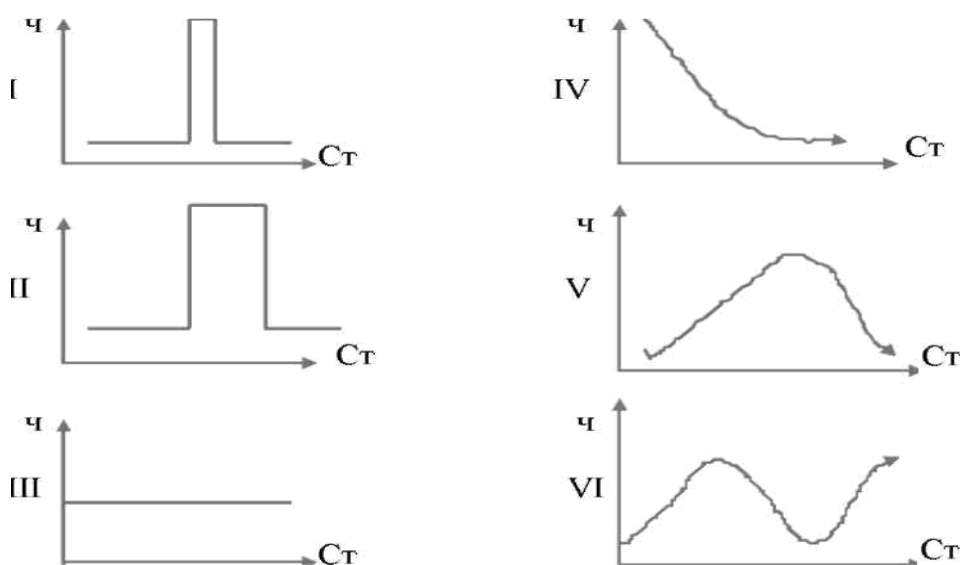


Рис. 3. Типы чувствительности биоиндикатора : Ст – интенсивность воздействия стрессора; ч – величина показателя чувствительности.

I тип: дает однократную реакцию спустя некоторое время и тут же теряет чувствительность;

II тип: как и в первом случае, реакция сильная и внезапная, длится определённое время, затем резко исчезает.

III тип: сохраняет постоянную чувствительность в течение длительного времени.

IV тип: после немедленной сильной реакции наблюдается ее сначала быстрое, а затем более медленное затухание;

V тип: при появлении нарушающего воздействия реакция нарастает до максимума, а затем постепенно затухает;

VI тип: реакция V типа неоднократно повторяется.

К чувствительным биоиндикаторам относятся лишайники, мхи, почвенные и водные микроорганизмы (водоросли, бактерии, микроскопические грибы).

В роли биоиндикаторов могут быть использованы пыльца растений, хвоя сосны обыкновенной и др.

Среди животных также выделяются группы организмов, положительно или отрицательно реагирующие на различные формы антропогенной трансформации среды (ракообразные, хирономиды, моллюски, личинки ручейников, поденок, веснянок и др.).

Чувствительными биоиндикаторами могут служить как отдельные процессы в клетке и организме (изменение ферментативной активности, изменение в пигментном комплексе), так и морфологические изменения (изменения формы и размера листовой пластинки, уменьшение продолжительности жизни хвои).

Важной характеристикой любого индикатора является его достоверность. Единых общепринятых способов оценки достоверности не разработано. В ботанических и геоботанических исследованиях с этой целью используются различные шкалы, оценивающие степень сопряженности (совместной встречаемости) индикатора и объекта индикации.

Одним из широко распространенных методов биоиндикации является метод эталонов. Суть его заключается в сравнении изучаемых экосистем с некоторой фоновой, принятой за образец по интересующим параметрам.

Метод особенно актуален при индикации загрязнений, когда сравнение ведется с природными показателями и характеристиками, не затронутыми антропогенным воздействием.

В биоиндикации чрезвычайно важен правильный выбор биоиндикатора. При биоиндикации загрязнений наилучшим индикатором считается организм, показывающий линейную корреляцию между уровнем загрязнения среды и содержанием (аккумуляцией) загрязнителя и/или реакцией организма.

Основные требования, предъявляемые к организмам, используемым в целях биоиндикации, можно суммировать следующим образом:

присутствие объектов биоиндикации в исследуемой экосистеме по возможности в большом количестве и с однородными свойствами;

широкое представительство организма - биоиндикатора в различных местах обитания и широкое географическое распространение; легкость идентификации и доступность в получении материала; отсутствие сезонных отличий в доступности и использовании биоиндикатора;

его относительная устойчивость к воздействию и накоплению стрессора;

наличие корреляции между реакцией организма и уровнем воздействия стрессора на экосистему.

Объектами биоиндикации, в зависимости от конкретных задач экологического исследования, могут выступать разные группы живых организмов - животные, растения и микроорганизмы.

Животные в этом качестве интересны как объект, физиологически близкий человеку. По их реакциям можно предвидеть санитарные последствия загрязнений не только для природы, но и для людей.

Микроорганизмы - наиболее быстро реагирующие биоиндикаторы, они также лучше всего подходят для экотоксикологических экспериментов и расшифровки биохимических механизмов действия отдельных загрязнителей на живой организм.

Растениям отводится особое место при биоиндикаторной оценке состояния окружающей среды. В связи с автотрофным характером метаболизма растения очень чутко реагируют на загрязненность окружающей среды, проявляя высокую чувствительность, особенно к действию газообразных токсикантов, а также тяжелых металлов.

В отличие от животных, растения, как наземные, так и многие пресноводные, прочно связаны со своим местообитанием, что облегчает задачу учета факторов, действующих на растительный организм со стороны корневой системы, и позволяет широко использовать растения в целях фитоиндикации и контроля загрязненности как воздушной среды, так почвы и гидросферы.

Вместе с тем, ввиду автотрофности и прикреплённости большинства растений к субстрату, они являются важной составляющей любого биогеоценоза, в наибольшей степени подвергающейся воздействию локальных и глобальных загрязнений, что также важно для их успешного применения в целях биоиндикации.

8. БИОИНДИКАЦИЯ НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ

Биоиндикация может проводиться на различных уровнях организации живого: макромолекул, клетки, организма, популяции, сообщества и экосистемы.

Обычно с повышением уровня организации биологических систем возрастает и их сложность, так как одновременно усложняются и их

связи с окружающей средой. При этом биоиндикация на низших уровнях включается в биоиндикацию на высших уровнях. В то время как на низших уровнях организации биологических систем преобладают прямые, специфические виды индикации, связанные с воздействием какого-либо определенного стрессора, на высших уровнях осуществляется косвенная биоиндикация.

Молекулярный уровень

Высокая степень сходства молекулярно-клеточной организации и биохимических превращений у организмов на разных уровнях организации позволяет предположить, что ответные реакции разных организмов, относящихся к одному семейству или роду, при действии токсических веществ на молекулярном уровне не будут существенно различаться.

На уровне организмов и экосистем воздействие стрессоров различимо благодаря появлению внешних симптомов повреждений. На клеточном и субклеточном уровнях воздействие стрессоров чаще всего скрыто от наблюдения. Для их обозначения используются понятия «физиологические повреждения», «латентные повреждения», «тонкие повреждения». При достижении определенных количественных параметров стрессора невидимые повреждения приводят к снижению продуктивности, появлению морфологической изменчивости или тератов (уродливых форм) и т. д. Если необходимо своевременно предотвратить необратимое изменение, то раннее распознавание именно этих нарушений становится решающим, так как изменение чувствительных биохимических и физиологических параметров отражает очень незначительные концентрации стрессора.

За все процессы обмена веществ, в первую очередь, несут ответственность нуклеиновые кислоты (носители генетической информации) и белки (ферменты и структурные элементы). Необходимо,

чтобы эти макромолекулы функционировали с соответственной скоростью.

Регуляция обмена веществ осуществляется с помощью многочисленных ферментов, поэтому наиболее чувствительные из них могут быть важными индикаторами нарушений. Стрессоры, прежде всего, воздействуют на активность и количество ферментов.

Для биоиндикации решающее значение имеют действия стрессоров на следующие показатели обмена веществ: концентрация макромолекул (например, изменяется количество ферментов); активность макромолекул (например, ферментативную) - в целом отмечается увеличение их активности при низких концентрациях загрязняющих веществ и снижение - при высоких; снижение энергетического баланса; нарушение процесса фотосинтеза; продуцирование веществ с защитными функциями (например, пролина), увеличение концентрации сахарозы и фруктозы с целью самозащиты; преждевременное включение механизмов старения организма: характерным признаком является увеличение содержания гормонов, регулирующих созревание плодов, старение и опадение листвы и т.д. (этилен, абсцизовая кислота и др.).

Клеточный уровень

1. Химический состав клетки

Аккумуляция вредных веществ. Поглощаемые организмом вредные соединения могут быть либо преобразованы в ходе обмена веществ, либо включены в общий метаболизм. Однако обычно большинство элементов вредных веществ пригодно для использования лишь в небольших количествах и присутствует в незагрязненных организмах лишь в виде следов (хлор, тяжелые металлы – свинец, кадмий, цинк).

Их аккумуляция выше естественного содержания может быть использована в качестве индикационного признака для определения уровня стрессовой нагрузки. Например, обнаружена тесная связь между

содержанием свинца в листьях растений и интенсивностью движения автотранспорта в городах.

2. Состояние органоидов

Индикаторными показателями являются:

- строение и состав биомембраны - бимолекулярной липоидной пленки с белковыми слоями, отложенными с обеих ее сторон, которая обеспечивает избирательную проницаемость и направленный транспорт веществ внутрь клетки;
- изменение внутриклеточных структур - расширение цистерн эндоплазматического ретикулума;
- отложение кристаллических включений в хлоропластах;
- состояние лизосом (нарушение их стабильности приводит к активизации гидролитических ферментов, выходу в цитоплазму, цитолизу);
- изменения размеров клетки - уменьшение клеток эпидермиса листьев:
- плазмолиз - отслаивание плазмы от клеточной стенки.

3. Хромосомные нарушения

Загрязняющее вещество может непосредственно влиять на генетический материал или вызывать различного рода мутации. Подобные нарушения выявляются при проведении специальных исследований.

Биоиндикация на молекулярном и клеточном уровне в целях ранней диагностики необходима в областях с загрязненностью от низкой до средней, где видимые повреждения организмов не проявляются.

Организменный уровень

К биоиндикационным показателям организменного уровня относятся:

- изменение окраски листьев (или определённых их участков) у растений и тела животных («индустриальный меланизм» или «меланизм крупных городов»);

- изменения размеров растений, расположения и размеров их органов, аномальная конфигурация листьев, деформация, увеличение или уменьшение частей цветка, сокращение количества плодовых тел у грибов;

– снижение темпов роста животных их размеров, интенсивности питания, характера дыхания, изменение плодовитости, поведения, нарушение процессов онтогенеза: течение линек у насекомых, уменьшение доли окукливающихся гусениц и вылета имаго, сокращение продолжительности жизни.

Популяционный и видовой уровень

В качестве индикационных используются показатели роста популяции, распределения и обилия особей (особенно ценны при оценке состояния популяции оседлых видов при изучении градиента загрязнения). В индикаторных целях можно использовать и такие показатели, как рост и структура популяции (возрастная, половая, генеративная). В биоиндикаторных целях используются количественные показатели развития популяции (численность, биомасса) и их динамика.

Природные популяции обычно состоят из нескольких экотипов - групп особей, приспособленных к разным условиям среды. Экотипы способствуют выживанию популяции при изменении условий местообитания. Популяции многих видов включают экотипы с высокой устойчивостью к определенным антропогенным воздействиям. При антропогенном воздействии происходит распространение устойчивых, вытеснение ими чувствительных экотипов.

Антропогенные стрессоры воздействуют на характер распространения растений и животных. Так, изменяются ареалы растений, в частности, при возрастании нагрузки на ландшафт.

Сокращаются ареалы одних растений, расширяются других - более приспособленных к изменившимся условиям.

Биоценотический уровень

В качестве биоиндикационных используются такие характеристики биоценоза, как общая численность, видовое богатство и разнообразие, видовая структура, экологическая структура (спектры жизненных форм, биотопических групп), а также их изменение во времени. Так, антропогенное воздействие любой природы сопровождается заменой специализированных видов сообщества на эврибионтные. Дальнейшее усиление нагрузки ведет к тому, что в сообществе сохраняются в основном рудеральные и синантропные виды (изменение спектра биотопических групп).

Экосистемный уровень

Среди различных показателей экосистем для биоиндикации представляют интерес трофическая структура и сукцессионные изменения. Изменения трофической структуры выражаются в нарушении соотношения между блоками продуцентов, консументов, редуцентов.

В целом, нарушения среды на биоценотическом и экосистемном уровнях приводят к упрощению структуры сообществ и экосистем и нарушению внутренних связей (между видами, экологическими группами, блоками экосистемы и т.д.), т.е. механизмов саморегуляции сообществ и экосистем.

Биосферный уровень

На этом уровне индикаторными показателями являются глобальные изменения водных и наземных экосистем, связанные, в частности, с потеплением климата, фоновым загрязнением среды, масштабной эвтрофикацией и т.д.

Для наиболее объективной оценки состояния окружающей среды используется метод комплексной биоиндикации, который заключается в использовании комбинации фито- и зооиндикаторов на разных уровнях

организации, что позволяет определить изменения в экосистемах на ранних стадиях, когда они еще не проявляются морфологическими и структурными изменениями, а также выявить степень устойчивости и реакцию экосистем на воздействие человека, прогнозировать возможные нарушения и принимать меры по их предотвращению.

9. БИОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ

Одним из наиболее распространенных видов загрязнений природной среды являются выбросы в атмосферу токсичных газообразных соединений. Основными из них считаются: двуокись серы, окись углерода, фтористый водород, сероводород, окислы азота, хлористый водород и др. Поступление их в атмосферу связано с деятельностью различных предприятий, сжиганием мусора и выбросами автотранспорта.

Экологические последствия загрязнения атмосферного воздуха обусловлены воздействием газообразных соединений, проникающих в организм, и выпадением кислотных осадков, образующихся при соединении токсикантов с водой.

Хорошими индикаторами загрязнения воздушной среды являются растения, поскольку они в большей степени поражаются загрязненным воздухом и сильнее реагируют на те концентрации большинства вредных примесей, которые у людей и животных не оставляют видимых явлений отравления. Действие газовых загрязнителей на растения зависит от вида вредных веществ, концентрации загрязняющих веществ, длительности воздействия, относительной восприимчивости видов растений к действию газов и стадии физиологического развития, в которой находится растение в момент воздействия вредных веществ.

Первые нарушения в анатомическом строении прослеживаются в строении хлоропластов. В дальнейшем отмечаются разрушение

цитоплазмы и сжатие клетки. Выделяют три стадии повреждений хвои ели и сосны: повреждаются только хлоропласты, повреждаются и другие органеллы, органеллы исчезают или превращаются в бесструктурную массу.

Интенсивность воздействия кислотных осадков зависит от смачиваемости поверхности растений. Степень повреждения фитомассы изменяется в зависимости от видовой принадлежности.

При биоиндикационных исследованиях и анализе реакции организма на воздействие загрязнения воздуха следует различать газоустойчивость и газочувствительность растений.

Газоустойчивость – способность сохранять свойственные организму процессы жизнедеятельности и семенного воспроизводства в условиях загрязнения газами и парами атмосферного воздуха. Уровень газоустойчивости вида или особи оценивается по предельным концентрациям токсичного вещества, которые не вызывают функциональных и структурных нарушений в организме в период наивысшей физиологической активности и чувствительности к действующим атмосферным примесям.

Газочувствительность - реакция организма на воздействие загрязняющего вещества в определённый период его развития. В биоиндикационных исследованиях необходимо учитывать систематическую принадлежность видов и изменение степени их газоустойчивости.

В качестве биоиндикационных признаков можно использовать различные специфические и неспецифические признаки.

Неспецифическая индикация аэротехногенного загрязнения может проводиться по различным биохимическим и физиологическим реакциям. Основными индикаторными признаками, отражающими стрессовую нагрузку, являются:

– изменение активности ферментов;

– разрушение пигментов в листьях растений под действием аэротехногенного загрязнения. Хорошо изучено снижение количества хлорофилла, прежде всего хлорофилла «а». В качестве индикатора используется изменение соотношения хлорофилл «а»/хлорофилл «b»;

– изменение количества и соотношения каротиноидов. При воздействии SO₂ увеличивается содержание лютеина и уменьшается количество р-каротина;

– преждевременное появление гормонов старения - этилена и абсцизовой кислоты;

– изменение минерального обмена. Индикаторными признаками являются изменение содержания жирных кислот, увеличение содержания сахарозы и глюкозы.

К числу наиболее показательных признаков специфической индикации относится изменение химического состава биомассы и накопление поллютантов. Наблюдается зависимость содержания поллютантов от возраста листьев.

Неспецифическая индикация проводится по различным морфологическим, анатомическим и поведенческим параметрам. Широко распространенными индикаторными признаками является наличие хлорозов и некрозов, в результате поражения ими надземной массы растений происходит преждевременное опадение листвы - дефолиация.

Биоиндикационными признаками служат: изменение размеров клеток тканей, смоляных ходов, листьев, трансформация размеров стеблей и в целом организмов.

Нарушение процессов жизнедеятельности под влиянием токсичных газов может приводить к изменению строения тканей, отдельных органов и в целом формы роста растений. Крайним случаем проявления воздействия токсикантов является образование тератов. Часто

происходит деформация листовых пластинок древесных пород и кустарников - возникают уродливые перетягивания, вздутия или искривления листовых пластин, изменяется форма слоевища лишайников. У насекомых могут возникать изменения структуры поверхности тела. Индикатором загрязнения воздуха является высокий уровень смертности пчелы медоносной и других насекомых.

Интегральным признаком токсического воздействия является снижение биопродуктивности и запасов биомассы. Хорошим индикатором загрязнения атмосферного воздуха является снижение проективного покрытия или полное исчезновение эпифитных лишайников. В качестве индикатора может быть использовано изменение плодovitости организмов. При загрязнении воздуха происходит уменьшение образования плодовых тел у лишайников, увеличение количества стерильных цветков в соцветиях растений. При хроническом загрязнении воздуха происходят изменения в составе, структуре и строении фито- и зооценозов. При сильном загрязнении отмечается деградация лесных сообществ.

10. БИОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ

Почва - это единственный компонент ландшафта, который возникает в результате взаимодействия всех других его компонентов: горных пород, климата, природных вод, растительности, микроорганизмов и животных. Являясь основной депонирующей средой, почвы сами могут рассматриваться как интегральный индикатор загрязнения природно-территориального комплекса.

Загрязненные почвы являются источниками вторичного загрязнения приземного слоя воздуха, поверхностных и грунтовых вод; из почв растения поглощают минеральные вещества, вовлекая их в биологический круговорот. Таким образом, почвенный покров определяет миграцию химических элементов по цепи питания, поэтому

изучение его состояния представляет собой существенную часть работ по оценке влияния антропогенных факторов на природную среду.

Основные характеристики почв, которые являются объектом биоиндикации, – кислотность, механический состав, влажность, содержание питательных веществ. По степени накопления некоторых токсичных веществ в растениях (аккумулятивная биоиндикация) судят о степени загрязнения ими почвы.

Биоиндикация процессов закисления, нейтрализации или подщелачивания почвенных растворов проводится с использованием фитоиндикаторов кислотности почв, а также изменения видового состава биоценоза и его динамики во времени. По отношению к pH окружающей среды выделяют *ацидофилы* – растения, произрастающие на кислых почвах; *базифилы* — растения, произрастающие на щелочных почвах; *нейтрофилы* — растения почв с нейтральной реакцией.

В зависимости от отношения к обилию питательных веществ в почвах растения подразделяются на: *олиготрофы* – растения, произрастающие на бедных почвах; *мезотрофы* – растения, произрастающие на почвах со средним уровнем содержания биогенных веществ; *мегатрофы* – растения, произрастающие на богатых почвах. В зависимости от отношения к засоленности почв у растений выделяются *галофиты* – растения засоленных местообитаний и *галофобы* (*гликофиты*) – виды растений, избегающие засоленных почв. Выделяют факультативные и облигатные галофиты, эвригалинные и стеногалинные виды, способные произрастать в условиях широкой или узкой амплитуды концентрации солей и переносить различное по составу засоление или адаптированные к определённом виду засоления.

Растения могут служить индикаторами повышенного содержания в почве различных элементов. Выделяют растения *кальцефилы* и *силицифилы*. В районах с природным повышенным содержанием

тяжёлых металлов возникают металлофитные флоры (медная, кобальтовая и т.д.), состоящие из специфических видов.

11. БИОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Гидросфера служит естественным аккумулятором большинства загрязняющих веществ, поступающих непосредственно в атмосферу и литосферу. Можно выделить наиболее существенные проблемы, связанные с антропогенным воздействием на водные объекты: эвтрофирование, избыточное поступление органических веществ, закисление, загрязнение токсичными химическими веществами, воздействие гидротехнических работ.

Показателями эвтрофирования являются: последовательная смена популяций водорослей и преобладание в эвтрофных экосистемах синезеленых и зеленых водорослей; значительное увеличение биомассы фитопланктона; снижение видового разнообразия; увеличение количества нитчатых водорослей в прибрежной зоне; увеличение численности, биомассы и изменение состава зоопланктона и бентоса; увеличение ихтиомассы; повышение заражённости паразитами. Возрастает первичная продукция фитопланктона (оцениваемая по интенсивности фотосинтеза). Отмечается тенденция к уменьшению средних размеров организмов всех экологических групп.

Загрязнение органическими веществами выражается в изменении видового состава биоценоза. Количество видов уменьшается, у животных преобладают виды, устойчивые к дефициту кислорода, повышается численность сапрофитной микрофлоры. Для оценки уровня загрязнения водных объектов органическим веществом создана система сапробности, позволяющая разделить водные объекты и их отдельные участки на зоны (ксено-, олиго-, мезо- или полисапробную). Составлены списки организмов - индикаторов сапробности – растений и

животных, показательных для того или иного уровня загрязнения акватории органическим веществом.

За кисление (ацидификация) водоемов сопровождается глубокими перестройками водных биоценозов на всех трофических уровнях.

Водоемы с различной естественной кислотностью водной среды населяют гидробионты, адаптированные к определенным интервалам концентраций водородных ионов (*эврионные* организмы приспособлены к наиболее значительным колебаниям pH водной среды, *стеноионные*, наоборот, жизнеспособны при незначительных колебаниях pH). По отношению к pH водные организмы подразделяются на *ацидофилы* (предпочитающие кислую среду), *индифференты* и *алкалофилы* (предпочитающие щелочную среду).

По мере повышения кислотности водной среды уменьшается видовое разнообразие водных организмов, происходит смена доминантных видов, снижается интенсивность продукционных процессов.

Химическое загрязнение водных объектов происходит в результате поступления токсичных веществ со сточными водами и атмосферными осадками, а также в результате техногенных аварий.

Индикаторным показателем химического загрязнения является накопление устойчивых токсикантов в гидробионтах (преимущественно в рыбе и организмах бентоса). Под воздействием токсичных веществ отмечается уменьшение видового разнообразия, снижение численности и биомассы гидробионтов, изменение структуры сообществ фитопланктона, зоопланктона, зообентоса, преобладание токсикорезистентных видов. У водных организмов отмечается увеличение частоты появления тератов. У рыб наблюдаются признаки хронического токсикоза, выражающиеся в патологических изменениях органов и тканей. Выявляется увеличение частоты изменений генетического материала гидробионтов (генотоксичное воздействие).

Гидротехнические работы, вызывающие увеличение поступления взвешенных веществ в водную толщу, приводят к уменьшению численности организмов - фильтраторов. Отмечаются изменения состава фитопланктона, в частности, уменьшение численности нитчатых форм водорослей.

12. БИОИНДИКАЦИЯ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Мониторинг окружающей среды – комплексная система наблюдений, оценки и прогноза изменений природных сред, природных ресурсов, растительного и животного мира, позволяющая выделить изменения их состояния и происходящие в них процессы под влиянием антропогенной деятельности.

Биоиндикация как метод исследования экологических систем является основой биомониторинга – составной части экологического мониторинга.

В задачи биомониторинга входит регулярно проводимая оценка качества окружающей среды с помощью специально выбранных для этой цели живых объектов. Лучше других отработана система биомониторинга водной среды. В классификаторе качества вод Роскомгидромета используют показатели развития донных беспозвоночных, перифитона, фито-, зоо- и бактериопланктона. Рассчитывают индексы сапробности, олигохетный индекс, индекс Вудивисса и другие показатели.

В оценке загрязнения наземных экосистем широко используются лишеноиндикация и дендроиндикация. Оцениваются такие показатели, как состояние эпифитных лишайников, состав и состояние растительности, проективное покрытие деревьев, их биомасса, химический состав хвойных игл, в частности, содержание микроэлементов, активность почвенных ферментов, состояние

микоризы, скорость разложения растительных остатков и др. Результаты мониторинга представляют в виде таблиц и графиков, используемых для оценки состояния экосистем и прогноза их изменений.

13. БИОТЕСТИРОВАНИЕ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ПРИРОДНЫХ СРЕД

Под биотестированием обычно понимают процедуру установления токсичности среды с помощью тест - объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест - объектов.

Биотестирование природных вод стали широко применять в научных и прикладных исследованиях с начала 80-х гг. XX в., что было связано с попытками хотя бы частично заменить химический анализ вод. С конца XX в. в России биотестирование стало обязательным элементом контроля качества поверхностных вод. Показатели биотестирования природных вод были включены в перечень характеристик для выявления зон чрезвычайной экологической ситуации и зон экологического бедствия.

Биотестирование основано на регистрации изменений биологически значимых показателей (тест-функций) исследуемых тест-объектов с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранным критерием токсичности. Как тест-функцию можно рассматривать любой показатель реакции гидробионтов на соответствующие изменения внутренних и внешних условий среды. Биологические тест-функции — выживаемость, размножение, плодовитость, качество потомства; физиологические — дыхание, показатели крови, обмен веществ, активность питания.

Тест-объекты (тест-организмы) — это подопытные биологические объекты (организмы), используемые при оценке токсичности

химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др. Проявляющийся токсический эффект регистрируется и оценивается в эксперименте. Тест-объекты позволяют заменить сложные химические анализы и оперативно установить факт токсичности среды. Организмы, используемые при биотестировании, культивируются в стандартных условиях.

Биотестирование – один из приемов исследования, который используется для определения степени повреждающего действия химических веществ, потенциально опасных для живых организмов, в контролируемых экспериментальных лабораторных или полевых условиях путем регистрации изменений биологически значимых показателей (тест-функций) исследуемых тест-объектов с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранным критерием токсичности.

Под биотестом понимается оценка (испытание) в строго определенных условиях действия вещества или комплекса веществ на живые организмы путем регистрации изменений того или иного биологического (или физиолого-биохимического) показателя исследуемого объекта по сравнению с контролем. Главные требования к биотестам – чувствительность и быстрота ответа, четкая реакция на внешние воздействия.

Цель биотестирования – выявление степени и характера токсичности тестируемой среды.

Биотестирование эффективно в экологическом мониторинге районов с интенсивным развитием промышленности и сельского хозяйства. Кроме того, биотестирование позволяет провести сканирование больших пространств в целях ранней диагностики экологических нарушений. В этом случае обычно ограничиваются экспресс-методами, основанными на физиологических показателях,

этологических реакциях и др. Биотестирование позволяет определить качество сточных вод и отходов.

14. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ.

ЗАВИСИМОСТЬ «ДОЗА-ЭФФЕКТ» КАК ОСНОВА КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Токсичность - свойство химических веществ проявлять повреждающее или летальное действие на живые организмы. Вещество, оказывающее токсическое действие, называется токсикантом, а процесс воздействия токсиканта на организм - токсикацией (на экосистему - токсификацией). Токсичность водной среды - токсичность воды и донных отложений для гидробионтов, возникающая вследствие появления в ней токсических веществ природного или антропогенного происхождения (ксенобиотиков), загрязнения сточными водами, токсическими атмосферными осадками и пр. При возникновении токсичности вода из среды, поддерживающей жизнь, становится средой, губительной для жизни. Степень токсичности водной среды оценивается методами биотестирования, а также по превышению ПДК (предельно допустимых концентраций).

Зависимость «доза-эффект». Спектры проявлений токсического процесса определяются строением токсиканта, однако выраженность развивающегося эффекта является функцией количества действующего агента. В качестве вредного агента могут рассматриваться токсичные вещества, биологические субстанции, проникающая радиация и другие повреждающие факторы. В качестве эффектов могут учитываться самые разнообразные признаки. Например, летальный исход, выход показателя за пределы биологической нормы и т.п. Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие дозы (воздействующей дозы). Вид повреждающего агента и путь

поступления воздействующей дозы могут быть самыми разнообразными. Воздействующую дозу можно непосредственно измерить при помощи технических средств и выразить в соответствующих единицах (мг/кг, мг/м³, Гр, Кл/кг и т.д.). Зависимость «доза-эффект» может быть прослежена на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до популяционного. При этом в подавляющем большинстве случаев будет регистрироваться общая закономерность: с увеличением дозы – увеличивается степень повреждения системы; в процесс вовлекается все большее число составляющих её элементов. В зависимости от действующей дозы практически всякое вещество в определенных условиях может оказаться вредным для организма. На проявление зависимости «доза-эффект» оказывает существенное влияние внутри- и межвидовая изменчивость организмов. Особи, относящиеся к одному и тому же виду, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим характеристикам. Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Еще более выражены, в силу тех же генетических особенностей, межвидовые различия. В этой связи дозы конкретного вещества, в которых оно вызывает повреждение организмов одного и того же и, тем более, разных видов, порой очень существенно различаются. Следовательно, зависимость «доза-эффект» отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. На практике это означает, что количественную оценку токсичности, основанную на изучении зависимости «доза-эффект», следует проводить в эксперименте на различных биологических объектах и обязательно прибегать к статистическим методам обработки получаемых данных.

Поскольку смертельный исход после действия токсиканта – реакция, реализующаяся по принципу «все или ничего», этот эффект считают наиболее удобным для определения токсичности веществ, его используют для определения величины среднелетальной дозы - ЛД50

(LD50). Средняя летальная доза (или концентрация - ЛК 50 (LC50) – количество токсиканта, вызывающее гибель 50 % стандартной группы подопытных животных при определенной продолжительности наблюдения. Концепция определения ЛД50 веществ была впервые сформулирована Дж. Треваном в 1927 г. С этого момента начинается становление токсикологии как настоящей науки, оперирующей количественными характеристиками исследуемого свойства (величина токсичности). В качестве уровня смертности, подлежащего определению, может быть также выбрана величина ЛД95, которая близка к максимуму токсического действия и является границей дозового интервала, в рамках которого, в основном, и реализуется эффект воздействия вредных веществ на живые организмы.

Обязательным элементом методики биотестирования является шкала оценки токсичности. При разработке биотеста необходима четкая интерпретация данных, приводящая к оценке токсичности независимо от того, как и в каких единицах выражается конечный результат биотестирования (в процентах погибших организмов, активности ферментов и т. д.).

15. УНИВЕРСАЛЬНЫЕ БИОТЕСТЫ, СТРАТЕГИЯ ВЫБОРА ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ И ТЕСТ-ОПЕРАЦИЙ

Возможность создания универсальных стандартных биотестов, позволяющих давать оценку общей токсичности воды, обеспечивается тем, что вызванное действием различных токсикантов патологическое состояние организма зависит от интенсивности неспецифической стрессовой реакции. Стереотипность развития этой реакции у достаточно высокоорганизованных животных предопределяет значительное единообразие их реагирования на действие токсикантов различной природы, что позволяет оценивать общую токсичность загрязненных вод с помощью универсальных (интегрирующих) критериев,

устанавливаемых в соответствии с изменениями тех или иных тест-функций.

Так, методы определения токсичности вод в помощью биотестирования по целям можно разделить на две группы: методы оценки общей токсичности вод и методы индикации в воде определенных загрязнителей, например, фенолов, ряда тяжелых металлов и т. п.

Методы оценки общей токсичности воды основываются на данных, характеризующих интенсивность развития стрессовой реакции тест-организмов. В биотестах, рассчитанных на установленные наличия в воде конкретных загрязнителей, токсичность целесообразно оценивать по изменению параметров функционирования какого-либо специфически чувствительного к воздействию определяемого токсиканта органа, ткани или системы органов тест-организма, так называемой «мишени» или «биомаркера». В этом случае в качестве тест-организма может выступать любой биологический объект, обладающий достаточно чувствительной «мишенью», важно только, чтобы реакция этой «мишени» была легко регистрируемой и не маскировалась изменениями, происходящими в других анатомо-физиологических системах организма. Этого легче всего достичь, используя как тест-организмы относительно просто организованные гидробионты, такие, как простейшие (инфузории), плоские черви, мшанки и т. п.

Стратегия выбора оптимального тест-организма для определения общей токсичности воды должна основываться на том, что общая токсичность может быть установлена только в соответствии с изменением функционального состояния всего организма, которое обуславливается характером взаимодействия его основных анатомо-физиологических систем. Из этого следует, что для определения общей токсичности может быть использован только такой тест-организм, который обладает теми же основными системами, нарушения функционирования которых могут приводить к развитию стресса, как и у

организмов, на которых предполагается распространять результаты тестирования. Например, если необходимо установить общую токсичность вод хозяйственно-питьевого назначения, иначе говоря, результаты биотестирования должны быть распространены на человека и сельскохозяйственных животных, то в качестве тест-организмов нецелесообразно использовать таких низкоорганизованных животных, как кишечнорастворимые, мшанки, плоские черви, недопустимо применение простейших и бактерий.

Многие гидробионты, относящиеся к позвоночным, также не могут служить оптимальными тест-организмами для оценки общей токсичности вод, хотя их организация наиболее близка к организации высших животных и человека. Причина нежелательности использования позвоночных животных в качестве тест-организмов заключается в том, что у них в лабораторных условиях возникает сильный стресс на проводимые с ними операции, что может маскировать их реакции на оцениваемый токсикологический фактор и, соответственно, приводить к снижению точности и достоверности получаемых результатов. Прежде всего, это относится к рыбам, взятым из природных популяций.

Оптимальными для оценки общей токсичности воды тест-организмами являются обитающие в водной среде высшие беспозвоночные животные - моллюски, членистоногие и т. п. Они обладают всеми основными, характерными для высших животных анатомо-физиологическими системами и в то же время легче и без существенных стрессовых реакций приспосабливаются к условиям экспериментов.

Другим важным вопросом, возникающим при разработке методов биотестирования, является выбор оптимальных сроков проведения эксперимента.

Необходимо также определение наиболее показательных критериев оценки функционального состояния тест-организма. При выборе

оптимального тест-организма необходимо также учитывать его чувствительность и резистентность к токсическому действию внешней среды. Как известно, чувствительность организма определяется такими минимальными концентрациями токсикантов, при воздействии которых могут быть зарегистрированы какие-либо ответные реакции тест-организма. Напротив, резистентность определяется максимальными концентрациями токсикантов, при воздействии которых организм еще может выжить. В совокупности чувствительность и резистентность тест-организма определяют диапазон токсичности, в пределах которого будет возможна ее оценка.

Выбор тест-организмов может быть удачным только при учете естественной среды обитания вида и является одним из важнейших факторов, определяющих возможность использования конкретного вида для биотестирования.

Анализ основных закономерностей процесса адаптации живых организмов, физиологических, поведенческих и экологических особенностей гидробионтов дает возможность сформулировать ряд положений о тест-организмах и тест-операциях, которые могут облегчить разработку унифицированных универсальных биологических методов оценки общей токсичности водной среды. Так, оптимальные тест-организмы должны удовлетворять следующим требованиям:

- используемые для тестирования особи должны быть генетически однородными, что обеспечит сходство их чувствительности и резистентности, а также единообразие ответных реакций на воздействие токсикантов, гарантирующие высокую воспроизводимость результатов тестирования и возможность стандартизации метода;

- функциональная активность тест-организма не должна иметь сезонной периодичности, что позволит получать одни и те же результаты независимо от времени года;

— виды, используемые как тест-организмы, должны иметь высокий уровень метаболизма, что обеспечит быстроту возникновения у них ответных реакций на действие токсикантов и, следовательно, экспрессность биотеста. Тест-организмы должны быть стрессоустойчивы к связанным с процедурой тестирования операциям, т. е. помещение их в экспериментальные камеры и проведение необходимых наблюдений и замеров не должно само по себе вызывать у них отчетливо выраженных стрессовых реакций.

Выполнение всех этих требований можно обеспечить только в случае культивирования чистых линий тест-организмов в стандартных, «экологически чистых», оптимальных для данного вида условиях.

При создании чувствительных экспрессных биотестов наиболее перспективным является использование в качестве тест-функций поведенческих реакций животных. Поскольку биотестирование может дать достоверные результаты только при учете нескольких независимых факторов (тест-функций), выбранные тест-организмы должны обладать способностью к реализации в условиях эксперимента достаточно широкого набора легко регистрируемых поведенческих реакций.

16. РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ В МИРОВОЙ ПРАКТИКЕ

Отдельные методы биотестирования появились еще в начале XX в. и стали использоваться для оценки токсичности промышленных сточных вод и степени загрязнения природных водоемов, однако интенсивно биотестирование стало развиваться только с 60-х гг. В последующие годы в России и ряде ведущих стран мира было разработано большое количество разнообразных биологических методов, контролирующих загрязнение водной среды.

В большинстве западных стран биотестирование широко внедряется практически всеми организациями и ведомствами,

осуществляющими охрану и контроль за состоянием окружающей среды. Разработаны стандарты на биотесты, использующие рачков - дафний, рыб и ряд других гидробионтов. Созданы достаточно надежные научно-методические основы для применения биологических методов в практике контроля токсического загрязнения вод. В качестве первоочередных биотестов для контроля сточных вод в установленном режиме и для выявления потенциально опасных источников загрязнения водных объектов токсикантами рекомендованы методы, использующие ракообразное *Daphnia magna*. Основными сигнальными методами, предназначенными для оперативного непрерывного контроля сточных вод, были признаны методы, основанные на реакции ухода рыб из опасной зоны.

В настоящее время разработано большое количество биотестов, использующих в качестве тест-организмов разнообразных гидробионтов, таких, как простейшие (инфузории, жгутиковые), кишечнополостные (гидры), черви (планарии, пиявки), моллюски (пластинчатожаберные, брюхоногие), ракообразные (дафнии, гаммарусы) и рыбы.

В ряде европейских стран принят стандарт на биотестирование сточных вод и определение токсичности отдельных химических веществ с помощью *Daphnia magna*. Методы с использованием дафний позволяют сравнивать токсичность вод, содержащих разнообразные загрязнители, однако в связи с разведением в лабораториях культур дафний разного происхождения они дают значительный разброс в результатах, достигающий 35 % и более. Таким образом, биотесты с дафниями не могут претендовать на универсальность и унифицированность, использование их предполагается в комплексе с другими биологическими и гидрохимическими методами.

Большая часть разработанных в нашей стране и за рубежом биотестов не обладает достаточно высокими надежностью и

чувствительностью и не может использоваться на водах с широким диапазоном токсичности.

С целью решения данной проблемы в ряде случаев используют методы биотестирования с несколькими тест-организмами или разрабатываются специальные системы - «блоки» из нескольких самостоятельных биотестов. Такие методы могут быть использованы как сигнальные для постоянного проточного биотестирования стоков и экологического мониторинга как в лабораторных, так и в полевых условиях.

17. БИОТЕСТИРОВАНИЕ СТОЧНЫХ ВОД

При оценке состояния водных экосистем необходимо учитывать их специфику (назначение) и цели, стоящие перед исследованием. Это позволит наиболее адекватно подобрать методы биологического анализа и оптимальные тест-объекты.

В настоящее время большая часть биотестов рекомендуется для применения только в практике контроля за уровнем токсического загрязнения сточных вод, что в значительной мере обусловлено невысокой и ограниченной чувствительностью известных биологических методов оценки суммарной токсичности воды. В нормативных документах, регламентирующих водоотведение, указано, что сточная вода на выпуске в водный объект не должна оказывать острого токсического воздействия на тест-объекты, а вода водного объекта в контрольном створе не должна оказывать хронического токсического действия на тест-объекты. Для этого рекомендуется определить кратность разбавления сточной воды на выпуске в водный объект, при которой она не оказывает токсического действия на самый чувствительный из используемых тест-организмов (рыбы, дафнии, водоросли). В качестве разбавляющей используют воду водного объекта, отобранную вне зоны влияния тестируемой сточной воды.

Кроме того, для решения задач по ограничению токсического загрязнения водных объектов рекомендованы к применению специальные устройства биотестирования, пригодные для эксплуатации в производственных условиях непосредственно на выпусках сточных вод в водные объекты, а для токсикологической паспортизации водных экосистем - портативные переносные устройства, обеспечивающие проведение массовых экспрессных токсикологических анализов. Биосигнализаторы токсичности могут работать автономно, контролируя в непрерывном режиме токсичность сточных вод на выпуске в водные объекты, или в составе автоматизированных систем контроля и управления сбросом сточных вод. С помощью этих биосигнализаторов в стационарных производственных условиях возможно выявление залповых токсичных сбросов сточных вод в оперативном непрерывном режиме работы. Такой вид биологического контроля позволяет выявить случаи нарушения технологического процесса, аварийные ситуации, своевременно принять водоохранные решения для предотвращения загрязнения водных объектов локальными источниками токсичности, к которым относятся промышленные сточные воды.

Опасность для водных объектов представляют также рассеянные источники загрязнения, к которым, прежде всего, относятся сбросные и коллекторно-дренажные воды. Для биотестирования вод, загрязненных пестицидами, разработаны инструментальный метод и устройство, позволяющие в полевых условиях производить оценку токсичности воды. Показателем токсичности в этом методе является изменение интенсивности фотосинтеза культуры водорослей под воздействием токсикантов по сравнению с контролем.

В качестве наиболее демонстративных, экспрессных и удобных для регистрации технических средств в биотестировании признаны поведенческие реакции гидробионтов, прежде всего, рыб, моллюсков и рачков дафний. Ряд биотестов, основанных на регистрации изменений

поведенческих реакций этих гидробионтов, рекомендован в настоящее время в качестве биосигнализаторов токсичности в системе контроля сточных и природных вод.

Анализ и систематизация данных, полученных в процессе испытаний различных методов и устройств биотестирования в лабораторных, производственных и натурных условиях, результатов апробации биотестов и обобщение опыта их применения в практике свидетельствуют о том, что для предотвращения токсического загрязнения водных объектов недостаточно ограничиться контролем выпусков сточных вод. Область применения биотестов включает эколого-токсикологическую оценку состояния водного объекта в зоне влияния на него сточных вод предприятия, токсичности воды и донных отложений в створе смешения сточной воды с водой водного объекта.

18. БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ВОД И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Биотестирование природных вод имеет ряд отличий от биотестирования сточных вод или отдельных химических соединений. При оценке токсичности природных вод методом биотестирования могут решаться две задачи: получение систематической информации о возможной токсичности воды (водной толщи и придонных слоев) и донных отложений водоема и его участков; получение экспресс-информации о токсичности конкретных проб или токсическом загрязнении водоема или его участка в связи с аварийной ситуацией.

Первая задача ориентирована на режимные наблюдения, вторая - на оперативные работы по оценке уровня токсического загрязнения. Подбор биотестов и частота контроля по токсикологическим показателям определяются этими задачами. В системе режимных наблюдений на водных объектах могут быть использованы следующие биотесты: на водорослях *Scenedesmus quadricauda* - по нескольким тест-

функциям и в первую очередь по флуоресцентным характеристикам эффективности фотосинтеза; на дафниях - хронический опыт с использованием показателей выживаемости и плодовитости. Кроме того, достаточно высокой чувствительностью обладают биотесты на гаммаридах и пиявках, поэтому их целесообразно также использовать для оценки токсичности как сточных вод, так и, после соответствующей апробации, на природных водах.

В любом случае отобранные методы должны удовлетворять ряду требований, предъявляемых в целом к используемым на природных водах биотестам, а именно:

- методы биотестирования должны обладать высокой чувствительностью, поскольку концентрации загрязняющих веществ в этом случае (по сравнению со сточными водами) относительно низкие;

- результаты биотестирования должны быть экологически значимыми, а данные - научно обоснованными;

- методы биотестирования должны быть применимы для широкого набора классов химических веществ, которыми могут быть загрязнены природные водоемы;

методы биотестирования должны быть простыми, рациональными и не требующими в своем исполнении привлечения дорогостоящего оборудования и высококвалифицированных специалистов.

В настоящее время для оценки токсичности природных вод рекомендованы биотесты на бактериях, водорослях, высших водных растениях, водных беспозвоночных, дрожжах и тест-системах из культуры клеток.

У биотестов с гидробионтами регистрируемыми тест-функциями являются выживаемость, плодовитость и различные параметры жизнедеятельности, включая ряд физиолого-биохимических показателей.

Степень токсичности воды природных водоемов и водотоков не всегда коррелирует с уровнем загрязнения, который оценивают по

гидрохимическим и гидробиологическим показателям. Сопоставление результатов биотестирования с данными гидробиологических и гидрохимических исследований в контролируемых пунктах и участках не дает однозначных корреляций с токсикологическими характеристиками. Токсичность воды из природных источников непостоянна и носит импульсный характер.

В настоящее время могут быть использованы несколько вариантов систем (блоков) биотестирования токсичности природных водоемов разного хозяйственного назначения, чаще всего включающие биотесты на водорослях, дафниях и рыбах.

Токсичность донных отложений можно косвенно оценить по токсическому воздействию их водных вытяжек на те же тест-организмы, которые были использованы в выбранной системе биотестирования воды водного объекта.

19. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОД МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ В СИСТЕМЕ ХОЗЯЙСТВЕННО- ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

Контроль качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения включает отбор и анализ проб воды в источниках водоснабжения перед водозабором, на промежуточных стадиях процесса водоподготовки и в емкостях чистой воды и (или) из трубопровода перед подачей в водопроводную распределительную систему, а также непосредственно в водопроводной сети из распределительных колонок или кранов перед подачей потребителям. Кроме того, в крупных системах водоснабжения требуется проведение регулярного контроля поверхностных источников водоснабжения путем отбора проб в различных створах, как правило, в пределах зоны санитарной охраны, осуществляемое сотрудниками самого предприятия водоснабжения.

Основные требования к тест-реакциям при применении методов

биотестирования для контроля качества воды в системах водоснабжения заключаются в возможности получения однозначной реакции на появление в воде опасных токсикантов в минимальные сроки. Это, как правило, требует создания специальных контролирующих устройств с элементами автоматизации, обеспечивающими преобразование регистрируемых тест-реакций в нормируемые величины характеристик токсичности воды.

В настоящее время в системе хозяйственно-питьевого водоснабжения рекомендованы к применению несколько биотестов, включающие методы, имеющие в качестве тест-объектов: гранулированную сперму быка, инфузорий – парамеций (*Paramecium*) и тетрахимену периформис (*Tetrahymena pyriformis*), штаммы бактерий *Escherichia coli*, дафний (*Daphnia*) и цериодафний (*Ceriodaphnia*), водорослей – хлореллу (*Chlorella*) и сценедесмус (*Scenedesmus*), а также рыб - гуппи (*Poecilia reticulata*) и данио (*Brachydanio rerio*).

При сопоставлении чувствительности всех перечисленных методов биотестирования с методами аналитического химического анализа отдельных химических веществ в пробах контролируемой воды отмечается, как правило, невозможность фиксации тест-реакций при низких концентрациях загрязнений воды на уровне ПДК, которые количественно определяются химическими методами. Фактически, фиксируемые с необходимой достоверностью тест-реакции при наличии в воде индивидуальных токсикантов для типовых методов биотестирования в режимах экспресс-контроля наблюдаются при концентрациях, существенно превышающих ПДК.

Все вышеуказанное относится только к случаям загрязнения воды отдельными токсикантами, тогда как основное преимущество методов биотестирования заключается в фиксации совокупного действия всех присутствующих в воде токсичных веществ, при котором существенно

изменяется уровень концентрации отдельных токсикантов, необходимый для проявления тест-реакции.

Возможность экспресс-контроля при применении методов биотестирования с соответствующим приборным оснащением позволяет своевременно выявить появление чрезвычайных ситуаций, когда внезапно возникающие высокие уровни загрязнения воды опасными токсикантами могут нанести ущерб здоровью населения в короткие сроки при потреблении даже небольших количеств воды.

Наряду с перечисленными, для оценки качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения применяются также специальные биологические методы, в частности метод для определения суммарной мутагенной активности с использованием биологических тест-систем.

20. БИОТЕСТИРОВАНИЕ КАК ОСНОВА РАЗРАБОТКИ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО ЗНАЧЕНИЯ

Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения характеризуют пригодность ее для обитания водных биологических ресурсов и обеспечивают безопасность продукции из них.

ПДК (предельно допустимая концентрация) веществ устанавливается по результатам токсикологических исследований на тест-объектах разных трофических звеньев водного объекта (микроорганизмы, фито-, зоопланктон, фитобентос, зообентос, рыбы на разных стадиях развития); оценки влияния веществ на санитарные показатели водной среды; определения стабильности вещества в воде; способности его к накоплению в гидробионтах; исследований генотоксичности; обобщения полученных данных; определения наиболее слабого звена, для которого максимальная недействующая концентрация

вещества оказалась наименьшей. Наиболее слабое звено называют также лимитирующим звеном, максимальная недействующая концентрация которого определяет ПДК вещества. Исследуемый показатель (численность, биомасса, физиологический или гематологический показатель и проч.), для которого определена максимальная недействующая концентрация, называется лимитирующим показателем. ПДК вещества в воде характеризует его (или его метаболитов) максимально допустимую концентрацию в воде, при которой в водном объекте не возникают последствия, снижающие его рыбохозяйственную ценность (в ближайшее время и в перспективе) или затрудняющие его рыбохозяйственное использование при постоянстве этой концентрации в воде водного объекта.

Нормативы ПДК разрабатываются для веществ, используемых в производственной и иной деятельности, связанной с неизбежным сбросом или риском их поступления в водную среду (при транспортировке, погрузочно-разгрузочных операциях и т.д.), а также при применении их на территории водосборной площади.

Методика определения ПДК вещества предусматривает проведение хронических токсикологических исследований на организмах - представителях основных экологических групп водного сообщества. В процессе экспериментальных оценок токсичности в обязательном порядке должны быть проведены исследования хотя бы на одном представителе каждой из экологических групп.

Для каждого тест-организма установлен круг тест-параметров (или тест-функций), которые являются основными и контролируются в обязательном порядке. Иные тест-параметры являются вспомогательными и могут быть использованы для уточнения пределов действующих концентраций или для установления особенностей действия исследуемого вещества. В эксперименте концентрации считаются действующими, если вызывают не только токсический, но и

эвтрофирующий эффект (увеличение численности, биомассы организмов или других регистрируемых параметров); максимальная недействующая концентрация для наиболее чувствительного тест-объекта принимается как ПДК исследуемого вещества. Звено, к которому относится данный тест-объект, определяется как лимитирующее при разработке ПДК вещества.

В связи с высокой токсичностью органических пестицидов при разработке для них ПДК обязательными являются исследования на рыбах материальной и функциональной кумуляции вещества (накопления вещества в органах и тканях и накопления токсического эффекта организмом).

21. БИОТЕСТИРОВАНИЕ ОТХОДОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ КЛАССА ОПАСНОСТИ

Экспериментальная оценка степени опасности отхода базируется на принципиальных положениях методологии гигиенического нормирования химических загрязнений среды обитания человека (почва, вода, воздух и др.), а также включает методы, допущенные для целей государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

Экспериментальный метод позволяет определить класс опасности отхода как единого целого с учетом комбинированного, комплексного действия его компонентов и продуктов их трансформации на здоровье человека и среду его обитания.

Экспериментальная оценка опасности отхода проводится поэтапно по сокращенной или расширенной схеме.

Сокращенная схема оценки опасности отходов включает:

- предварительную оценку водно-миграционной опасности;
- предварительную оценку воздушно-миграционной опасности (для отходов, содержащих летучие компоненты);
- оценку влияния отхода на биологическую активность почвы

экспресс-методами (численность азотобактера (*Azotobacter chroococcum*), окислительно-восстановительный потенциал почвы, активность азотфиксации);

- оценку токсичности отхода методами биотестирования на гидробионтах и в фитотесте;

- оценку острой токсичности экстракта отхода при пероральном введении (на мышах);

- оценку подострой токсичности экстракта отхода при пероральном введении (на крысах в месячном опыте).

Сокращенная схема обязательна во всех экспериментальных исследованиях. Результаты, полученные по сокращенной схеме, позволяют в относительно короткий срок оценить токсичность отхода, выявить пути его воздействия на среду и человека, определить направление дальнейших исследований.

Расширенная схема исследования отходов проводится в зависимости от результатов предварительной оценки и включает постановку длительных модельных опытов:

- по оценке миграции ингредиентов отхода по профилю почвы;
- по оценке воздушно-миграционной опасности;
- по оценке влияния отхода на почвенный микробиоценоз и биологическую активность почвы;

- по оценке уровня транслокации ингредиентов отхода в сельскохозяйственные растения (вегетационные опыты);

- по оценке влияния компонентов отхода на теплокровный организм в хроническом санитарно-токсикологическом эксперименте.

Оценка опасности отхода по расширенной схеме обязательна:

- при предполагаемом использовании отхода в сельском хозяйстве;

- при производстве товаров народного потребления;

— во всех случаях, когда возможно контактное, ингаляционное, пероральное или комплексное действие компонентов отхода на здоровье человека.

Оценка опасности отхода по влиянию на биологическую активность почвы включает тестирование с культурой *Azotobacter chroococcum*, основными группами почвенных микроорганизмов (микроскопические почвенные грибы, сапрофитные бактерии и актиномицеты).

Экотоксикологические исследования на водных организмах (биотестирование) характеризуют уровень токсикологической опасности отхода для гидробионтов. При биотестировании используются методы, допущенные для целей государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

В экспериментах на гидробионтах необходимо применять не менее двух тест-объектов из разных систематических групп (дафний и инфузорий, цериодафний, бактерий и т.п.). Класс опасности отхода определяется по достоверному эффекту воздействия на гидробионты водного экстракта отхода с учетом разведения, при котором этот эффект наблюдается.

Оценка опасности отхода по фитотоксическому действию проводится экспресс-методом на проращивание семян. В качестве индикаторов токсичности используются семена сельскохозяйственных растений. Наиболее адекватными тест-растениями являются овес и ячмень.

Фитотоксическое действие считается доказанным, если в эксперименте зафиксирован фитотоксический эффект - статистически достоверное торможение роста корней проростков растений под влиянием водного экстракта отхода. Показателем фитотоксической опасности отхода является среднеэффективное разведение экстракта, вызывающее торможение роста корней на 50 %.

Санитарно-токсикологический эксперимент включает острый и подострый опыты. Острый и подострый токсикологические эксперименты проводятся с экстрактом отхода и его разведениями (1:10, 1:100 и т.д. в зависимости от концентрации токсических веществ в нативном экстракте) при их пероральном введении в организм животных.

Задача острого опыта - установление величины LD50 экстракта отхода при однократном введении. Проведение острого опыта целесообразно, если концентрации нескольких компонентов отхода достигают значений, соответствующих 1/2-1/10 и более от их LD50. За величину LD50 принимается разведение экстракта отхода, вызывающее гибель 50 % подопытных животных. Задачей подострого эксперимента является изучение характера и степени воздействия экстракта отхода при повторном поступлении в организм животных. Исследуется характер кумулятивных свойств отхода, его аллергического действия, влияния на репродуктивную функцию и т.д.. Влияние отхода на организм оценивается на основании статистически достоверных изменений показателей функционального состояния организма лабораторных животных.

При определении класса опасности отходов по расширенной схеме, в том числе, производится хронический санитарно-токсикологический эксперимент с целью установления степени проявления возможного токсического действия отхода при длительной интоксикации организма его экстрактом. Воздействие отхода на организм оценивается по статистически достоверным изменениям показателей функционального состояния организма (гематологическим, биохимическим, иммунологическим и др.).

Конечной целью хронического эксперимента является установление порогового разведения экстракта, а также разведения, обеспечивающего безопасность отхода в токсикологическом отношении.

При оценке биологического действия отхода следует иметь в виду вероятность проявления отдаленных последствий влияния его на теплокровный организм. В этих случаях рекомендуется проведение специальных исследований по изучению тератогенного, эмбриотоксического, гонадотоксического, мутагенного, канцерогенного и аллергенного эффектов.

Объем исследований определяется степенью изученности отдельных компонентов отхода в отношении их способности вызывать те или иные виды отдаленных эффектов.

Класс опасности отхода устанавливается по результатам комплекса проведенных исследований с учетом лимитирующего показателя вредности, за который принимается показатель, выявивший наибольшую степень опасности отхода. При этом приоритет отдается токсикологическим показателям.

Ранжирование отхода по классам опасности проводят в соответствии с критериями, изложенными в Приказе МПР РФ от 15.06.2001 г. и СП 2.1.7.1986-03.

СЛОВАРЬ

Абиотические факторы среды – компоненты и явления неживой, неорганич. природы (климат, свет, химич. элементы и вещества, температура, давление и движение среды, почва и др.), прямо или косвенно воздействующие на организмы.

Аккумулятивный (кумулятивный) биоиндикатор – индикатор, способный длительно накапливать вредное воздействие без видимых изменений

Активная индикация (биотестирование) – исследование неблагоприятных воздействий определённого фактора или комплекса факторов в стандартных условиях на чувствительных тест-организмах.

Алкалифилы – организмы, развивающиеся в щелочных средах.

Антропогенное воздействие — прямое осознанное или косвенное и неосознанное воздействие человека и результатов его деятельности, вызывающее изменение природной среды и естественных ландшафтов.

Антропогенный объект — объект, созданный человеком для обеспечения его социальных потребностей и не обладающий свойствами природных объектов.

Ацидификация — увеличение кислотности (уменьшение величины водородного показателя pH) природных компонентов (воды, почвы) вследствие применения физиологически кислых минеральных удобрений и выпадения кислых осадков.

Ацидофилы — организмы, нормально развивающиеся на сильноокислых и кислых средах.

Базифилы — растения, предпочитающие щелочные почвы.

Биоаккумуляция — накопление в организмах высоких трофических уровней загрязнителей, которые поступают вместе с пищей или поглощаются из окружающей среды, но не разлагаются и не выделяются обратно.

Биоиндикаторы - организмы или сообщества организмов, жизненные функции которых тесно коррелируют с определенными факторами среды и могут применяться для их оценки.

Биоиндикация — оценка качества природной среды по состоянию её биоты или определение биологически значимых нагрузок на основе реакций на них живых организмов и их сообществ.

Биомагнификация (биологическое усиление) — концентрирование, или накопление, химических веществ в трофических цепях.

Биомаркер — показатель, характеризующий взаимодействие организма с потенциально опасным агентом (иначе — измеряемое событие, происходящее в биологической системе под определённым воздействием).

Биотестирование – см. **Активная индикация**

Биотические факторы – совокупность влияний жизнедеятельности одних организмов на жизнедеятельность других, а также на неживую среду обитания.

Галофиты – растения, предпочитающие засоленные местообитания

Галофобы – организмы, не переносящие высоких значений солёности.

Дендроиндикация – использование древесных растений для оценки состояния и изменений окружающей среды под воздействием экологических факторов.

Дистресс – форма стресса, связанная с развитием патогенных процессов, возникающих под воздействием неблагоприятных факторов.

Загрязнение воды - изменения химического и физического состояния или биологических характеристик воды, ограничивающие дальнейшее ее употребление. Согласно рекомендациям ВОЗ, воду следует считать загрязненной, если в результате изменения ее состава или состояния она становится менее пригодной для любых видов водопользования.

Загрязнение воздуха - любое нежелательное изменение состава земной атмосферы в результате поступления в нее различных газов, водяного пара и твердых частиц (под воздействием природных процессов или в результате деятельности человека). Примерно 10 % загрязнителей.

Загрязнение окружающей среды – это процесс привнесения в среду или возникновение в ней новых, обычно не характерных для нее физических, химических, биологических агентов, оказывающих негативное воздействие.

Загрязнение почвы - привнесение в почву и возникновение новых, обычно нехарактерных для нее физических, химических или

биологических агентов, или превышение в рассматриваемое время естественного среднесноголетнего уровня концентраций этих агентов.

Загрязняющее вещество (поллютант) - любое химическое вещество или соединение, которое находится в объекте окружающей природной среды в количествах, превышающих фоновые значения и вызывающее тем самым химическое загрязнение.

Закон минимума Либиха - закон, согласно которому относительное действие отдельного экологический фактора тем сильнее, чем больше он находится по сравнению с другими экологический факторами в минимуме.

Закон толерантности Шелфорда - закон, согласно которому существование вида определяется лимитирующими факторами, находящимися не только в минимуме, но и в максимуме.

Индекс олигохетный Гуднайт-Уотлея - индекс, используемый для оценки загрязнения водоёма органическими веществами. Значение индекса равно отношению количества обнаруженных в пробе олигохет (малощетинковых червей) к общему количеству организмов (включая и самих червей) в процентах. Характеристика загрязнения органическими веществами проводится по соответствующей таблице.

Индекс сапробности — предложенный в 1955 г. Р. Пантле и Г. Бук индекс, позволяющий дать сапробиологическую оценку воды по набору и количественным показателям популяций видов-индикаторов. Рассчитывается по формуле:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^N (s_i h_i)}{\sum_{i=1}^N h_i}$$

где s_i — индикаторная значимость вида i , h_i — показатель его обилия N — число видов-индикаторов. В полисапробных водоемах (зонах) он равен 4 — 3,5; б и в — мезосапробных 3,5 — 2,5 и 2,5 — 1,5; в олигосапробных 1,5 — 1; в ксеносапробных - 1 — 0,5; для катаробных зон — близок или равен нулю.

Индекс Шеннона $\rightarrow$ используется при оценке сложности и содержания информации любых типов систем. Разнообразие в индексе трактуется как количество информации в битах, приходящееся на одну особь. Учитывает количество видов и степень их доминирования. Рассчитывается по формуле:

$$H = -\sum (N_i/N) \cdot \log_2 (N_i/N),$$

где N_i – обилие i -го вида; N – суммарное обилие всех видов.

Класс опасности вредных веществ $\rightarrow$ условная величина, предназначенная для упрощённой классификации потенциально опасных веществ. Класс опасности устанавливается в соответствии с нормативными отраслевыми документами.

Компоненты среды - земля, недра, почвы, поверхностные и подземные воды, атмосферный воздух, растительный, животный мир и иные организмы, а также озоновый слой атмосферы и околоземное космическое пространство, обеспечивающие в совокупности благоприятные условия для существования жизни на Земле.

Косвенная биоиндикация – индикация, основанная на действии фактора через изменение других (абиотических или биотических) факторов среды.

Ксенобиотики - вещества, по своей структуре и биологическим свойствам чуждые биосфере и полученные исключительно в результате химического синтеза.

Летальная концентрация – концентрация токсиканта, вызывающая смерть организма.

Лихеноиндикация – оценка состояния окружающей среды с использованием лишайников.

Мониторинг окружающей среды – комплексная система наблюдений, оценки и прогноза изменений природных сред, природных ресурсов, растительного и животного мира, позволяющие выделить

изменения их состояния и происходящие в них процессы под влиянием антропогенной деятельности

Неспецифическая биоиндикация – индикация, предполагающая одинаковую реакцию на различные воздействия.

Отход – вещество (или смесь веществ), признанное непригодным для дальнейшего использования в рамках имеющихся технологий или после бытового использования продукции.

Пассивная биоиндикация – исследование у свободноживущих организмов видимых или незаметных повреждений и отклонений от нормы, являющихся признаками неблагоприятного воздействия.

Полулетальная (среднелетальная) концентрация или доза – величина концентрации (дозы) вредного агента, вызывающая гибель половины (50 %) подопытных организмов за определенный срок. Обозначается: LC50 (LD50) - например: LC50₉₆ – концентрация вещества, при которой в течение 96 ч. погибло 50 % подопытных организмов.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) (рыбохозяйственный норматив) – экспериментально установленный максимально допустимый уровень содержания загрязняющего вещества в воде водного объекта, при котором в нем не возникают последствия, снижающие его рыбохозяйственную ценность.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) (санитарно-гигиенический норматив) – концентрация химических элементов и их соединений в окружающей среде, которая при повседневном влиянии в течение длительного времени не оказывает патологических изменений в организме человека.

Природно-антропогенные объекты – природные объекты, измененные в результате хозяйственной деятельности, а также объекты, созданные человеком, обладающие свойствами природного объекта и имеющие рекреационное и защитное значение.

Природные объекты – естественные экологические системы, природные ландшафты и составляющие их элементы, сохранившие свои природные свойства.

Прямая биоиндикация – индикация, при которой фиксируемая реакция непосредственно связана с действующим фактором

Рудеральные растения – растения, произрастающие около строений, на пустырях, вдоль путей сообщения и на тому подобных вторичных (но не полевых – пашенных) местообитаниях.

Сапробность – способность водных организмов обитать в воде, содержащей различное количество органических веществ.

Синантропные организмы (синантропы) – животные, растения и микроорганизмы, в разной степени связанные с человеком.

Специфическая биоиндикация – индикация, основанная на определенной реакции только на один фактор.

Стенобионт – организм, способный обитать в условиях устойчивого постоянства какого-либо фактора среды или группы взаимодействующих факторов. Стенобионтность может быть выражена по отношению к температуре (стенотермные организмы), солёности (стеногалинные организмы), влажности, химическому составу почвы и т.д.

Стресс – неспецифическая (общая) реакция организма на воздействие, нарушающее его гомеостаз.

Стрессоры – факторы, вызывающие стресс.

Тест-объекты (тест-организмы) – подопытные биологические объекты, которые подвергаются воздействию определённых доз или концентраций ядов. Проявляющийся токсический эффект регистрируется и оценивается в эксперименте.

Токсикация – процесс воздействия токсиканта или комплекса токсикантов на организм.

Токсификация – 1. Увеличение ядовитости образующихся веществ в результате разложения (биологического или физико-химического) пестицидов. 2. Процесс воздействия токсиканта или комплекса токсикантов на экосистему.

Токсичное вещество (токсикант) - вещество, оказывающее токсическое действие на живые организмы.

Токсичность - свойство химических веществ, обуславливающее их повреждающее или летальное действие на живые организмы.

Фитоиндикация - использование различных признаков и свойств отдельных растений или растительных сообществ и их комплексов для получения качественной характеристики среды их обитания.

Чувствительный (сенситивный) биоиндикатор – индикатор, который быстро реагирует значительным отклонением показателей от нормы. Например, отклонения в поведении животных, в физиологических реакциях клеток могут быть обнаружены практически сразу после начала действия нарушающего фактора.

Экологическая потенция – потенция организма, определяемая наследственной нормой реакции.

Эустресс – форма стресса, которая характеризуется физиологическими адаптивными реакциями, которые вызываются в организме биоэнергетическими процессами в критических ситуациях, когда живому существу необходимо приспособиться к изменившимся условиям среды.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Биоиндикация загрязнения наземных экосистем / под ред. Р.Шуберта.- М.: Мир, 1988. – 348 с.

Биоиндикация и антропогенные стрессоры – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2006. - 135 с.

Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учебное пособие для вузов / под ред. О.П.Мелеховой и Е.И.Егоровой. – М.: Академия, 2007. – 288 с.

Гальцева В.В., Дмитриев В.В..Практикум по водной экологии и мониторингу состояния водных систем.– СПб, 2007.– 364 с.

Основы экогеологии, биоиндикации и биотестирования /под ред. проф. В.В. Куриленко . – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004.– 448 с.

Дмитриев В.В., Фрумин Г.Т. Экологическое нормирование и устойчивость природных систем. – СПб.: Наука, 2004. – 294 с.

Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2007.03222.– М.:, 2007.– 51 с.

Методические рекомендации по биотестированию природных, сточных вод и отдельных загрязняющих веществ. – М.: ВНИРО, 1982. – 117 с.

Методическое руководство по биотестированию воды РД 118-02-90. М.: 1991.– 48 с.

Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. СП 2.1.7.1386-03 – М.: 2003.

Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды. Приказ МПР РФ от 15.06.2001. № 511.

Федеральный закон №116-ФЗ «О промышленной безопасности опасных производственных объектов».– М.: Гос. предприятие «Научно-

технический центр по безопасности и промышленности» Ростехнадзора России, 2000. – 24 с.

Приказ Федерального агентства по рыболовству № 695 « Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» от 4.08.2009 г. – М., 2009. – 115 с.

Учебное издание

Ляшенко Оксана Александровна

**Биоиндикация и биотестирование в охране
окружающей среды**

Учебное пособие

Редактор и корректор Н.П.Новикова

Техн. редактор Л.Я. Титова

Темплан 2012, поз.110

Подп. к печати 25.12.12. Формат 60х84/16. Бумага тип №1. Печать
офсетная.Объем 4,25 печ.л., 4,25 уч.-изд. л. Тираж 100 экз.

Изд. № 110. Цена «С». Заказ №

Ризограф Санкт-Петербургского государственного
технологического университета растительных полимеров,
198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 4.