

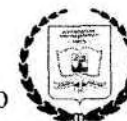
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Алтайский государственный университет

**Г.Н. Мисейко,
Д.М. Безматерных, Г.И. Тушкова**

Биологический анализ качества пресных вод

Монография



Издательство Алтайского
университета

Барнаул 2001

УДК 574.577.472.28
ББК 28.082.41
М65

Рецензенты:

Ю.Б. Кирста, доктор биологических наук,
В.П. Соловов, кандидат биологических наук

М65 Мисейко Г.Н., Безматерных Д.М., Тушкова Г.И. Биологический анализ качества пресных вод / Под ред. Г.Н. Мисейко. Барнаул: Изд-во АГУ, 2001. 201 с.

В монографии изложены основные современные методы биологического анализа качества пресных вод (биоиндикация и биотестирование) имеющие широкое применение в практике гидробиологического мониторинга. В книге освещена современная научная литература по этому вопросу. Изложенные методы проиллюстрированы конкретными примерами их применения, в том числе оригинальными данными авторов.

Монография предназначена для биологов, экологов, гидробиологов, ихтиологов, специалистов по охране окружающей среды, преподавателей и студентов вузов; может быть использована в качестве учебного пособия по специальностям «гидробиология» и «экология».

Miseiko G.N., Bezmaternyh D.M., Tushkova G.I. Biological analysis of the fresh water quality / Ed. G.N.Miseiko. Barnaul: ASU press., 2001. 201 p.

The basic modern methods of the biological analysis of the fresh water quality (bioindication and biotesting) are described in this monograph. These methods are widely used in the hydrobiological monitoring practice. The described methods are illustrated by the concrete examples of their use including the original data of the authors.

The monograph is meant for biologist, ecologist, hydrobiologist, ichthyologist, environmentalist, university teachers and students, can be used as the text-book for the specialties of «hydrobiology» and «ecology».

Фото на обложке: М.М. Силантьевой, О.Н. Жихаревой,
А.А. Скачко, Е.В. Репетуновой, Н.П. Варнавской

ISBN 5-7904-0181-3

© Г.Н.Мисейко, Д.М.Безматерных, Г.И.Тушкова, 2001
© Алтайский государственный университет, 2001

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
Введение	6
Глава 1. К ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА ВОД	12
ГЛАВА 2. ЗАГРЯЗНЕНИЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ	22
2.1. Приоритетные загрязняющие вещества	25
2.2. Классификация загрязнений	33
2.3. Действие ядов на организм гидробионтов	34
Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ЭКОСИСТЕМНОМ УРОВНЕ	45
3.1. Биоиндикация по показательным организмам	45
3.1.1. Система сапробности Кольквитца и Марссона и ее модификации	45
3.1.2. Методы определения уровня сапробности	47
3.1.3. Система Вудивисса и ее модификации	49
3.2. Биоиндикация по трофической структуре сообществ	53
3.3. Биоиндикация по крупным таксонам	53
3.4. Биоиндикация по функциональным показателям сообществ	54
3.5. Биоиндикация по биологическому разнообразию	56
Глава 4. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ОРГАНИЗМЕННОМ И ПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЯХ	59
4.1. Тест-объекты	63
4.2. Критерии оценки токсичности и тест-функции	78
4.3. Методы биотестирования	88
4.4. Примеры практического применения методов биотестирования	108
Глава 5. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЯХ	116
5.1. Биологический анализ на молекулярном уровне	116
5.2. Биологический анализ на цитогенетическом уровне	120
5.2.1. Определение генотоксичности	122
5.2.2. Популяционно-генетический мониторинг	131
Глава 6. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД	137
Заключение	149
Литература	151
Приложения	183

CONTENTS

Preface	5
INTRODUCTION	6
CHAPTER 1. HISTORY OF THE DEVELOPMENT OF THE BIOLOGICAL METHODS OF THE WATERS“ QUALITY ANALYSIS	12
CHAPTER 2. POLLUTION OF THE WATER OBJECTS	22
2.1. Priority pollutants	25
2.2. Classification of the pollution's	33
2.3. Poisons ⁺ effect on the organism of the hydrobionts	34
CHAPTER 3. BIOLOGICAL ANALYSIS ON THE ECOSYSTEM LEVEL	45
3.1. Bioindication by the species-indicators	45
3.1.1. Saprobity system of Kolkwitz and Marsson and its modifications	45
3.1.2. Determination methods of the saprobity level	47
3.1.3. System of Woodiwiss and its modifications	49
3.2. Bioindication by the trophic structure of ecosystems	53
3.3. Bioindication by the large taxons	53
3.4. Bioindication by the functional characteristics of the ecosystem	54
3.5. Bioindication by the biodiversity	56
CHAPTER 4. BIOLOGICAL ANALYSIS ON THE ORGANISM AND POPULATION LEVELS	59
4.1. Test-objects	63
4.2. Estimation criteria of the toxicity and test-functions	78
4.3. Methods of the boitesting	88
4.4. Examples of the practical use of the biotesting methods	108
CHAPTER 5. BIOLOGICAL ANALYSIS ON THE MOLECULAR AND CYTOGENETIC LEVELS	116
5.1. Biological analysis on the molecular level	116
5.2. Biological analysis on the cytogenetic level	120
5.2.1. Determination of the genotoxicity	122
5.2.2. Population-genetic monitoring	131
CHAPTER 6. BIOLOGICAL ANALYSIS OF THE QUALITY OF THE SEWAGE DISPOSAL	137
CONCLUSION	149
BIBLIOGRAPHY	151
APPENDIX	183

ПРЕДИСЛОВИЕ

В комплексном экологическом мониторинге гидробиологический мониторинг водных объектов является важной составляющей. В основе гидробиологического мониторинга лежат исследования по биоиндикации и биотестированию с целью наблюдений, оценки и прогноза состояния водных экосистем в условиях все усиливающегося антропогенного пресса.

Теоретической основой структуры этой книги послужила концепция разных уровней организации жизни. Данный подход позволяет оценивать реакции биологических систем различного уровня на одни и те же неблагоприятные воздействия загрязнения водной среды. В книге изложены основные методы биологического анализа качества вод с учетом современных научных достижений в этой области.

Предисловие, введение, заключение, главы 1, 2, 6 и разделы 3.2; 3.3; 3,4; 5.1 написаны Г.Н. Мисейко; разделы 3.1; 3.5; 5.2.2. – Г.Н. Мисейко и Д.М. Безматерных; разделы 4.1–4.3 – Г.Н. Мисейко и Г.И. Тушковой; раздел 4.4 – Г.И. Тушковой; списки видов-индикаторов сапробности в Приложениях составлены Д.М. Безматерных. Общее редактирование книги проведено Г.Н. Мисейко.

В основу монографии легли материалы курсов «Общая гидробиология» и «Биологический анализ качества вод», читаемых Г.Н. Мисейко в течение многих лет для биологов и экологов на биологическом факультете Алтайского государственного университета.

Монография предназначена для биологов, экологов, гидробиологов, специалистов по охране окружающей среды, преподавателей и студентов вузов.

Авторы выражают искреннюю благодарность кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику В.В. Кириллову, кандидату физико-математических наук, доценту Б.П. Тушкову, О.В. Эйдукайтене, кандидату биологических наук, зав. кафедрой зоологии АГУ Ю.С. Коренкевич, оказавшим неоценимую помощь в написании книги. Особая благодарность – рецензентам за конструктивную критику.

Все критические замечания авторы готовы принять по адресу: 656099, Барнаул, пр. Ленина, 61, Алтайский государственный университет, кафедра зоологии, Г.Н. Мисейко.

Авторы

ВВЕДЕНИЕ

Все возрастающее воздействие хозяйственной деятельности человека на окружающую природную среду, в том числе биогидросферу – важнейшая проблема современности. В настоящее время можно говорить о наступающем экологическом кризисе, последствия которого грозят гибелью всего живого на планете.

Состояние пресных вод – важный аспект для человека. Непосредственные физиологические потребности человека в пресной воде составляет 2,5 л в сутки. Без пищи мы можем прожить 50 дней, без воды – только 5. Критической является потеря 10% воды от веса человеческого организма. Чрезвычайно высоки расходы воды на промышленные нужды. Для выплавки железа и получения 1 т стального проката необходимо 300 м³ воды, 1 т меди – 500 м³, 1 т никеля – 4000 м³. В сельском хозяйстве на производство 1 кг растительной массы расходуется на транспирацию 150–1000 м³ воды. В целом в мире 71% потребляемой воды расходуется сельским хозяйством, 23 – промышленностью и 6% – на коммунально-бытовые нужды. Недостаток воды уже испытывает 1/3 населения планеты, каждые 8–10 лет потребности в воде возрастают вдвое. Город с населением в 1 млн человек расходует в сутки 0,5 млн куб. м (Лузгин, 1995).

Основные источники загрязнения водных объектов – сточные воды промышленных и коммунальных хозяйств, отходы производств, воды шахт, рудников, нефтепромыслов, отходы древесины при заготовке и сплаве леса, выбросы транспорта, сельскохозяйственная деятельность и обработка технических культур, атмосферные поступления различных загрязнителей.

В результате эксплуатации водных объектов и промышленной деятельности за их пределами возникает особая форма экзогенной сукцессии водоемов и водотоков – антропогенная. Наиболее распространенные ее формы: эвтрофикация, термофикация и токсификация (Константинов, 1981).

ГОСТ 17.1.01.77 определяет эвтрофикацию (эвтрофирование) как повышение биологической продуктивности водных объектов в результате накопления в воде биогенных элементов под действием антропогенных или естественных факторов. Международная организация по стандартизации дает несколько иное определение. Эвтрофикация – это обогащение воды биогенными веществами, особенно азотом и фосфором, что ускоряет рост водорослей и высших форм растительной жизни (Экологический энциклопедический словарь, 1999). В определении ГОСТа на первое место ставится та-

кое условие, как увеличение биологической продуктивности, а в определении Международной организации по стандартизации – обогащение воды биогенными веществами и, как следствие, – увеличение первичной продукции. Следует отметить, что увеличение первичной продукции может наблюдаться и при термофикации. Следовательно, определение Международной организации по стандартизации более точное. Сходное определение эвтрофикации также дают А.С. Константинов (1986) и В.А. Вронский (1996).

До определенных пределов эвтрофирование (от греч. *aetrophia* – хорошее питание) с точки зрения биологического продуцирования водоемов – явление полезное. Гиперэвтрофирование связано с целым рядом отрицательных последствий как для водного объекта, так и для человека («цветение» воды континентальных водоемов, токсические «красные» приливы в морях и океанах, биологические помехи – «обрастание» днищ кораблей и водных объектов, ухудшение кислородного режима водоемов).

Под *термофикацией* понимается поступление в природные водоемы и водотоки подогретых вод, в результате чего изменяется их температурный режим (Константинов, 1986). Повышение температуры вызывает ускорение круговорота веществ в экосистеме, увеличение (при наличии биогенов) скорости первичного продуцирования, что ведет к убыстрению процесса эвтрофикации. Нарушение естественного температурного режима водных объектов ведет к изменению структуры и функций водных экосистем. Особенно велико влияние термофикации на растительные сообщества (в несколько раз увеличивается продукция нитчатых водорослей и макрофитов). Отрицательные последствия термофикации можно нейтрализовать, используя водоемы-охладители для аквакультуры (разведения растительноядных рыб, в частности, белого амура и белого толстолоба).

Наиболее резко антропогенная сукцессия водных экосистем идет при поступлении в них различных загрязняющих веществ. Загрязнение растворенными органическими веществами принято называть *сапробностью* (Реймерс, Яблоков, 1982). Загрязнение органическими веществами может быть естественным (в результате осеннего распада органических веществ водных растений) или вследствие поступления их с различными стоками. На принципе различного отношения к уровню сапробности разных видов построены многие биологические системы оценки качества природных вод (индексы сапробности). Исследования такого рода являются традиционными в гидробиологии.

Степень загрязнения водного объекта (или его части) токсическими (ядовитыми) веществами разного рода называют *токсификацией* (Константинов, 1981) или *токсобностью* (Реймерс, Яблоков, 1982). Она не всегда может быть оценена с помощью индексов сапробности, хотя органическое и токсическое загрязнения часто встречаются одновременно. Влияние действия токсических веществ на организмы изучает наука токсикология (Реймерс, Яблоков, 1982).

В последнее время успешно развивается ее новое научное направление — *экологическая токсикология*. Как термин она введена еще в 1969 г., когда при Международном научном комитете по проблемам окружающей среды (СКОПЕ) была организована Рабочая комиссия по экологической токсикологии. В 1974 г. на Международном конгрессе в Париже экологическая токсикология была утверждена как новое научное направление токсикологии. В 1978 г. на конференции СКОПЕ было принято определение экотоксикологии как международного научного направления по изучению токсических эффектов действия химических веществ на «живые организмы, преимущественно на популяции организмов и биоценозы, входящие в состав экосистем. Она изучает источник поступления вредных веществ в окружающую среду, их распространение в окружающей среде, действие на живые организмы. Человек, несомненно, является наивысшей ступенью в ряду биологических мишеней» (Безель, Большаков, 1995). За короткий срок экотоксикология, используя целый комплекс новых методов и подходов, сделала очень много в познании процессов влияния токсикантов на живые организмы.

В гидробиологию экотоксикология вошла как один из ее разделов — водная экотоксикология. При решении задач в токсикологии существует несколько подходов. Первый — *аутотоксикологический*, или организменный, второй — *синэкологический* (Флеров, 1989). В настоящее время в дополнении к ним успешно развиваются *молекулярно-генетический* и *клеточно-тканевой подходы*.

На организменном уровне токсичность выявляется наиболее четко. Ее влияние выражается в разнообразных биохимических, физиологических, поведенческих и других изменениях организмов. Исследования такого рода традиционны в гидробиологии, с них начиналась и водная токсикология. Они явились основой для установления медицинских, рыбохозяйственных и других ПДК (предельно допустимая концентрация вещества в воде, выше которой вода не пригодна для одного или нескольких видов водопользования) (Зенин, Белоусова, 1988).

Синэкологический подход предполагает изучение процессов влияния токсикантов на надорганизменном уровне (виды, популяции, экосистемы). основоположниками этого направления явились М.М. Камшилов (1973, 1977, 1979), Л.П. Брагинский (1975, 1977, 1981). Считается, что именно биологические системы надорганизменного уровня являются основным предметом экологической токсикологии. Токсические эффекты молекулярно-генетического, клеточно-тканевого и онтогенетического уровней рассматриваются в качестве первичных токсических эффектов, имеющих следствием нарушение популяционных и экосистемных механизмов (Брагинский, 1977; Зилов, Стом, 1990).

Уязвимость переноса выводов экспериментов с ограниченным числом компонентов биоты на реальную ситуацию в водоемах убедительно доказана О.М. Кожовой (1986). Многочисленны и другие аналогичные данные. Так, нетоксичные для отдельных гидробионтов концентрации нефти вызывали значительную перестройку экосистемы в силу изменения в ней различных связей: интенсивно размножающиеся бактерии конкурировали с фитопланктоном за биогенные элементы, что вело к падению содержания кислорода в воде (Werner et al., 1985; цит. по Зилову, Стому, 1990). Примеры более высокой устойчивости природных экосистем к токсикантам, чем ее компонентов, приводятся Л.П. Брагинским (1972) для пестицида атразина; для модельной экосистемы сточных вод йодобромного предприятия — В.И. Белецким (1982).

И наоборот, при изучении влияния хлорфенолов на экосистему морского планктона выяснилось, что концентрация его для экосистемы на порядок ниже токсически действующей на ее компоненты (Kuiper, Hansweit, 1984; цит. по Зилову, Стому, 1990).

Оценка качества воды водного объекта может быть дана с помощью физических, химических и биологических методов.

Физический и химический методы хорошо разработаны. Биологические процессы в водном объекте в значительной степени зависят от физического и химического состояния воды (прозрачность, степень подвижности воды, температура, рН, электропроводность, редокс-потенциал, содержание кислорода, солевой состав и другие особенности) (Алекин, 1970; Лурье, 1973; Строганов, Бузинова, 1980). Эти методы точные, но определяют качество воды только в момент взятия пробы, а не состояние самих экосистем.

В *биологическом* контроле качества вод в особую группу выделяют *микробиологические* методы, выделившиеся в самостоятельные относительно недавно — в начале XX в. В настоящее время они

широко применяются для анализа качества как поверхностных, так и морских вод. Микробиологические методы основаны на уникальной биохимической организации микробной клетки и способности получать углерод и энергию при окислении органических молекул загрязняющих веществ (Романенко, Кузнецов, 1974). Важное санитарно-эпидемиологическое значение имеет нахождение в воде патогенных микроорганизмов, в том числе вирусов (Цыбань, 1971).

По численности бактерий с учетом ряда факторов можно оценить трофический тип водного объекта: в олиготрофных их численность 0,1–0,5; мезотрофных – 0,5–2,0; эвтрофных – 2–10 млн клеток в 1 мл (Романенко, 1978).

Количественный микробиологический анализ широко применяется при оценке качества питьевой водопроводной воды.

Основная особенность микробиологического анализа – возможность характеризовать качество воды непосредственно в момент взятия пробы. Дает хорошие результаты при органическом и токсикологическом загрязнении, незаменим при индикации фекального загрязнения. Метод характеризует не водоем в целом, а воду небольшого анализируемого объема. Он достаточно сложен: необходимо специальное оборудование, стерилизация, посев и инкубация микроорганизмов, результаты отсрочены.

Под биологическим методом в узком смысле слова понимают *гидробиологический* метод оценки качества воды по состоянию животного и растительного населения водного объекта. До 1972 г. контроль за качеством поверхностных вод в нашей стране велся по физическим и химическим показателям, с 1972 г. гидробиологический мониторинг стал осуществлять Госкомитет по гидрометеорологии и контролю природной среды. Принятые в нашей стране гидробиологические показатели анализа качества вод соответствуют мировым стандартам. Гидробиологический мониторинг включает два метода работ: маршрутные биосъемки и стационарные наблюдения и два варианта программ: полный – с круглогодичными наблюдениями по наибольшему набору биогических показателей и сокращенные (СП-1 и СП-2) – по наиболее характерным показателям (Абакумов, Бубнова, 1973).

В полную программу входят наблюдения по фитопланктону, зоопланктону, перифитону, зообентосу, бактериопланктону и макрофитам.

Программа СП-1 предусматривает наблюдения по фитопланктону, зоопланктону и перифитону; СП-2 – только по зообентосу.

Биологический мониторинг идет по двум направлениям:

1) структурный (численность, видовое обилие и разнообразие, число видов и их эквивалентность, трофическая структура: соотношение цепей выедания и разложения, детритных и пастбищных, пищевое разнообразие; видовая, половая, возрастная и хорологическая структуры); 2) функциональный.

Биологический метод в отличие от всех других позволяет решать задачи определения качества водного объекта по состоянию его экосистемы и не только в момент взятия проб, но и в период, предшествующий анализу. Разные организмы являют собой разные по чувствительности живые сенсоры. Поэтому в зависимости от целей исследования могут использоваться разные группы гидробионтов.

В заключение следует отметить, что каждый из описанных методов: физико-химический, биологический (микробиологический, гидробиологический) имеет свои преимущества и недостатки. Наиболее объективной является комплексная оценка качества вод, включающая как гидрологические, гидрохимические, так и биологические методы (биоиндикацию и биотестирование).

В этой связи актуальным становится вопрос определения и оценки качества воды. *Критерии качества* воды могут быть разнообразны. Критерий качества воды *гигиенический* – это критерий, учитывающий токсикологическую, эпидемиологическую и радиоактивную безопасность воды и наличие благоприятных свойств для здоровья живущего и последующих поколений. Критерий качества воды *рыбохозяйственный* – учитывает «пригодность ее для обитания и развития промысловых рыб и промысловых водных организмов». *Экономический* критерий качества учитывает «рентабельность использования воды водного объекта». Критерий качества воды *экологический* учитывает «условия нормального во времени функционирования водной экологической системы» (Зенин, Белоусова, 1988). С экологических позиций решающим для оценки состояния мер охраны является экологический критерий (Оксиюк и др., 1993).

Глава 1. К ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА ВОД

К середине XIX в. вследствие роста населения Земли и ускорения процесса урбанизации проблема загрязнения природных вод значительно обострилась, и встал вопрос о контроле за их качеством.

Основоположителем гидробиологического метода оценки качества вод можно считать Н.Н. Хессела (Hassal, 1850). Он опубликовал монографию об оценке качества вод по организмам фито- и зоопланктона. В 1853 г. вышла работа Кона о зависимости видового состава гидробионтов от растворенных в воде органических веществ. С. Мец предложил первые списки гидробионтов, характерных для определенных уровней загрязнения вод (Mez, 1898).

Система показательных организмов была создана ботаником Кольквитцем и зоологом Марссоном (Kolkwitz, Marsson, 1908, 1909, 1911). Они впервые ввели название *сапробионты* (от греч. *sapros* — гнилой) для обитателей сточных вод) и *катаробионты* (от греч. *katharos* — чистый) для населения чистых вод. Они разделили сапробионтов на 3 группы:

- 1) *полисапробионты* — организмы сточных вод;
- 2) *мезосапробионты* — организмы сильно загрязненных вод;
- 3) *олигосапробионты* — организмы слабо загрязненных вод.

Для каждой группы вод они дали списки показательных, т.е. индикаторных, растительных и животных организмов.

Биоиндикаторы (от греч. *bios* и лат. *indico* — указываю, определяю) — организмы или сообщества организмов, присутствие, количество или особенности развития которых служат показателями естественных процессов, условий или антропогенных изменений среды обитания.

Совершенствование системы Кольквитца-Марссона шло как за счет расширения и уточнения показателей загрязнения, так и за счет введения в них количественных оценок.

В.К. Сладечек (1961а, б) внутри полисапробной зоны предложил различать три: изосапробную (преобладают цилиаты над флагеллятами), метасапробную (преобладают флагелляты над цилиатами) и гиперсапробную (отсутствие простейших при развитии бактерий и грибов). В.К. Сладечек (1967) впервые установил соответствие между сапробностью и численностью бактерий группы

кишечной палочки: более 10, 50, 100, 1000 и 20000 экз./мл соответственно для катаробных, олигосапробных, а-б-мезосапробных и полисапробных вод.

Над уточнением списков индикаторов работали и отечественные ученые (Долгов, 1926; Долгов, Никитинский, 1927; Жадин, 1964; Жадин и Родина, 1950; Строганов, 1972).

Общепринятые списки индикаторов для европейских вод приведены в Унифицированных методах исследования качества вод (1977), где они даны в модификации В.К. Сладечка (1973).

Пантле и Букк впервые пытаются оценить степень загрязнения количественно и вводят индекс сапробности (S), придав индикаторную значимость (s) показательным организмам разных зон загрязнения (Pantle, Buck, 1955). Чем больше индекс, тем выше загрязнение: для полисапробной зоны он равен 4,0–3,5; в аа-мезосапробной — 3,5–2,5; в bb-мезосапробной — 2,5–1,5; в олигосапробной — 1,5–1,0. Метод Пантле и Букка широко применяется в Европе и нашей стране.

Зелинка и Марван еще больше дифференцировали индикаторную значимость организмов по 10-балльной системе (у Пантле и Букка — 4-балльная), которая в настоящее время применяется редко (Zelinka, Marvan, 1961).

В.К. Сладечек впервые установил соответствие между индексом сапробности по Пантле и Букку и БПК₅ (биохимическое потребление кислорода за 5 суток). Само БПК тоже стало широко использоваться для характеристики зон сапробности.

Дифференцированная оценка степени загрязнения по видовому разнообразию и показательному значению таксонов предложена Вудивиссом (Woodiwiss, 1964). Разработана она инспекцией р. Трент в Англии, предназначена в основном для оценки загрязнения бытовыми стоками. Базируется система на качественном учете организмов макрозообентоса с учетом принципа их оксифильности. Система широко используется, общепринята и считается классической.

Представляет интерес опыт Агентства по охране окружающей среды США (Environmental Protection Agency — EPA), которое в 1977 г. разработало систему Био-Сторет — для регулярного слежения за состоянием пресноводных и морских экосистем с использованием разносторонней экологической и токсикологической информации, концентрируемой и обрабатываемой с помощью мощной вычислительной техники (Брагинский, 1978).

В основу системы Био-Сторет положены характеристики трех

элементов водных экосистем: показатели продуктивности, структура сообществ и метаболизм сообществ в связи с наличием «патогенных» факторов (токсических веществ, особенно пестицидов и тяжелых металлов). Она предусматривает систематическое накопление и обработку информации о состоянии фито- и зоопланктона, перифитона, макрофитов, крупных беспозвоночных и рыб. Не учитываются, к сожалению, показатели бактериопланктона, микро- (фито- и зоо-) бентоса, а зоопланктон оценивается не по биомассе, а по объему, что вряд ли целесообразно (Nacht, Weber, 1976; цит. по Брагинскому, 1978).

Полезным представляется использование физиолого-биохимических показателей гидробионтов, которым при оценке качества вод до настоящего времени уделяют недостаточное внимание.

Существенное значение в системе придается токсикологическим исследованиям и тестам на токсичность. Предлагаемые тесты подразделяются на: 1) тесты *in situ*, т.е. проводимые на водных объектах; 2) осуществляемые на производстве (со сточными водами); 3) лабораторные.

Токсикологические исследования каждой группы включают изучение уровня биоаккумуляции пестицидов и тяжелых металлов (ТМ), определение острой и хронической токсичности исследуемых вод, постановку тестов для выявления стимулирующего действия токсикантов (на растительные тест-объекты). Наибольшее число тестов предусмотрено для рыб. Для фитопланктона тестами являются: биоаккумуляция пестицидов и ТМ, оценка острой и хронической токсичности веществ в лабораторных опытах и только острой — в экспериментах со сточными водами, выявление стимулирующего действия токсикантов в опытах лабораторных и со сточными водами. Для зоопланктона ставятся тесты на острую и хроническую токсичность в лабораторных условиях, токсичность сточных вод оценивается только в острых опытах, определяются пестициды и ТМ. Для перифитона и макрофитов определяют уровень накопления пестицидов и ТМ, стимулирующее действие токсикантов, а также гистохимию.

Наиболее полно исследуются крупные беспозвоночные и рыбы — во всех трех вариантах биотестирования. Определяются: качество мяса животных, реакции на воздействие малых концентраций токсикантов, в частности, поведенческие, патогистология всех органов и тканей.

С 1973 г. в США введены в системе EPA стандартные методы исследования природных и сточных вод (Weber, 1973). Для оформ-

ления результатов исследований разработаны стандартные формы — бланки анализов. Обобщающие карты представляют собой документацию, готовую к обработке на ЭВМ. Каждая станция отбора проб имеет свой номер, при установлении новой станции ей присваивается новый номер.

Био-Сторет создана как часть единой системы слежения за качеством континентальных и морских вод, в которой циркулирует не только гидробиологическая, но еще гидрохимическая и иная информация. В центре обработки информации (г. Цинциннати) сосредоточены 300 ЭВМ, выполняющих всю работу по систематизации, упорядочению, корректировке обработки и выдачи информации, которая навечно записывается в памяти ЭВМ.

В нашей стране биологический контроль качества вод имеет давние традиции. В 1869 г. в Казани при обществе естествоиспытателей по предложению его президента Н.П. Вагнера была организована специальная комиссия по санитарно-биологическому исследованию воды озер Черного и Кабан (Казань), последнее использовалось для питьевых целей. О значении биологического анализа качества вод говорил в своем труде «Способы некоторых санитарных исследований» профессор Казанского университета А.Я. Щербakov (1877).

На съезде естествоиспытателей и врачей в 1909 г. в Москве была принята резолюция о необходимости санитарно-биологического исследования рек. В этот период Москва становится центром гидробиологических исследований качества вод. Здесь развернулась работа трех лабораторий, применявших гидробиологические методы анализа. Под руководством Я.Я. Никитинского в 1911 г. была основана биологическая лаборатория от Временного комитета по изысканию мер и охране водоемов Московского промышленного района от промышленного загрязнения сточными водами и отбросами фабрик и заводов. Рублевская лаборатория Москворецкого водопровода осуществляла надзор в бассейне р. Москвы выше д. Рублево. Биологическая станция на полях орошения Московского горуправления проводила биологический анализ вод на реках Оке и Волге.

Рефераты отечественной и зарубежной литературы по биологическому анализу регулярно печатались в «Журнале микробиологии», выходившем в Санкт-Петербурге под редакцией Г.А. Надсона с 1914 г.

Большой вклад в развитие и практическое применение биологических методов анализа качества вод внес Я.Я. Никитинский. Им были проведены первые гидробиологические обследования р. Мос-

квы (1907, 1910 гг.). Установлено ее благополучное состояние выше города и неудовлетворительное — в его пределах. В районе наибольшего загрязнения у Симонова монастыря отмечено богатое развитие *Sphaerotilus* по берегам, на дне и всех подводных предметах. Гниющий донный ил был покрыт пленкой из *Beggiatoa* и полисапробных инфузорий.

В 1911–1912 гг. на р. Москве работал С.Н. Строганов. Первые исследования качества вод р. Дон в 1910 г. провел А.К. Кнаут, в 1911 г. они более квалифицированно и тщательно были проведены Никитинским. Большую ценность представляет данный им список показательных организмов, состоявший из олигосапробов и бб-мезосапробов. Эти данные были использованы при изучении качества вод под влиянием антропогенных факторов.

Замечательным примером всестороннего гидробиологического мониторинга и методического руководства в этом плане были и работы Я.Я. Никитинского по исследованию рек Тезы и Сехи в районе г. Шуи в 1911 г.

В 1911–1912 гг. Петербургской исполнительной комиссией по сооружению канализации и переустройству водоснабжения для выяснения вопроса о месте спуска сточных вод будущей канализации города С.М. Вислоухом были проведены работы по обследованию Невской губы. П.Е. Бачинский провел гидробиологический анализ качества вод р. Карповки в пределах Петербурга. Они выяснили, что вплоть до впадения в Малую Невку река представляла собой очищенные сточные воды аа-мезосапробного и полисапробного типа.

Система Кольквитца-Марссона получила широкое распространение и в России для оценки санитарного состояния водоемов и водотоков. В нашей стране возникла своя школа санитарных гидробиологов (Я.Я. Никитинский, Г.И. Долгов, Н.С. Строганов, А.С. Вислоух, А.С. Разумов и многие другие), успешно применявших и развивавших систему санитарно-биологического анализа. В.И. Долгов (1926) и Я.Я. Никитинский (1927), В.И. Жадин и А.Г. Родина (1950) и другие отечественные ученые вносили в списки показательных организмов изменения и дополнения применительно к водоемам и водотокам СССР (Цимдинь, 1979; Финогенова, 1976; Балушкина, 1976; Финогенова, Алимов, 1976; Тодераш, 1984; Извекова, 1996; и др.).

А.С. Скориков (1909а, б, 1911), работавший на Ладожском озере, предложил оригинальную классификацию ви-

дов-индикаторов по типам питания. Он дает следующие группы показательных организмов:

1. катаробионты — не выдерживают примеси в воде способных к гниению органических веществ, типичны для планктона озер;
2. альгобионты — типичны для прибрежных зарослей и планктона прудов, могут жить при наличии некоторого количества разлагающихся органических веществ, но не нуждаются в них;
3. сапробионты — используют мертвое органическое вещество;
 - а) олигосапробионты — обитают на дне водоемов и водотоков, незагрязненных или слабозагрязненных (это показатели большей степени загрязненности, чем олигосапробы Кольквитца-Марссона);
 - б) мезосапробионты — обитатели загрязненных вод.

По А.С. Скорикову, население чистых озер состоит из катаробионтов (планктона), альгобионтов (обитателей прибрежных зарослей) и олигосапробионтов (жителей дна). По его мнению, увеличение количества олигосапробионтов и альгобионтов за счет катаробионтов говорит о загрязнении водного объекта.

Система А.С. Скорикова с успехом была использована для оценки качества питьевых вод и незагрязненных озер, когда в 1904 г. Санкт-Петербург был переведен на водоснабжение из Ладожского озера, так как в это время продолжалось катастрофическое загрязнение р. Невы, в связи с чем тиф был распространенным желудочно-кишечным заболеванием.

Позднее было разработано множество гидробиологических показателей качества вод и состояния водных экологических систем, в том числе количественных (В.А. Абакумов, Г.Г. Винберг, Н.А. Дзюбан, Л.А. Серенко и многие другие). Одновременно разрабатывалась и оценка качества вод природных водоемов и водотоков по токсикологическим показателям (Л.П. Брагинский, Ф.Я. Комаровский).

Первая в нашей стране классификация комплексной оценки качества вод была разработана в Институте гидробиологии АН СССР (Жукинский и др., 1981). В настоящее время эта классификация доработана и стала первой *комплексной экологической классификацией качества поверхностных вод суши* (ПВС) (приложение 1).

Классификация включает 4 частных классификации: А — по солевому составу; Б — по эколого-санитарным (трофо-сапробиологическим) показателям; В — по эколого-токсикологическим показателям (по содержанию *токсикаторов*); Г — по радиологическим показателям (по содержанию радионуклидов).

Классификация по *солевому составу* в части степени минерализации соответствует экологическим принципам «венцианской системы», по ионному составу — системе О.О. Алекина (1970).

Эколого-санитарная классификация включает трофо-сапробиологические показатели, отражающие абиотические и биотические параметры водных экосистем: гидрохимические, гидробиологические, бактериологические и некоторые гидрофизические (взвешенные вещества, прозрачность, цветность). Гидробиологические показатели характеризуют биомассу фитопланктона, хлорофилл «а», валовую первичную продукцию, отношение валовой продукции к деструкции. Биоиндикация сапробности предполагает определение индекса и зоны сапробности по 5 классам (ксеносапробная, олигосапробная, β a-мезосапробная, β b-мезосапробная и полисапробная) и 9 разрядам.

Эколого-санитарная классификация ПВС включает 5 классов качества воды: (1 — предельно чистая; 2 — чистая; 3 — удовлетворительной чистоты; 4 — загрязненная; 5 — грязная) и 9 разрядов (1 — предельно чистая, 2a — очень чистая, 2b — вполне чистая, 3a — достаточно чистая, 3b — слабо загрязненная, 4a — умеренно загрязненная, 4b — сильно загрязненная, 5a — весьма грязная, 5b — предельно грязная).

Классификация ПВС по эколого-токсикологическим показателям состоит из двух разделов: 1) по содержанию токсических веществ, 2) по уровню токсичности (на основании результатов биотестирования).

Классификация по содержанию токсических веществ позволяет оценить *уровень (класс) токсического загрязнения (УТЗ)* водных масс и дает представление о потенциальной токсичности. Она построена на экологическом принципе, а именно: на основании градаций величин содержания токсикантов по отношению к фоновым значениям, обычно наблюдающимся в природных водах. В данной классификации фоновым соответствуют показатели величин I класса (незагрязненных) вод, а предельно загрязненным — VI класса (максимально зарегистрированным в загрязненных водных объектах).

Установление УТЗ по содержанию токсических веществ дает возможность оценить только потенциальную токсичность воды. Фактическая токсичность зависит от многих факторов, ослабляющих или усиливающих токсическое действие загрязняющих веществ (совокупное действие, температура, состояние популяций гидробионтов и т.д.). Например, токсическое действие ТМ зависит от того, в какой форме (растворенной, взвешенной, закомплексованной)

они находятся в воде; наиболее токсичны свободные (гидратированные) ионы. Связывание ТМ в комплексы с природными органическими лигандами приводит к ослаблению или полному исчезновению токсичности. В водных объектах с мутной водой значительная часть металлов находится во взвешенной форме, представляющей меньшую опасность, чем растворенная форма.

Отношение воды к тому или иному классу (уровню) токсической загрязненности определяется принципом критериальной независимости: если при наличии нескольких токсикантов хотя бы один из них относится к более высокому уровню загрязненности, чем все остальные, то качество воды следует характеризовать по этому наилучшему показателю.

Классификацию по уровню токсичности (на основании результатов биотестирования) при итоговой оценке качества воды следует рассматривать как приоритетную. Токсичность воды, устанавливаемая методом биотестирования — это интегральный показатель, отражающий совокупное действие многих химических компонентов загрязнения.

Методическое руководство по биотестированию вод РД 118-02-90 рекомендует в качестве стандартных тест-объектов *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis*, прошедших апробацию в мировой практике и аттестацию Государственной временной научно-технической комиссии по отбору и апробации биотестов.

В хронических опытах по биотестированию основным критерием является смертность (или обратная величина — выживаемость) тест-объекта в процентах к контролю, принимаемому за 100%. Это абсолютный критерий, сопоставимый в масштабе всей гидросферы.

Острые опыты оперативно отвечают на вопросы: представляет ли тестируемая вода непосредственную опасность для жизни, какова степень биологического риска при использовании воды?

Об отсутствии токсичности воды можно судить только при отрицательном эффекте как в острых, так и хронических опытах. Обнаружение острой токсичности сразу же выводит воду из категории природных в категорию сточных или разведенных сточных, поскольку правилами охраны поверхностных вод (1991) острая токсичность для природных вод не допускается. Таким образом, в отношении природных вод допустимы только два класса токсичности: нетоксичная и слабо (хронически) токсичная. Аварийные выбросы и другие чрезвычайные ситуации вызывают так называемую импульсную токсичность, периодическую или эпизодическую.

Классификация ПВС по уровню радиоактивного загрязнения (УРЗ) основывается на оценке содержания в воде радионуклидов. В формировании УРЗ наиболее значительную роль играют следующие радионуклиды: 1) вездесущие, накопившиеся в биосфере вследствие испытаний ядерного оружия и образующиеся при эксплуатации АЭС – стронций-90 и цезий-137; 2) поступающие в водные объекты с продуктами коррозии технологических схем ядерных реакторов – хром-51, марганец-54, железо-59, кобальт-58–60, цинк-65; 3) появляющиеся при аварийных выбросах осколки деления урана – стронций-89, ниобий-95, рутений-103–106, сурьма-125, йод-131, цезий-134, церий-141–144.

Принятыми в настоящее время нормативами содержания радионуклидов в воде являются: 1) допустимые концентрации (ДК_в); 2) рабочие пределы; 3) рекомендуемые пределы концентраций. По сравнению с допустимыми концентрациями рабочие и рекомендуемые концентрации более жесткие и приемлемы для использования при оценке экологической ситуации (Нормы радиационной безопасности, 1988).

С 1993 г. в России действует Единая Государственная Система Экологического Мониторинга (ЕГСЭМ), общее руководство ее деятельностью возложено на Министерство природных ресурсов (Бельдеева, 1999). Функции организации мониторинга поверхностных вод суши и морской среды возложены на Росгидромет; водной среды водохозяйственных систем и сооружений в местах водозабора и сброса сточных вод – на Роскомвод; мониторинга рыб, других водных животных и растений – на Роскомрыболовство. В 1996 г. принято «Положение о системе экологического мониторинга на территории Алтайского края». Руководство по мониторингу за состоянием поверхностных вод суши возложено на Алтайский центр по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (АЦГМС); водной среды водохозяйственных систем и сооружений в местах водозабора и сброса сточных вод – на Алтайский краевой комитет водного хозяйства; рыб, других водных животных и растений – на Алтайский краевой комитет по охране окружающей среды (ныне комитет природных ресурсов). В сети ЕГСЭМ действует в настоящее время классификация токсичности и сапробности, действовавшая еще в рамках ОГСНК (Общая государственная служба наблюдений и контроля за загрязнением объектов природной среды) до 1993 г. (Метод. указания, 1984). Она насчитывает 6 классов качества вод и включает главным образом биологические характеристики: микробиологические, индикацию сапробности, индикацию

по донным организмам (приложение 2). Программа наблюдений и оценки качества вод по гидробиологическим показателям определяется ГОСТ 17.1.3.07-82 и Методическими указаниями по принципам организации системы наблюдений и контроля за качеством воды водоемов и водотоков в сети Госкомгидромета в рамках ОГСНК (1984). Обе применяемые в настоящее время классификации основаны на натуральных наблюдениях за состоянием водных объектов, в отличие от другой группы классификаций (Волков, 1979; Гудман, 1977; О единых критериях, 1965), где в основу положены нормативы отдельных водопользователей.

Первая классификация, разработанная и апробированная на днепровских водохранилищах, является до сих пор более предпочтительной за счет дробной градации показателей (Тарасова и др., 1990).

В настоящее время в ИВЭП СО РАН разрабатывается геоинформационная система (ГИС) «Водные ресурсы» для анализа экологического состояния и качества вод в бассейнах рек Алтайского края (Яковченко и др., 1998). Первая очередь ГИС установлена в Госкомитете по охране окружающей среды Алтайского края и содержит базы данных описания объектов наблюдения для бассейна р. Оби (гидрологические пункты, гидрохимические створы, предприятия-загрязнители), список загрязняющих веществ, данные наблюдений, т.е. реализует функции информационно-справочной системы.

На следующем этапе программа будет дополнена аналитическим блоком, позволяющим проводить оценку качества поверхностных вод края.

Недостатки указанной программы послужили основанием для разработки в ИВЭП специализированного программного комплекса по расчету распространения загрязнений в составе ГИС «Водные ресурсы». В систему будут включены возможности расчета и визуализации на карте фактического загрязнения реки:

- 1) в долях ПДК по любому из веществ;
- 2) в виде суммарного индекса загрязнения воды (ИЗВ);
- 3) расчет предельно-допустимых выбросов веществ (ПДВВ) по любой из четырех общепринятых моделей (стандартная, пропорциональная, статвесовая, максимальная допустимая).

Глава 2. ЗАГРЯЗНЕНИЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Загрязнение воды — привнесение в воду или образование (синтез, размножение и т.п.) в ней физических, химических или биологических агентов, неблагоприятно воздействующих на среду жизни и наносящих урон материальным ценностям (Реймерс, 1990). Особую опасность для водной среды представляют токсические (ядовитые) загрязнения. Многообразие применяемых в народном хозяйстве и циркулирующих в биосфере химических агентов определяет и многообразие токсических факторов, действующих в водной среде.

Многообразие поллютантов, или химических загрязнений (Реймерс, Яблоков, 1982), и видов воздействия на водную среду, уже сейчас исчисляется многими тысячами наименований и продолжает ежегодно расти. Определить содержание каждого из токсикантов и различных их сочетаний химическими методами просто невозможно.

Данные о содержании токсикантов в воде не несут информацию об их токсичности для гидробионтов, так как токсичность — характеристика биологическая. Бывают ситуации, когда химический анализ подтверждает наличие токсиканта, а токсичность не проявляется. Даже полная характеристика наличия токсикантов в водоеме, полученная методами аналитической химии, не дает представления о пригодности воды для жизни гидробионтов.

Актуальная проблема современной водной экотоксикологии — установление надежных экологических критериев качества водной среды, единственно возможным путем решения которой является использование биологических индикаторов, т.е. живых организмов.

Задача эта близка к той, которую решают гидробиологи для органического загрязнения, используя в качестве индикаторов сами гидробионты. Хорошо было бы создать шкалу токсобности аналогично шкале сапробности, что, к сожалению, невозможно. Еще в 1964 г. В.И. Жадин предложил ввести и экспериментально обосновать шкалу организмов-индикаторов токсобности. В. Сладечком (1966) было предложено различать 5 зон токсобности: олиго-, поли- и эутоксические воды, которые характеризуются гибелью <50, <75, <100 и 100% организмов после 2-суточного пребывания в испытываемой токсической среде. Однако, если учесть, что количество токсических веществ, попадающих в водные объекты, насчи-

тывает многие тысячи, а чувствительность отдельных гидробионтов к токсикантам различается в сотни и тысячи раз, вряд ли создание шкалы токсобности имеет реальные перспективы.

В общем виде можно допустить, что токсобность гидробионтов в целом соответствует их сапробности, виды, устойчивые к органическому загрязнению, в целом устойчивы и к токсическому (Брагинский, 1981). Это связано с тем, что многие химические загрязнения в первую очередь угнетают окислительно-восстановительные процессы, но а-мезосапробные и полисапробные организмы могут переходить на аноксидатный тип метаболизма, что обеспечивает сапробным организмам устойчивость к токсическим воздействиям. Поэтому компоненты пелофильных биоценозов заведомо более устойчивы, чем реофильные и псаммофильные.

Задача оценки токсического загрязнения вод может быть решена по крайней мере тремя путями (Брагинский, 1981):

- по наличию (или отсутствию) в водном объекте определенных индикаторных организмов или их комплексов (аналогично тому, как это принято для определения сапробности);
- по наличию токсических веществ в гидробионтах;
- с помощью биотестирования.

Методы эти не альтернативны, они дополняют друг друга и должны применяться в комплексе с методами биоиндикации степени органического загрязнения.

Сравнительный анализ толерантности и резистентности гидробионтов к тяжелым металлам, ПАВ, пестицидам и другим токсикантам позволяет расположить их в определенный ряд, в котором первые места занимают ракообразные Diptomidae, Cladocera, Gammaridae, а последние — Copepoda (кроме диаптомид), Ostracoda, Isopoda, Mollusca (Брагинский, 1981). Фильтраторы Cladocera являются самым реактивным компонентом пресноводной фауны и наиболее успешно используются для биоиндикации токсического загрязнения. Среди Cladocera более чувствительными являются не общепринятый тест-организм *Daphnia magna*, а такие как *Sida cristallina*, *D. longispina*, *D. hialina*, *Chydorus sphaericus* — олиго- и олиго-б-мезосапробные виды.

Работ в области выявления биоиндикаторов токсобности (степени загрязнения воды токсическими веществами) еще недостаточно. Интересно, что в пределах даже одной систематической группы могут встречаться виды с различной степенью сапробности и токсобности. Например, личинки *Cloen dipterum* (поденки) с жабрным дыханием (жабры без крышек), в эксперименте показали

достаточную устойчивость к токсикантам. Это, на первый взгляд, парадоксальное явление следует относить за счет малой изученности сравнительной физиологии гидробионтов.

По-видимому, именно беспозвоночные и их комплексы могут быть перспективны в качестве биоиндикаторов токсического загрязнения воды (Брагинский, 1981). Чувствительность водорослей к большинству токсических загрязнителей (за исключением тяжелых металлов) ниже на 2–3 порядка, чем у животных. Многие загрязнители ассимилируются водорослями. Исключение составляют тяжелые металлы, которые при концентрации 10^{-2} – 10^{-3} мг/л у фитопланктонных водорослей угнетают фотосинтез, повышают интенсивность деструктивных процессов, вызывают депигментацию и лизис. Состав и структура фитопланктонных биоценозов меняются только под влиянием среднего «химического удара» (специальные альгициды монурон, диурон, производные нафтохинона и некоторые ПАВ).

По принципу стойкости к разрушению в водоемах различают два основных типа загрязнений (Львова, 1996).

К первому типу относятся *стойкие* (неразлагающиеся или длительно разлагающиеся) загрязнения – соли ртути, алюминия, фенолы с длинной цепью, ДДТ. Для этих веществ не существует природных процессов, которые могли бы их разрушать. Они не только накапливаются, но часто «биологически усиливаются» по мере прохождения в биогеохимических циклах и по пищевым цепям. Кроме того, они образуют другие ядовитые вещества, соединяясь с веществами окружающей среды. Единственный способ «очистки» от таких загрязнений – их изъятие или экстракция из экосистем.

Второй тип – это загрязнители, *разрушаемые* в результате биологических процессов (бытовые сточные воды, термальное загрязнение). Для них существуют естественные механизмы переработки (бытовые воды разлагаются естественным путем или на станциях по очистке сточных вод, тепло рассеивается).

Среди источников поступления в водоемы и водотоки выделяют организованные, неорганизованные и полуорганизованные (Львова, 1996).

Организованные источники имеют точно локализованное место поступления и специальное устройство для их сброса (хозбытовые, промышленные и другие сточные воды).

Неорганизованные источники не имеют сточных мест и специ-

альных устройств для их поступления (загрязнения от лесосплава, смыв удобрений и пестицидов с полей и др.).

В группу *полуорганизованных* источников загрязнений включают те, для которых имеет место одно из указанных выше условий (не локализованные смывы с территорий, от добычи полезных ископаемых, загрязнения от транспорта и др.).

По времени поступления загрязнений в водоемы и водотоки различают *постоянные, периодические и разовые* (Львова, 1996). Постоянные загрязнения поступают в течение всего вегетационного периода.

2.1. ПРИОРИТЕТНЫЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Среди веществ, загрязняющих водные объекты, *нефть и ее производные* стоят на первом месте (Михайлова, 1986). Наличие в нефти ксенобиотиков, не подвергающихся или трудно поддающихся биодеградации, снижает вероятность генотипической адаптации гидробионтов к нефтяному загрязнению (ксенобиотики – от греч. *xenos* – чужой, – чужеродные для организмов соединения – пестициды, препараты бытовой химии, лекарства и др. (Биологический энциклопедический словарь, 1995)). Биологическое концентрирование нефтяных углеводородов сопровождается угнетением процессов воспроизводства, нарушением функций нервной, эндокринной, кровеносной систем животных. Накопление долгоживущих ароматических углеводородов в системе вода–грунт–биота повышает общий мутагенно-канцерогенный фон водных объектов, диктует необходимость пересмотра ПДК нефти по крайней мере, на порядок ниже (Михайлова, 1986). Современные очистные сооружения не могут предотвратить постепенного накопления в экосистемах трудно окисляемых ароматических углеводородов, поскольку эффективность очистки не превышает 50%. Изучение глубины очистки сточных вод нефтеперерабатывающего завода на гидробионтах показало, что для снятия острой токсичности этих вод требуется их разбавление в 64 раза (Новосадова, Соколова, 1986).

Токсичность нефти и ее продуктов связана с тем, что углеводороды легко проникают внутрь клеток, растворяя липоидные фракции клеточных оболочек и мембран, изменяют физико-химическое состояние протоплазмы и нарушают упорядоченность биохимических процессов (Строганов, 1973). Имеются данные о резком воздействии нефти и ее продуктов на генетический аппарат гидро-

бионтов (подавление биосинтеза нуклеиновых кислот) (Миронов, 1977).

Нефтяное загрязнение, блокируя рецепторы гидробионтов, нарушает химическую коммуникацию водных животных. Образуя на поверхности воды пленку, нефть нарушает дыхание гидробионтов, так как препятствует проникновению кислорода в толщу воды. Опускающиеся на дно тяжелые фракции нефти склеивают частицы грунта, оказывая механическое и биохимическое воздействие на донных обитателей. При сильном загрязнении нефтью образуются зоны, практически лишенные жизни, если не считать развивающихся здесь в большом количестве нефтеокисляющих бактерий. Взрослые гидробионты гибнут после контакта с нефтью в течение нескольких часов при концентрации 0,001–0,1%. Смертельные концентрации для икринок и мальков рыб еще меньше – 0,0001% (Львова, 1996).

Одной из наиболее распространенных групп высокотоксичных и долго сохраняющихся веществ в гидросфере являются *тяжелые металлы*. Рыбы в этом плане имеют наибольшее индикаторное значение, образуя высшие, часто конечные звенья трофических цепей. Сведения о содержании и распространении ТМ в организме рыб необходимы для контроля качества рыбной продукции и мониторинга состояния водной среды. Наиболее высокое содержание ТМ отмечено в головном мозгу, затем в гонадах и печени, внутриполостном жире и мышцах рыб. При этом выявляется значительное превышение содержания ТМ по свинцу, никелю, кадмию и ртути по сравнению с ПДК (Сайфулин, 1996).

Уровень накопления ТМ в рыбах определяется их содержанием в водной среде. Он может различаться по железу, меди, марганцу и цинку соответственно в 90, 19, 57 и 37 раз по сравнению с рыбами из эталонных зон (Тарасенко и др., 1991).

Токсичны ТМ и для беспозвоночных, например, *Daphnia hyalina* более чувствительна к стронцию и цинку. Ртуть остроотоксична для многих гидробионтов в концентрации свыше 1 мкг/л, свинец – 0,1 мг/г, кадмий – 1 мг/л (Calabrese, Nelson, 1974; цит. по Константинову, 1986).

В организм гидробионтов ТМ попадают с пищей или через покровы (последние характерно для водных растений).

Токсическое действие металлов многозначно (Львова, 1996). Они являются протоплазматическими ядами для всех живых объектов: грубо нарушают структуры коллоидных систем, денатурируют белки. При очень большом разведении связывают и блокируют актив-

ные центры ферментов. Именно эти нарушения нормальной и согласованной работы ферментных систем представляют основной механизм действия токсических веществ.

После растворения (и часто диссоциации) в жидких средах организма часть металлов связывается с оболочками клеток крови и интимидами капилляров, нарушая их проницаемость. Это первичный эффект. Нарушение проницаемости оболочек приводит к проникновению в цитоплазму. Так возникает вторичный эффект. Катионы металлов связываются с гидроксилами, карбоксилами, фосфатами, азотом, SH-группами. С SH-группами белков и ферментов связаны физиология нервной системы, клеточное дыхание, мышечное сокращение, проницаемость оболочек клеток и митохондрий.

Поступившие в кровяное русло металлы транспортируются к органам и тканям, затем проникают внутрь клеток. Там они откладываются в виде комплексных соединений с белками, аминокислотами. Накапливаются они избирательно, например, Hg – в почках, Pb, As, Se, Cr – в эритроцитах, в ионизированном состоянии – в костной ткани.

В отличие от органических токсикантов тяжелые металлы практически вечны, так как не разрушаются под действием природных факторов. Их удаление из водоемов и водотоков возможно за счет улетучивания (ртуть) или захоронения в донных осадках.

Фенолы – ароматические соединения, содержащиеся в молекуле одну или несколько гидроксильных групп, связанных с атомами углерода. Как активные метаболиты различные фенольные соединения широко распространены в природе и включены в естественный круговорот органических веществ. Синтезированные микроорганизмами, грибами и растениями, фенолы изменяются в животном организме. Цикл замыкают микроорганизмы и грибы, разрывающие бензольное кольцо и окисляющие фенолы до углекислоты и воды. Наряду с природными фенолами во все увеличивающемся количестве в водоемы и водотоки стали поступать фенолы антропогенного происхождения с водами химической, нефтяной, газовой, коксобензольной, фармацевтической, текстильной, деревообрабатывающей, кожевенной, лакокрасочной промышленности. В токсическом отношении опасны фенол, три изомера крезоло, шесть изомеров ксиленола, пентохлорфенол, пирокатехин, резорцин, гидрохинон, пирогаллол, флороглюцин. Более детально изучено токсическое действие фенола. Летальные концентрации фенола и крезоло для гидробионтов 10–25 мг/л (Львова, 1996).

Одноатомные фенолы – сильные нервно-паралитические яды,

вызывающие общее отравление организма также и через кожу, на которую действуют прижигающе. Многоатомные фенолы менее токсичны, но также способны при длительном поступлении угнетать ферменты в первую очередь окислительного процесса, действуют как разобщители дыхания и фосфорилирования.

Пестициды (лат. *pestis* – зараза, *caedo* – убиваю) – обширная группа искусственных химических соединений. Они попадают в водные объекты в результате сельскохозяйственной деятельности человека. Ежегодное их производство достигает миллиардов тонн. Особенно много пестицидов попадает в континентальные воды. По химическому составу различают хлорорганические (ДДТ, гексохлоран, альдрин, эндрин и др.), фосфоорганические (метафос, хлорофос, карбофос), производные сим-триазина (атразин, симазин), мочевины (монурон, диурон), карбоновых кислот (трихлорацетат) и другие пестициды. Хлорорганические пестициды хорошо растворимы в жирах, липидах, восках, поэтому больше накапливаются в жировой ткани, печени, почках и мозге гидробионтов. Период их полураспада около 10 лет. Фосфоорганические под действием внутриклеточных эстераз быстро растворяются и в организме не накапливаются, но они гораздо токсичнее хлорорганических пестицидов (Константинов, 1986), что выражается в парализующем действии на ацетилхолинэстеразу (Львова, 1996). Результат действия ФОС – накопление в организме ацетилхолина, судороги, паралич и смерть.

Исследования уровня накопления стойких пестицидов у основных промысловых рыб Килийской дельты Дуная, лиманов юга Украины и водохранилищ днепровского каскада показали, что концентрирование пестицидов характерно для хищников (судак, щука, окунь, сом) и бентофагов (лещ, сазан, тарань, рыбец) (Комаровский и др., 1981). Передача пестицидов идет по пищевой цепи: кормовые организмы (тубициды, дафнии) – мирные рыбы (карпы-годовики) – хищные рыбы. Для рыб LC_{50} карбофоса равна 170–12,900 мкг/л, для ДДТ – 2–20 мкг/л (Масек, Allister, 1970; цит. по Константинову, 1986).

Еще чувствительней к действию пестицидов беспозвоночные: для высших ракообразных LC_{50} карбофоса – 3–250 мкг/л, для ветвистоусых раков зоопланктона LC_{100} равно 100 мкг/л (Брагинский, 1972).

Внутри организма пестициды проникают через дыхательные поверхности. Механизм их действия многообразен: угнетение фотосинтеза и дыхания через блокирование реакций с переносом элек-

тронов, нарушение обмена через мембраны, ингибирование синтеза белков и хитина, отравление нервной системы.

Синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ) – химические соединения, понижающие поверхностное натяжение на разделе фаз вода–воздух. Их нередко называют детергентами (лат. *detergere* – очищать). Основные физико-химические и технологические свойства СПАВ определяются гидрофильно-липофильным балансом их молекул. Основную долю в производстве СПАВ составляют анионные вещества (соли карбоновых кислот, алкилсульфаты, алкилсульфонаты, фторалкилсульфонаты), неионные (полиэтиленовые эфиры алифатических спиртов и кислот, алкилфенолов, аминов и других соединений с реакционноспособными атомами водорода), катионные (производные алкиламинов) и амфотерные.

Основные потребители СПАВ – текстильная промышленность, производство стройматериалов, косметическая, фармакологическая, кожевенная, бумажная, меховая, пищевая и нефтяная промышленности, сельское хозяйство (стимулирование роста, инсектициды, гербициды, фунгициды). Особенно много их используется для бытовых нужд, что и является основным источником загрязнения водных объектов.

Токсичность СПАВ для человека и теплокровных животных относительно низка, выше она для низших животных и растений. Детергенты в концентрации 0,5–0,25 мг/л вызывают гибель ракообразных и рыб; более низкие концентрации задерживают рост и развитие гидробионтов, ухудшают усвоение пищи, ингибируют функцию хеморецепторов. У водорослей сублетальные концентрации СПАВ нарушают подвижность половых клеток и спорообразование.

Основное влияние СПАВ оказывают на гидробионтов: уменьшают прозрачность, придают воде запахи и привкусы, образуют пену. Пена препятствует аэрации воды, ухудшаются процессы самоочищения, кроме того, в ней концентрируются органические загрязнения и микрофлора (в том числе патогенная) (Львова, 1996).

Велико загрязнение водных объектов *азотными и другими удобрениями*. Наибольшую опасность для гидробионтов и общего санитарного состояния водного объекта представляют аммиак и соли азотистой кислоты (нитриты). Механизм токсического действия нитритов заключается в блокаде всех железосодержащих дыхательных ферментов. Опасность азотных соединений не только в их накоплении в гидробионтах, но и образовании нитрозоаминов, об-

ладающих высокой токсичностью, тератогенным (teratos — от греч. чудовище, урод), мутагенным и канцерогенным эффектами (Шахмурзов и др., 1991).

Чрезвычайно опасным является загрязнение водоемов и водотоков различными *продуктами радиоактивного распада* — радионуклидами или радиоизотопами.

Первое радиобиологическое исследование в нашей стране было выполнено И.П.Тархановым еще в 1896 г. на различных организмах, в том числе и на гидробионтах (Тарханов, 1896). Изучение радиоактивности в природе, в том числе и в гидросфере, придавало большое значение В.И. Вернадский. В 1929 г. была опубликована работа В.И. Вернадского «О концентрации радия живыми организмами» (исследовались два вида рясок), где он ввел в науку понятие об отношении концентраций радиоэлементов в организмах (в расчете на живую массу) и в воде как меру накопления радионуклидов в живых организмах, что впоследствии получило название *коэффициента накопления*. Одновременно в эти годы школой Вернадского развивались исследования по радиочувствительности различных гидробионтов: амёб, гидр, тритонов, планарий, ракообразных, моллюсков.

С появлением атомного и термоядерного оружия и его многократными испытаниями подобные работы стали развиваться еще интенсивнее. С 1956 г. в СССР и США появился термин «радиационная экология» (радиоэкология). В 1955 г. в Институте биологии УФ АН СССР под руководством Н.В. Тимофеева-Рессовского было создано первое в СССР радиационно-биологическое подразделение по континентальной радиоэкологии, впоследствии отдел континентальной радиоэкологии (Куликов, Молчанова, 1975). В 1956 г. формируется морское радиоэкологическое подразделение на Севастопольской биостанции, впоследствии отдел радиационной и химической биологии ИНБЮМ (Институт биологии южных морей) им. А.О. Ковалевского (Поликарпов, 1987).

А.А. Агре и В.И. Корогодина (1960) ввели в радиоэкологию понятие о факторе радиоемкости водоема F для определения степени радиоактивных загрязнений, аккумулированных донными отложениями:

$$F = Kh (H + Kh)^{-1},$$

где K — коэффициент накопления радионуклида в грунте;

h — толщина сорбирующего грунта;

H — средняя глубина водоема.

С начала возникновения до наших дней водной радиологией

накоплено много фактических данных, выполнено множество фундаментальных и прикладных работ, в том числе подходы для комплексного радиационно-гигиенического и радиоэкологического нормирования. Возникло новое направление — радиохемоэкология, оценивающее последствия комбинированных радиоактивных и химических загрязнений.

Бурный рост ядерной энергетики и все учащающиеся ядерные катастрофы требуют дальнейшего быстрого развития водной радиоэкологии в системе гидробиологического мониторинга.

Специфика пресноводных водоемов и водотоков проявляется в том, что в результате снижения фактора разбавления концентрация радионуклидов в них возрастает гораздо быстрее, чем в морях и океанах. При этом слабая минерализация воды способствует более высокому накоплению радионуклидов пресноводными гидробионтами (Чеботина, Куликов, 1998). Э.А. Гилевой (1965) на большом статистическом материале показано, что в общем случае величина коэффициента накопления (КН) определяется в первую очередь химической природой элемента, а затем — спецификой вида гидробионта и условий внешней среды.

Удобным объектом биоиндикации радиоактивных загрязнений являются харовые водоросли. Эти растения образуют настоящие «подводные луга» и формируют донные отложения до десятков метров в глубину. Они обладают повышенной способностью накапливать ^{90}Sr . Для харовых водорослей и других высших растений КН в природных поверхностных водах составляет 3000 и 340 соответственно (Чеботина, Куликов, 1998).

Накопление радионуклидов низшими и высшими водными растениями, с одной стороны, определяется их биологическими особенностями, а с другой — абиотическими факторами и зависит от концентрации в воде радиоактивных и нерадиоактивных носителей. При стабильном физико-химическом состоянии элемента в воде в области микроконцентраций (от 10^{-12} — 10^{-4} М) проявляется прямая зависимость между концентрацией элементов в воде и в растениях. Если содержание радионуклидов достигает макроконцентраций (больше 10^{-5} — 10^{-4} М), коэффициенты накопления находятся в обратной зависимости от концентрации химических элементов в воде (Куликов, Чеботина, 1988).

Особенно в большом количестве высшие водные растения накапливают ^{90}Sr . На этой основе разработана биотехнология очистки воды от ^{90}Sr . В течение дня заросли элодеи в расчете на 100 кг сухой массы могут накапливать до 2 кг извести. В условиях естественного

водоема рдест содержит ^{90}Sr до $4,8 \cdot 10^{-8}$ Кю/кг (Куликов, Чеботина, 1988). Еще больше радионуклидов накапливают одноклеточные и нитчатые водоросли.

Важное практическое значение приобретают исследования накопления радионуклидов в рыбах. По накоплению в икре линия радионуклиды распределяются в ряду $\text{Ce} < \text{Ru} \leq \text{Lr} < \text{Y} = \text{Sr}$ накапливаются в основном оболочками икринок. После выкле личинок накопление нуклидов резко возрастает, оно тем больше чем выше температура. Это обстоятельство следует учитывать при нормировании сбросов подогретых вод в водоемы-охладители. В соответствии с эффектом биологического «усиления» хищные рыбы накапливают радионуклиды больше, чем рыбы со смешанным питанием и фитофаги. Повышение концентрации ^{137}Cs наблюдается возрастом рыб. В настоящее время, судя по многочисленным данным, считается, что источником поступления ^{90}Sr и ^{137}Cs в организм рыб является пища, а не вода (Куликов, Чеботина, 1988). Наиболее опасны радиоизотопы стронция, цезия, циркония, ниобия (Поликарпов, 1964).

Отмечена известная избирательность в накоплении отдельных радионуклидов различными гидробионтами. Цезий-137 наиболее энергично накапливают бурые и красные водоросли; стронций-90 — радиолярии и кости рыб; радиоизотопы иттрия — ракообразные икра рыб; церий-144 — актинии. В организме моллюсков, особенно в раковине, наиболее интенсивно накапливается ^{90}Sr , ^{91}Y , ^{45}Sc . Наблюдается и предпочтительная локализация отдельных радионуклидов в различных органах животных. Так, радиоактивный стронций накапливается преимущественно в скелете, цезий-137 — в мышцах и мягких тканях, кобальт-60 — в печени и почках (Константинов, 1986).

Действие радиации на живые организмы неоднозначно, оно может быть *стимулирующим, угнетающим и летальным*. В соответствии с существующими представлениями, очень малые дозы радиации, слабо отличающиеся от естественного фона, не оказывают заметных воздействий; более высокие, но относительно еще слабые стимулируют рост и развитие гидробионтов. Дальнейшее повышение доз вызывает угнетение, достаточно высокие дозы вызывают летальный эффект (Куликов, Чеботина, 1988).

Малые дозы облучения рыб и моллюсков на ранних стадиях развития не только не снижают выживаемость, но даже индуцируют радиоустойчивость. Это имеет большое биологическое значение для стимуляции репаративных систем. Большие дозы облучения вызы-

вают уменьшение линейных размеров и лучевые уродства (Куликов, Чеботина, 1988).

Как правило, чувствительность к радиации повышается от низших форм к более высокоорганизованным и уменьшается от ранних стадий развития к более поздним (Поликарпов, 1964). LC_{50} составляет для бактерий около 10000 Гр, водорослей и простейших — 45–1200, ракообразных — 10–500, для взрослых рыб и земноводных — 7–30. Бактерии рода *Pseudomonas* способны жить в воде, охлаждающей атомные реакторы (Константинов, 1986). В ряду радиочувствительности гидробионты можно расположить следующим образом: рыбы > ракообразные и моллюски > водоросли > бактерии. Однако очевидна упрощенность приведенного вывода. В настоящее время необходимо решить проблему радиооблучения, особенно малыми дозами, на молекулярном, клеточном, популяционном и ценоотическом уровнях (Кузьменко, 1990).

Накопление радионуклидов в донных отложениях в десятки раз выше, чем в воде (Hetherington, Yefferies, 1974; цит. по Константинову, 1986), поэтому организмы бентоса страдают от накопления радионуклидов еще больше, чем пелагические организмы. Накопление радионуклидов различными типами грунтов зависит от физико-химических свойств как радионуклидов, так и грунтов. В условиях природного водоема ^{137}Cs накапливается более интенсивно, чем ^{90}Sr (Куликов, Чеботина, 1988). Менее прочно ^{90}Sr и ^{137}Cs фиксируются песчаными грунтами, прочнее песчано-илистыми, сапропелем и торфом.

Условно можно выделить 4 основные группы радионуклидов по характеру их преимущественного накопления: 1-гидротропы: сера-35, хром-51, германий-71 (в воде); 2-эквитропы: кобальт-60, рубидий-86, стронций-90, рутений-106, йод-131 (равномерно распределены между компонентами водного объекта); 3-педотропы: железо-59, цинк-65, иттрий-91, цирконий-95, ниобий-95, цезий-137 (в грунтах); 4-биотропы: фосфор-32, кадмий-115, церий-144, ртуть-204 (Тимофеева-Рессовская, 1963; цит. по Куликову, Чеботиной, 1988).

2.2. КЛАССИФИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Токсические вещества по природе своего действия могут быть разделены на следующие группы (Тимофеева, 1986):

- 1) локального действия:
 - неорганические вещества: хлор, перекись водорода, перман-

ганат калия, озон, кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов;

— органические вещества: формальдегид, органические кислоты и краски, дубильные вещества, детергенты;

2) нервно-паралитического действия:

неорганические: аммиак, соли аммиака, уголекислота, щелочно-земельные металлы, фтор, фосфор;

— органические: нефть, нефтепродукты, фенолы, смолы, дегти, алкалоиды, сапонины, терпены, хлорорганические, фосфорорганические, пестициды;

3) гемолитические: аммиак и соли аммония, свинец, цианиды, сапонины, селен, некоторые фосфорорганические соединения;

4) протоплазматические: фтор, цианиды, мочевины, меркаптаны;

5) энзиматические: ФОР, фториды, цианиды, сульфат натрия, углекислый газ, гидросиламин, некоторые детергенты, меркаптаны;

6) наркотического действия: углеводороды, алкилгалогены (хлороформ, четыреххлористый углерод, трихлорэтилен, дихлорэтан), спирты, эфиры, кетоны, альдегиды, нитросоединения;

7) комбинированного действия: аммиак, соли аммония и др.

Такое разделение условно, так как один и тот же яд в зависимости от концентрации может действовать по-разному. Так, фенолы обладают одновременно нервно-паралитическим, а в большой концентрации и локальным действием.

По степени токсичности, оцениваемой концентрацией, вызывающей гибель 50% особей, яды делятся на:

1) высокотоксичные — до 1 мг/л;

2) сильно токсичные — 1-10 мг/л;

3) умеренно токсичные — 10-100 мг/л;

4) слаботоксичные — свыше 100 мг/л;

5) очень слаботоксичные — свыше 1000 мг/л.

К первой группе относятся пестициды, к пятой — бора, борная кислота, хлористый кальций, уротропин (Донгфарт, 1951; цит. по Тимофеевой, 1986).

2.3. ДЕЙСТВИЕ ЯДОВ НА ОРГАНИЗМ ГИДРОБИОНТОВ

Отравлением, или интоксикацией, называется патологическое состояние, развивающееся вследствие взаимодействия живого организма и яда (Львова, 1996). В соответствии с принятой в нашей

стране терминологией имеют в виду интоксикации, вызванные ядами, поступающими в организм извне.

Одновременно с отравлением в организме начинают развиваться адаптационные реакции, направленные на ликвидацию нарушений гомеостаза. Следовательно, общий токсический эффект является результатом специфического действия токсиканта и компенсаторно-защитных неспецифических реакций.

Еще в 1878 г. Г. Лангли (G. Langley) выдвинул идею о рецепторе как месте конкретного приложения и реализации токсического эффекта. В 1937 г. обосновал эту теорию А. Кларк, показав, что между токсическими веществами и их рецепторами возникает связь, аналогично таковой, между субстратом и ферментом. Во многих случаях оказалось, что рецепторы представляют собой участки ферментов. П. Эрлих высказал плодотворную идею о взаимодействии яда и клетки-мишени по принципу «ключ к замку». Эта идея дала начало современной химиотерапии, основанной на подборе лекарств по их избирательности (Львова, 1996).

Однако есть целый ряд веществ, действующих на всю клетку в целом, а не избирательно. Этот принцип действия характерен для неэлектролитов. Они обладают наркотическим, раздражающим, прижигающим и гемолитическим действием.

Разнообразные раздражители (длительное голодание, низкие температуры, мышечное напряжение, яды и т.д.) вызывают у организмов состояние напряжения (стресса). Термин «стресс» был перенесен Г. Селье в биологию из физики, где он характеризует напряжение как производное силы и сопротивления. «С точки зрения биолога, стресс означает состояние организма, обусловленное взаимодействием повреждения и реакцией защиты» (Львова, 1996). Все токсические вещества являются стрессирующими, или стрессорами.

Действие загрязнения природных вод может быть как угнетающим, так и стимулирующим. Первая причина стимуляции может заключаться в повышенном содержании органического вещества и биогенных элементов при загрязнении, что обеспечивает дополнительную кормовую базу. Второй причиной может быть неспецифическая стимуляция жизненных функций гидробионтов токсикантами, содержащимися в низких концентрациях. Такая стимуляция возникает как элемент известной фазности действия токсических веществ: сменяющиеся стадии первичного угнетения, стимуляции и заключительного подавления функций (Методы биоиндикации..., 1989).

Эта фазность отличается по срокам и концентрациям не только для различных организмов, но и для различных функций одного и того же организма. Одна и та же концентрация на один и тот же срок может оказать стимулирующее действие на одну функцию организма или популяции и угнетающее на другую. В этом может заключаться причина многих кажущихся противоречий при интерпретации получаемых данных токсикологических исследований.

Следует учитывать, что неблагоприятным может быть как снижение значения функций, так и ее повышение свыше некоторого порога. В качестве порога вредного действия применяется отклонение под его действием жизненной реакции организма от контроля на 25%, а иногда на минимальную статистически достоверную ошибку.

Характерной особенностью протоксов современных предприятий является их многокомпонентность. Известно, что смесь различных веществ может действовать по-другому, чем каждый из ее компонентов. По В.И. Лукьяненко (1983), *синергизм* — это явление усиления токсического эффекта смеси по сравнению с составляющими компонентами. Синергизм следует отличать от аддитивного эффекта, или простого суммирования действия компонентов. Другие трактовки синергизма: превышение эффекта смеси над суммой эффектов отдельных компонентов; способность одного из компонентов смеси увеличивать активность другого компонента.

Если компоненты смеси действуют в противоположном направлении, то это говорит об их *антагонизме*. Данные по комбинированному действию различных компонентов промышленных сточных вод показывают, как важно для реальной оценки их вреда учитывать возможное комплексное действие их ингредиентов. Оценка токсичности по одному, пусть наиболее токсичному компоненту может не соответствовать действительности, если не учитывать действия антагонизма, синергизма и аддитивности.

НАКОПЛЕНИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ГИДРОБИОНТАХ

Многие ядохимикаты способны накапливаться, или *кумуляроваться* в гидробионтах. Термин «кумуляция» заимствован из фармакологии. Накопление массы яда в организме называют материальной кумуляцией, а накопление вызываемых ядом патологических изменений — функциональной кумуляцией. При смешанной

кумуляции и токсикант накапливается, и функции организма нарушаются.

Коэффициент кумуляции (К) рассчитывается по формуле:

$$K = C_m / C_k,$$

где C_k — концентрация токсиканта в воде, в мг/л;

C_m — концентрация токсиканта в организме, в мг/кг живого веса.

Для водной среды существует следующая классификация кумулятивного эффекта:

Таблица 1
Классификация кумулятивного эффекта (Гольд, Скобцова, 1982)

Группа	Кумуляция	Коэффициент кумуляции
1	Сверхвысокая	Больше 1000
2	Высокая	201–1000
3	Умеренная	51–200
4	Слабо выраженная	1,1–50
5	Отсутствие	Менее 1

Гидробионты обладают высокой способностью накапливать (аккумуляировать, или кумулировать) токсические вещества, в силу чего сами могут становиться токсически опасными. Коэффициенты накопления или концентрации (отношение концентраций токсиканта в организме к таковой в воде) могут достигать громадной величины. Например, коэффициент накопления кобальта в теле *Lamascina* достигает $4 \cdot 10^{13}$, а кадмия — $14 \cdot 10^{15}$ (Крепс, 1959; цит. по Константинову, 1986). Для щелочных и щелочно-земельных элементов коэффициенты кумуляции — 10^3 – 10^5 . При этом наблюдается нарастание концентрации токсикантов в организмах последующих трофических уровней — эффект пищевой цепи, или биологического усиления; в каждом последующем звене трофической цепи концентрация токсиканта повышается на 1 порядок (для Cl-Hg органических соединений, для других пока нет данных). Химический анализ водной массы и илов не дает объективных результатов, так как в ходе физико-химических и биологических процессов самоочищения токсиканты быстро извлекаются из воды и аналитические методы их не могут уловить (Брагинский, 1981). Уровень накопления токсикантов в органах и тканях гидробионтов можно рассматривать как биологический индикатор загрязнения ими водной среды (Комаровский и др., 1981).

Высшие водные растения благодаря способности накапливать биогены и минеральные вещества, превышающие их содержание в воде, являются важнейшим фактором самоочищения водоемов и водотоков. Элодея канадская способна интенсивно накапливать марганец, никель, медь, хром, молибден, стронций, барий (Ковальский и др., 1970). В условиях модельных экосистем элодея накапливала медь в концентрации в 2100 раз большей, чем в контроле (Дмитриева и др., 1989).

Отмечены чрезвычайно большие коэффициенты накопления моллюском Dreissena в районах аварии ЧАЭС различных радионуклидов. Они составляли соответственно для ^{90}Sr — 2062–2551, ^{95}Sr , ^{95}Nb — 932–2630, $^{103,106}\text{Ru}$ — 2984–3190, ^{131}I — 318, $^{134,137}\text{Cs}$ — 656–844, ^{140}Ba — 1977–10556, $^{141,144}\text{Ce}$ — 2564–2922. Эти величины у Viviparus достигали 1010–4643 (Францевич и др., 1995).

У окуня и щуки максимальное содержание ртути найдено в мышечной ткани, минимальное — в гонадах, причем увеличивается оно по мере закисления водоема. В жабрах, напротив, накопление ртути выше в нейтральных озерах (Степанова, Комов, 1997).

Удобным объектом для изучения накопления токсикантов в высших звеньях трофической цепи являются земноводные, так как плотность населения их в антропогенных комплексах достаточно высока. Выявлено, что в агроценозах, в пределах водосбора Валдайского озера содержание ТМ в органах и тканях травяных лягушек было в 2–100 раз выше, чем в окружающих природных экосистемах (Cu — в 1,5; Pb — в 3–8; Fe, Cr и Zn — в 10–100 раз), что связано с внесением ядохимикатов и удобрений (Леонтьева, Серебряная, 1996). В связи с загрязнением бассейна р. Дубны, в Талдонском районе концентрации ТМ у травяной лягушки были в 3–10 раз выше, чем в Загорском и Дмитровском районах. Травяные лягушки в Приокско-Террасном заповеднике также содержали большое количество ТМ в печени, легких и костях, что говорит о высоком фоновом загрязнении заповедной территории (Леонтьева, Серебряная, 1996).

Впервые проведено изучение бионакопления микроэлементов (Hg, Ca, Se, As, Sb, Fe, Co, Rb, Zn) в экосистеме оз. Байкал. Биомониторами служили губки, моллюски, гаммариды, организмы перифитона, фито- и зоопланктона, рыбы; исследовались и донные отложения. Установлено, что содержание следовых элементов в абиотических средах и водных организмах озера Байкал преимущественно не превышает естественных фоновых величин. Исключение составляют донные отложения в районах с повышенной

антропогенной нагрузкой. Это свидетельствует о высокой интенсивности процессов самоочищения в экосистеме озера (Грошева, Воронская, 1996).

Биомониторинг по бионакоплению токсических веществ в других звеньях пресноводных экосистем дается в работах А.М. Никанорова, А.В. Жулидова (1991), Д.Мура, С. Ромамурти (1987), В.Н. Майстренко с соавторами (1996).

ПОРОГИ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЯДОВ

Основой для установления безопасных уровней ядов для живых организмов является *пороговость вредного действия* вещества (ПВД). ПВД — это минимальная концентрация вещества в окружающей среде, при воздействии которой возникают изменения, выходящие за пределы нормальных приспособительных реакций (Корте и др., 1997). В связи с этим возникает вопрос: что считать нормой, а что — патологией?

В международной медицинской практике нормальными физико-биохимическими показателями принято считать лежащие в области $M \pm 2\sigma$ (где M — среднее значение). Эти показатели отличаются от вредных не более чем на удвоенную величину стандартного отклонения и базируются на правилах вариационной статистики и теории вероятности. Зона $M \pm 2\sigma$ включает 96% всех нормальных показателей.

В.И. Лукьяненко (1983) считает пороговой токсичностью такую концентрацию, которая вызывает какие-либо выраженные патологические сдвиги в любой отдельно взятой функциональной системе организма, поскольку стойкое нарушение нормальной деятельности любой физиологической системы рано или поздно приведет к необратимым нарушениям гомеостаза, а в конечном счете и гибели организма. Это и понятно, ибо любая из многих функциональных систем равноценна и незаменима, а стойкие нарушения каждой из них неизбежно приведут к нарушению деятельности других.

С понятием нормы и патологии в водной токсикологии связано определение границ, при которых токсические вещества переходят границы нормы и оказывают патологическое воздействие на различных уровнях организации живого. В 1977 г. в Байкальске состоялся симпозиум, посвященный проблемам нормы и патологии в водной токсикологии (Норма и патология..., 1977).

По мнению Н.С. Строганова (1983), норма на молекулярном уров-

не — это определенная последовательность и соотношение биохимических процессов, обеспечивающих функционирование органелл, клеток и организмов в пределах, характерных для вида.

Норма на клеточно-органном уровне — это рост и дифференцировка, деление клеток, их функционирование, обеспечивающее функционирование органа, в состав которого они входят.

Норма на организменном уровне — это рост и развитие, размножение, плодовитость и качество потомства, что обеспечивает сохранность вида.

По Н.С. Строганову, норма — это все то, что обеспечивает жизнеспособность и процветание вида.

Норму и патологию на надорганизменных уровнях (популяция, биоценоз, экосистема) рассматривают в настоящее время не только с биологической точки зрения, но и с хозяйственной, т.е. с учетом интересов человека. Норма — это чистый и обладающий хорошей продуктивностью водный объект.

Л.П. Брагинский (1977, 1981, 1983) считает *демэкологическим критерием нормы* сохранение равновесия между рождаемостью и смертностью в популяции, между полами в соотношениях, присущих данному виду. Критерием *синэкологической нормы* является сохранение устойчивой структуры биоценоза, ее нарушение, распад на бесструктурные элементы есть патология биоценоза. Он вводит понятие «буферности» экосистемы как меру ее устойчивости, выражающуюся в способности экосистемы переработать определенное количество токсиканта без сдвига равновесия в системе (Теоретические проблемы..., 1983). Основным критерием сдвига равновесия Л.П. Брагинский считает устойчивое достоверное снижение соотношения первичной продукции и деструкции. Чем дальше от единицы и ближе к нулю это соотношение, тем более глубоко нарушена экосистема.

М.М. Камшилов (1977) рассматривает норму и патологию экосистемы, исходя из биотического круговорота, который включает две подсистемы: сети выедания (пастбищные) и сети разложения. В нормально функционирующих экосистемах преобладают сети выедания, при загрязнении водных объектов — сети разложения.

Для упорядочения и четкости представлений о наступлении явных нарушений норм жизнедеятельности задолго до применения биологических методов контроля качества вод возникла необходимость создания системы химического контроля в виде ПДК. В нашей стране ПДК — это система общегосударственных официально утвержденных нормативов.

Предельно допустимая концентрация — это «количество вредного вещества в окружающей среде, практически не влияющего на здоровье человека...» (Реймерс, Яблоков, 1982). Первые медицинские ПДК утверждены в 1961 г., к 1986 г. было 550 рыбохозяйственных и более 1300 санитарно-гигиенических ПДК (Лесников, 1986). Большой вклад в разработку научных основ установления ПДК внес Н.С. Строганов (1972). Современный уровень понимания благополучия человека диктует необходимость установления экологических ПДК для экосистем.

Сначала считали, что медицинские и ветеринарные ПДК являются достаточными для охраны водных объектов от загрязнения. Однако исследование рыбохозяйственных ПДК показало, что рыбы во много раз чувствительнее к токсикантам, чем млекопитающие, поскольку их системы гомеостаза несовершенны (Константинов, 1986).

Еще более чувствительны к загрязнениям беспозвоночные, поэтому в настоящее время введены ПДК, охраняющие водные экосистемы для поддержания их существования при современных формах использования не только в интересах человека, но и водных экосистем. В связи с этим возник вопрос о критериях токсичности. Н.С. Строганов (1940, 1960, 1972), внесший большой вклад в развитие водной токсикологии, в качестве *критерия токсичности* предлагает не выживание особей, а сохранение видов, т.е. нормальное воспроизводство особей в нескольких поколениях без ухудшения качества потомства. По его мнению, отдельные физиологические и биохимические реакции организмов должны рассматриваться как дополнительные, разъясняющие механизмы реагирования на токсикологическое загрязнение.

В случаях, когда требуется дать быструю и ориентировочную оценку токсичности, используются экспресс-методы В.И. Долгова и Я.Я. Никитинского (1927). Суть метода — определение выживаемости испытуемых тест-объектов (рыб, беспозвоночных, растений) при различных концентрациях токсических веществ в течение суток или нескольких дней. В качестве показателя выживаемости принимается гибель 50 или 100% испытуемых особей по сравнению с контролем (испытания на острую токсичность). Эти результаты не могут являться величинами ПДК для экосистем.

ПДК для экосистем могут быть получены при работе на самих загрязненных водоемах и водотоках (Константинов, 1979). Достаточно установить по гидробиологическим пробам ближайшую к очагу загрязнения зону, где население находится в «нормальном

состоянии» и определить здесь концентрацию тех или иных токси- кантов, которая и будет являться ПДК для данных экосистем.

В дополнение к имеющимся ПДК для воды требуется установле- ние их и для донных отложений. Методы оценки токсичности со- стояния дна водоемов только начинает разрабатываться. Одесски- ми учеными (Присняр, Дятлов, 1989; цит. по Методам биоиндика- ции..., 1989) предложена методика вытяжек из грунтов и донных отложений для определения содержания стойких токсикантов, осо- бенно пестицидов и тяжелых металлов, седиментирующихся в во- доемах при замедлении и остановке течения водотоков. Концентра- ция токсикантов в донных отложениях может на 2–3 порядка пре- вышать таковую в водных массах. Биотестирование вытяжек явля- ется наиболее перспективным методом контроля токсического за- грязнения донных отложений.

Для количественной оценки потенциальной токсической опас- ности химических веществ применяют хронические эксперименты с внесением ядовитых веществ в грунты (Куценко, Саватеев, 1995). Тест-объектами могут служить *D. magna*, *Asellus aquaticus*, *Gammarus lacustris*, *Chironomus dorsalis*, тубифициды (Петрова и др., 1986), олигохеты, светящиеся бактерии (Казаринова и др., 1995) и дру- гие организмы.

В настоящее время наряду с ПДК для нормирования сброса сточ- ных вод в водный объект применяется показатель *ПДВВ* – *предель- но допустимые выбросы вещества*. ПДВВ – это максимальное коли- чество веществ в сточных водах, допускаемое для сброса в водный объект в данном пункте в единицу времени, не нарушающее нор- му качества воды в заданном створе (Зенин, Белоусова, 1988). ПДВВ устанавливаются с учетом ПДК веществ в местах водопользования и самоочищающей способности водного объекта.

По степени участия в биохимических процессах водных экосис- тем выделяют три типа загрязняющих веществ:

1-й тип – включающиеся в обмен веществ организма и участву- ющие в естественных циклах круговорота веществ в природе (нит- раты, фосфаты и др.). Их загрязняющее действие проявляется при поступлении в водный объект в неестественно большом количе- стве, что приводит к эвтрофированию водной среды;

2-й тип – инородные, чуждые для живых организмов, но влия- ющие на процессы метаболизма, частично включающиеся в обмен веществ (пестициды и др.). Их отрицательный экологический эф- фект проявляется в токсическом воздействии на организм;

3-й тип – инертные, не включающиеся в обмен веществ орга-

низма (синтетические пленки, твердые пластмассы и др.). Они пред- ставляют опасность как не утилизирующиеся в природе (Авилова, Авилов, 1990).

К веществам первого типа применимо нормирование по двум показателям: ПДК и ПДВВ. Преимущественное использование того или иного показателя зависит от степени токсичности вещества. Для высокотоксичных веществ главенствующим является ПДВВ при всех видах нагрузки (разовой, периодической, постоянной) и при оценке последствий аварий. Для веществ третьего типа важен толь- ко количественный показатель, его нормирование должно предуп- реждать захламление вод.

АДАПТАЦИЯ ГИДРОБИОНТОВ К ЯДАМ

При накоплении ядохимикатов организмы подвергаются хро- ническому воздействию малых концентраций. Возникают вопросы: в каком направлении пойдет перестройка физиологических и био- химических процессов в организме под влиянием кумуляции, дли- тельная или краткосрочная будет компенсаторная адаптация? Од- нозначных ответов на эти вопросы нет. Высказываются мнения о большой адаптационной пластичности гидробионтов, их способ- ности выносить большие токсические нагрузки. Токсиканты в силу широкого распространения стали как бы экологическим фактором, значит адаптация к нему становится как бы неизбежной.

Под *адаптацией* организма к токсиканту следует понимать при- обретение им повышенной токсикорезистентности в результате предшествующего контакта с токсикантом (Львова, 1996). В основе адаптации лежат как компенсаторные биохимические, физиологи- ческие или морфологические изменения в пределах нормы реак- ции, так и генетические механизмы. Выраженность адаптации к токсиканту определяется двумя факторами: временем контакта с токсикантом и его концентрацией.

Г. Селье различает три фазы общего адаптационного синдрома (цит. по Львовой, 1996):

- 1) реакция тревоги;
- 2) фаза резистентности;
- 3) фаза истощения.

На примере фенольного отравления рыб эти фазы выглядят сле- дующим образом: резкая двигательная возбудимость, потеря реф- лекса равновесия, опрокидывание набок, полная потеря двигатель- ной активности, расстройство дыхания и смерть (Лукияненко, 1982).

Результаты экспериментов говорят о том, что адаптация к ядам

носит временный характер и представляет собой фазу резистентности в трехфазной реакции организма на стрессирующее воздействие химической природы. Эта фаза характеризуется временным повышением устойчивости организма к яду. Она сменяется фазой истощения, наступающей вследствие поломки компенсаторно-адаптационных механизмов при длительном влиянии токсиканта (Лукьяненко, 1967).

Таким образом, в условиях длительного воздействия токсических веществ, гидробионты реагируют однотипно: вслед за кратковременной адаптацией следует фаза срыва компенсаторных реакций и выраженной интоксикации. Это позволяет рассматривать адаптацию к токсическому загрязнению как фазу хронического отравления.

Однако фаза истощения сменяет фазу резистентности лишь в условиях продолжающегося воздействия токсического агента, и если его прервать, то жизнедеятельность гидробионтов может сохраняться без видимых последствий. По-видимому, временная адаптация более вероятна при загрязнении веществами органического яда. Их токсическое действие реализуется через центральную нервную систему, вследствие чего поражение выражается через функциональные сдвиги. Последние могут быть обратимы и нейтрализованы компенсаторными реакциями организма. Менее вероятна адаптация к ядам неорганической природы (кислоты, щелочи, тяжелые металлы и др.), действие которых сопровождается локальными поражениями органической природы (Львова, 1996).

Данные по изучению адаптивных возможностей гидробионтов к воздействию токсических веществ противоречивы. Для личинок комаров *Aporpheles dorsalis* выявлена неспецифическая толерантность по отношению к хлорофосу в техногенно загрязненных водоемах по сравнению с незагрязненными (Некрасова, 1989). Для популяции лягушек отмечено увеличение показателей абсолютного веса печени, почек, легких и жировых тел во всех возрастных группах из биотопов зоны промышленного загрязнения (Мисюра, 1989; цит. По: Безель и др., 1994). Другие авторы отрицают такие возможности (Альмова, 1985; Saliba, Ahsanullah, 1973; цит.: по Флерову, 1989), например, Б.А. Флеров (1989) отрицает наличие фенотипической адаптации гидробионтов к токсикантам, но признает роль отбора в приобретении устойчивости на примере гуппи *Lebistes reticulatus*, в основе чего лежит генотипическая адаптация.

На генетический характер адаптационных возможностей к тяжелым металлам морских одноклеточных водорослей, доминирующих в фитопланктоне Балтийского моря, указывает М.Я. Балодэ (1990).

Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ЭКОСИСТЕМНОМ УРОВНЕ

Как уже отмечено выше, именно биологические системы надорганизменного уровня являются основным предметом водной экотоксикологии. Токсические эффекты молекулярно-генетического и организменного уровней рассматриваются в качестве первичных токсических эффектов, имеющих следствием нарушение популяционных и экосистемных механизмов (Брагинский, 1977; Зилов, Стомм, 1990; Безель и др., 1994; Безель, Большаков, 1995).

Наиболее распространенный метод оценки качества вод – анализ структуры сообществ водных экосистем, так как биологическая структура и качество среды взаимосвязаны.

3.1. БИОИНДИКАЦИЯ ПО ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ ОРГАНИЗМАМ

3.1.1. Система сапробности Кольквитца-Марссона и ее модификации

Разработанная в 1908 г. система Кольквитца-Марссона, как уже было сказано, нашла широкое применение и считается сегодня классической. В ее основу положен принцип, отражающий отношение гидробионтов к кислороду, т.е. их оксифильность. Они предлужили водоемы и водотоки или их отдельные зоны в зависимости от степени загрязнения органическими веществами разделить на полимезо(а и b)- и олигосапробные.

Полисапробные воды характеризуются почти полным отсутствием свободного кислорода, значительным количеством сероводорода и углекислого газа вследствие восстановительного характера биохимических процессов. Они содержат большое количество неразложившихся высокомолекулярных соединений – белков, углеводов. Население таких вод бедно в видовом отношении, но зато отдельные виды развиваются в громадном количестве, например, олигохеты *Tubifex tubifex*. Из других представителей типичны бесцветные жгутиконосцы *Vodo utrinum*, *Oikomonas mutabilis*, инфузории

Paramecium putrinum, *Vorticella putrina*, личинки мухи *Eristalis tenax*, сине-зеленые водоросли *Oscillatoria putrida*.

Мезосапробные воды имеют 2 подгруппы:

– **α-мезосапробные**, содержат аммиак, amino- и амидокислоты, кислорода больше, чем в предыдущей зоне. Здесь типичны некоторые диатомовые, зеленые и сине-зеленые водоросли (*Oscillatoria*, *Formidium*), простейшие *Euglena viridis*, *Stentor coeruleus*, моллюски *Sphaerium corneum*, рачок *Asellus aquaticus*, личинки двукрылых *Chironomus*, не требовательные к кислороду виды рыб. α-мезосапробы характерны для полей орошения.

– **β-мезосапробные воды** содержат много кислорода, нередко перенасыщены им. Преобладают продукты минерализации белка – нитраты, нитриты. Видовое разнообразие β-мезосапробов выше, чем в предыдущей группе, но их численность и биомасса ниже. Характерны здесь диатомовые *Melosira varians*, *Diatoma* и *Navicula*, зеленые *Spirogyra crassa*, *Cladophora*, впервые появляются цветковые растения. Из животных разнообразны губки, мшанки, моллюски, ракообразные, рыбы.

Олигосапробные воды – практически чистые воды, содержание органических веществ не более 1 мг/л. Число сапрофитных бактерий не более 1 тыс./мл, кислорода – избыток. Для олигосапробных вод характерно большое видовое разнообразие. Встречаются некоторые диатомовые водоросли; обычные представители из цветковых – кувшинка белая; из животных – моллюск *Dreissena*, рачок *Bythotrephes*, реофильные личинки поденок, ручейников, рыбы – стерлядь, форель, голяки.

Совершенствуясь в течение многих лет со времени создания, система Кольквитца-Марссона стала наиболее детально разработанной среди систем биологического анализа (рис. 2). Тем не менее система несвободна от ряда присущих ей недостатков. Поскольку многие индикаторы сапробности приводятся для Средней Европы, даже в европейской части нашей страны система должна применяться с поправками, для конкретного водного объекта должны составляться свои региональные списки видов-индикаторов. Для Сибири и Дальнего Востока В.И. Жадин (1964, 1967) считал ее мало пригодной. Система может давать разные результаты на быстротекущих реках и стоячих водоемах. В настоящее время уже разработаны списки водорослей-индикаторов для Дальнего Востока (Барринова, Медведева, 1998). Уточнены и разработаны индикаторные группы организмов для р. Ангара (Кожова и др., 1979).



Рис. 1. История развития системы Кольквитца-Марссона и ее модификаций (по Jonson, 1995)

Существенным недостатком системы и ее модификаций является то, что она не учитывает степень естественной эвтрофированности вод (Полищук, Тарасевич, Онанко, 1983) как показателя поступления в воду биогенных элементов.

Немаловажным недостатком системы является трудность ее практического применения. Она требует детальной обработки материала до вида, а значит высококвалифицированных специалистов по систематике и много времени для видовой идентификации материала.

3.1.2. Методы определения уровня сапробности

Метод Кнеппа. Результаты биологического анализа, представленные в виде списков-индикаторов, Кнепп предложил представить графически (Макрушин, 1974а, б). Количество встреченных в пробе особей видов-индикаторов он оценивает по 7-балльной системе (1 – единично, 2 – мало, 3 – от мало до средне, 4 – средне, 5 – от средне до много, 6 – много, 7 – массово). Раздельно подсчитывают суммы баллов олигосапробов, β-, α-мезосапробов и полисапробов. Найденные суммы откладывают по оси ординат, причем суммы баллов олигосапробов и β-мезосапробов приняты за поло-

жительные, а α -мезосапробов и полисапробов — за отрицательные величины. По оси абсцисс откладывают расстояние между станциями. В результате соединения соответствующих точек прямыми получается фигура, состоящая из четырех частей, где для каждой станции видно соотношение видов-индикаторов. Отмечают и кривую «центра тяжести», показывающую средний балл (среднюю сапробность) исследованных участков вод. Полученный график назван Кнеппом «биологическим разрезом качества воды». Такой график дан нами для анализа качества вод р. Барнаулки по организмам зообентоса (рис. 2).

Метод Кнеппа позволяет оценить среднюю сапробность водного объекта и облегчает понимание результатов биологического анализа.

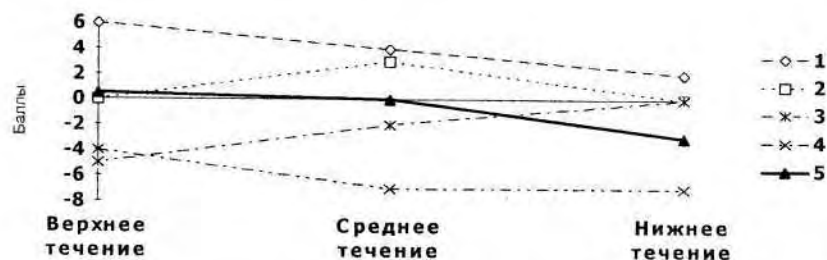


Рис. 2. Биологический разрез качества воды р. Барнаулки летом 1996 г. по организмам зообентоса: 1 — олигосапробы; 2 — β -мезосапробы; 3 — α -мезосапробы; 4 — полисапробы; 5 — линия «центра тяжести» (средний балл) (Безматерных, Мисейко, 1997)

Метод Пантле и Букка. Количественную оценку качества вод с применением математических расчетов предложили Пантле и Букк в виде индекса сапробности (S) (Pantle, Buck, 1955, 1956):

$$S = \sum s \cdot h / \sum h,$$

где s — индикаторная значимость вида;

h — относительная численность вида.

Индикаторная значимость (s) олигосапробов принята за 1, β -мезосапробов — 2, α -мезосапробов — 3 и полисапробов — 4. Относительное количество особей (h) высчитывается так: случайные находки — 1, частая встречаемость — 3 и массовое развитие — 5

баллов. В полисапробной зоне индекс равен 4–3,5, в α -мезосапробной — 3,5–2,5, в β -мезосапробной — 2,5–1,5, в олигосапробной — 1,5–1,0.

3.1.3. Система Вудивисса и ее модификации

Система Вудивисса позволяет оценивать степень загрязнения по видовому разнообразию и показательному значению таксонов в биотических индексах, который определяется по таблице (табл. 2).

Таблица 2

Классификация биологических проб по Ф.С. Вудивиссу (1964)

«Группы», присутствующие в пробе	Общее число присутствующих «групп»				
	0-1	2-5	6-10	11-15	>16
	Биотический индекс				
Присутствуют веснянки больше одного вида	-	7	8	9	10
только один вид	-	6	7	8	9
Присутствуют поденки больше одного вида ¹	-	6	7	8	9
только один вид ¹	-	5	6	7	8
Присутствуют ручейники больше одного вида ²	-	5	6	7	8
только один вид ²	4	4	5	6	7
Присутствует гаммарус	3	4	5	6	7
Присутствует азеллюс	2	3	4	5	6
Присутствуют тубифициды и/или красные личинки хирономид	1	2	3	4	-
Все вышеназванные «группы» отсутствуют, могут быть некоторые нетребовательные к кислороду виды, например, <i>Eristalis tenax</i>	0	1	2	-	-

Примечания: 1 — исключая *Baetis rodani*;
2 — *Baetis rodani* (поденка) включена в этот раздел.

Под термином «группа» подразумеваются организмы макрозообентоса, легко определяемые чаще всего до рода или более крупной систематической категории. Группы эти следующие: ракообразные (гаммарус, водяной ослик), личинки веснянок, поденок, хирономид (мотыль), ручейников, олигохеты тубифициды (Вудивисс, 1964).

Величина биотического индекса зависит от числа присутствующих «групп» и их видового разнообразия. Например, если на станции обнаружено от двух до пяти групп, среди них есть только один вид веснянок, биотический индекс будет равен 6. Если при таком же числе «групп» население составлено исключительно тубифицидами и красными личинками хирономид, то он будет равен 2.

Количество особей разных «групп» здесь не принимается во внимание. По системе Вудивисса биотический индекс принимает значение от 0 до 10. Он тем меньше, чем выше степень загрязнения. Индекс, равный 5 и ниже, указывает на выраженное загрязнение.

В отличие от системы Кольквитца-Марссона, система Вудивисса более проста и может использоваться персоналом средней квалификации. Система достаточно чувствительна, дает хорошие результаты на малых реках Сибири (Безматерных, 1998).

Система предназначена в основном для оценки загрязнения бытовыми стоками.

Система Вудивисса модифицировалась и расширялась разными авторами (Макрушин, 1974). Грехэм для рек Шотландии предложил свою классификацию гидробиологических проб. По его системе индекс загрязнения колеблется от 1 (самые чистые воды) до 6 (самые грязные воды). Верно и Тюфри модифицировали систему Вудивисса применительно к рекам Франции. Чандлер предложил учитывать при определении индекса загрязнения только количество особей, собранных за 5 минут лова. Самые чистые воды по Чандлеру имеют индекс загрязнения от 100 и выше, самые грязные — до 0.

В нашей стране система Вудивисса хорошо применима для рек западной, северо-западной и частично центральной части Европейской территории России. Региональные особенности фауны диктуют необходимость модификации системы Вудивисса для большей части рек остальной территории. Система Вудивисса модифицирована для средней Волги (Пшеницына, 1986), для малых рек Крыма (Биоиндикация и биотестирование..., 1986), для водных объектов Кольского Севера (Яковлев, 1986), однако таких работ на сегодня явно недостаточно.

Оценка качества воды по индексу Вудивисса для водных объектов нашей страны в ряде случаев затруднена и не согласуется с оценкой по другим показателям. Причиной может быть несбалансированность видового состава и индикаторных значений системы Вудивисса для условий конкретного региона. Так, на реках Карелии из числа индикаторных групп отсутствует группа бокоплавов. В Онежском озере личинки «ключевых» групп веснянок, поденок и ручейников вообще слабо представлены.

Неэффективной систему в предложенной Вудивиссом виде считают для нижней Волги и малых рек Латвии вследствие региональных особенностей фауны (Пареле, 1975).

Рассмотренные способы биологического анализа и оценки качества вод с применением различных биологических индексов достаточно разнообразны, имеют свои преимущества и недостатки. Единой общепризнанной системы биологического контроля качества вод в настоящее время не существует. Для каждого конкретного водного объекта и конкретной ситуации должны быть выработаны наиболее подходящие индексы с тем, чтобы обеспечить достаточно высокую точность данных и оперативность их получения.

Так, для сравнительного анализа использованных методик определения качества вод р. Барнаулки по зообентосу применялся корреляционный анализ (Безматерных и др., 1999). Полученные данные показали, что между использованными для биологического анализа индексами имеется большой коэффициент корреляции (табл. 3 и 4).

Таблица 3
Коэффициенты корреляции различных биотических индексов по зообентосу на р. Барнаулке

Индексы	Сапробности	Гуднайта и Уитлея	Вудивисса	Маргалёфа
Сапробности	—	0,76±0,25	-0,75±0,25	-0,94±0,13
Гуднайта и Уитлея	0,76±0,25	—	-0,81±0,22	-0,86±0,19
Вудивисса	-0,75±0,25	-0,81±0,22	—	0,90±0,16
Маргалёфа	-0,94±0,13	-0,86±0,19	0,90±0,16	—

Таблица 4
Коэффициенты корреляции биологических индексов
с различными факторами окружающей среды на р. Барнаулке

Индексы	Сапробности	Гуднайта и Уитлея	Вудивисса	Маргалейфа
Щелочность	-0,28±0,36	-0,55±0,32	-0,08±0,38	0,19±0,37
Кислотность	-0,03±0,38	0,18±0,37	-0,31±0,36	0,05±0,38
Концентрация кислорода	0,49±0,33	0,17±0,37	-0,47±0,33	-0,48±0,33
БПК ₅	0,80±0,23	0,65±0,29	-0,40±0,35	-0,71±0,27
Температура	-0,64±0,29	-0,83±0,21	0,44±0,34	0,56±0,31
Концентрация хл. «а»	0,27±0,36	0,69±0,27	-0,20±0,37	-0,31±0,36

Достоверность примененных на р. Барнаулке индексов показывает их высокая корреляция с БПК₅ (0,4–0,8). Меньшую корреляцию биологические индексы имели с концентрацией хлорофилла «а», который является лучшим показателем степени трофности вод, чем их сапробности.

В результате полученных данных индекс Вудивисса можно охарактеризовать как один из самых перспективных для мониторинга малых и средних рек бассейна рек Верхней Оби, так как он отвечает основным критериям мониторинга, таким как достоверность, простота применения и высокая чувствительность (Безматерных и др., 1999).

Иными были результаты при применении тех же индексов для озер Барнаульской системы. Коэффициенты корреляции между индексами резко снизились, особенно низкими они были у олигохетного индекса Гуднайта и Уитлея (0,08–0,40) и индекса Вудивисса (0,11–0,33).

Недостатки индекса Гуднайта и Уитлея при малых их абсолютных значениях уже отмечались в литературе (Пшеницына, 1986). Большая численность олигохет является достаточно хорошим показателем органического загрязнения, но их отсутствие не всегда является гарантией чистоты водного объекта.

Слабостью системы Вудивисса является ее малая достоверность при индикации крупных водоемов (Дзюбан, Слободчиков, 1981).

Так как доля ортокладиин и таниподин в фауне реки оказалась

ничтожной, то метод Е.В. Балушкиной (1989) оказался малоприменимым для применения на р. Барнаулке. Его коэффициент корреляции с другими методами колебался от 0,24 до 0,67.

Всегда существовала потребность в более простой и доступной системе биологического анализа. При этом усилия большинства авторов были направлены на поиск компромисса между точностью полученных данных и быстротой их получения.

3.2. БИОИНДИКАЦИЯ ПО ТРОФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ СООБЩЕСТВ

Известно, что по мере самоочищения водоема количество продуцентов увеличивается, а консументов сокращается (Кабанов, 1960). Соотношение этих групп организмов можно использовать для оценки степени загрязнения.

Габриэль предлагал применять соотношение числа видов продуцентов (водорослей) и суммы видов редуцентов (бактерий) и консументов (цилиат), а Вентцель вместо количества видов предлагал учитывать их биомассу (Макрушин, 1974).

Хорасава использовал для биоиндикации соотношение организмов, содержащих хлорофилл (А) и организмов без хлорофилла (В):

$$i = V/(A + B) * 100,$$

где *i* – индекс загрязнения.

В качестве организмов без хлорофилла он подразумевал простейших.

Вурман предложил оценивать санитарное состояние водного объекта по соотношению автотрофов (водорослей) и гетеротрофов (бактерий). Им выделено 16 ступеней загрязнений, для каждой из которых приведены характерные растительные сообщества. Недостатком системы является то, что некоторые автотрофные организмы могут питаться и гетеротрофно.

3.3. БИОИНДИКАЦИЯ ПО КРУПНЫМ ТАКСОНАМ

Этот принцип более чувствителен при сильном загрязнении водных объектов, при небольшом загрязнении лучше пользоваться другими системами, где определение материала идет до вида.

Широко используется биоиндикация по крупным таксонам зообентоса. Часто при этом используется такой показатель, как степень развития в донной фауне олигохет (даже без более точного их определения), их численность в экз./м².

Можно судить о состоянии вод по соотношению олигохет и всех других организмов зообентоса — индекс Гуднайта и Уитлея (Goodnight, Whittley, 1961), по соотношению олигохет и личинок насекомых — индекс Кинга и Балла (King, Ball, 1964).

Для участков рек, где высока доля хирономид, применяют индекс Е.В. Балушкиной (1976). Он тоже не требует определения точного видового состава, а учитывает соотношение численности личинок разных по требовательности к кислороду подсемейств Tanypodinae (выносящих сильное загрязнение), Orthocladinae (очень чувствительных к недостатку кислорода) и Chironominae.

3.4. БИОИНДИКАЦИЯ ПО ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ СООБЩЕСТВ

Помимо структурных характеристик состояния водных экосистем их благополучие или неблагополучие можно оценить, используя их функциональные параметры, пока еще недостаточно широко применяемые. Функциональные показатели позволяют задолго до начала структурных изменений заметить изменение состояния экосистемы водоема на разных стадиях эвтрофирования и загрязнения.

Высокая чувствительность метода функциональных показателей позволяет выявить нарушения, которые не могут уловить другие биологические и химические методы (Драчев, 1964). Хайнс отмечал, что некоторые бактерии и грибы быстро размножаются при столь низких концентрациях органического вещества, которое много ниже существующих ПДК.

Один из основных интегральных параметров функционирования экосистем — *биологическая продуктивность*. Продуктивность каждой популяции в экосистеме зависит от ее структуры, специфических особенностей роста особей и от состояния внешней среды. Последнее все чаще определяется формой хозяйствования на водном объекте. С биологической продуктивностью тесно связаны такие свойства, как устойчивость и изменчивость экосистем, способность к саморегулированию и самовосстановлению.

Определение первичной продукции нередко дает хорошие результаты для диагностики состояния экосистем под влиянием загрязнения. В настоящее время широко применяется *скляночный метод определения первичной продукции*, детально разработанный Г.Г.

Винбергом (1960). Метод основан на валовом уравнении фотосинтеза ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2$), в котором количество потребленной углекислоты или количество выделившегося при фотосинтезе кислорода пропорционально количеству органического вещества.

Наряду с первичной продукцией определяют и величину аэробной деструкции органического вещества, или БПК (*биохимическое потребление кислорода*). БПК — показатель загрязнения воды, характеризующийся количеством кислорода, которое за установленное время (обычно 5 суток) пошло на окисление химических загрязнителей, содержащихся в единице объема воды (Реймерс, Яблоков, 1982). Определение БПК имеет вековую историю и стало одним из наиболее распространенных элементов биологического анализа качества вод. Определяют БПК за 1, 3, 5 суток, а также полное БПК (за 20–30 суток), тем же скляночным методом, что и первичную продукцию.

Задачи оперативного мониторинга, в отличие от дистанционных методов, требующих длительного времени на экспозицию скляночек, привели в настоящее время к появлению БПК-сенсоров. Они основаны на взаимодействии кислородных электродов с иммобилизованными клетками микроорганизмов и позволяют оценить БПК за считанные минуты. В области создания БПК-сенсоров лидирует Япония (Наумов и др., 1996).

В качестве показателя благополучия экосистемы можно использовать *отношение продукции (P) к энергии, рассеиваемой сообществом (суммарным энергозатратам на обмен) (R)*. Величина P/R, как правило, увеличивается с повышением загрязнения и уменьшается по мере самоочищения. В олиготрофных водоемах и водотоках отношение валовой первичной продукции к аэробной деструкции (фитопланктона) менее 1, в эвтрофных — около 1 или выше, в мезотрофных — близко к 1 (Общие основы..., 1979). По мнению А.Ф. Алимova (1986) между отношением P/R и биотическим индексом Вудивисса существует тесная связь, что позволяет рассматривать этот показатель как надежный критерий оценки сапробности вод.

Хорошим показателем увеличения загрязнения является *отношение продукции организмов (P) к их биомассе (B)*. Коэффициент P/B всегда выше в более загрязненных системах по сравнению с менее загрязненными. Изменение коэффициента P/B в зависимости от загрязнения отчетливо прослежено при оценке экологического благополучия отдельных участков Днепра, Оки, Волги, Припяти, Западной Двины, Свислочи и ряда озер (Попченко, 1994).

Для биоиндикации в качестве функционального показателя мож-

но использовать величину отношения (K) общего дыхания (R) сообществе водных организмов к его суммарной биомассе (B) (Попченко, 1994):

$$K = R/B.$$

Одной из причин недостаточного использования функциональных показателей в системе контроля качества поверхностных вод является динамичность функционирования водных сообществ, а также широкая пространственно-временная неоднородность их характеристик, значительные сезонные колебания, поэтому для широкого использования функциональных показателей в целях биондикации необходимо сначала установить градации этих показателей в зависимости от состояния водных экосистем. А с целью долгосрочного прогнозирования желательно построить их типовые модели функционирования в норме и при разной степени воздействия антропогенных факторов. Это можно сделать на разнотипных экспериментальных полигонах в разных ландшафтно-экологических зонах, различающихся по экологической ситуации. В качестве таковых могут служить многие водные объекты, где в течение многих лет ведутся регулярные системные исследования (Попченко, 1994).

Важным преимуществом функциональных методов является их большая оперативность по сравнению с традиционными структурными гидробиологическими методами оценки состояния водных экосистем. Функциональные показатели являются важными и с точки зрения основных задач охраны природных вод, поскольку они позволяют перейти к экспресс-оценке процесса формирования качества вод.

3.5. БИОНДИКАЦИЯ ПО БИОЛОГИЧЕСКОМУ РАЗНООБРАЗИЮ

В настоящее время при биологическом контроле качества вод широко применяются различные индексы, характеризующие биологическое разнообразие. С увеличением степени загрязнения видовое разнообразие, как правило, уменьшается. Оценка степени загрязнения по видовому разнообразию применима к любым видам загрязнения.

При тех или иных воздействиях на сообщество происходит перестройка его структуры. Если воздействие достаточно сильное, то изменение в сообществе видно по изменению его видового состава. Однако, часто необходимо фиксировать более тонкие изменения в

экосистеме, на более ранних стадиях выявлять реакцию сообществ на ухудшение условий среды. При небольших воздействиях в сообществе происходят изменения в количественных соотношениях между численностями различных видов. Доминант может стать субдоминантом или редким видом, вместо одного доминанта их может стать несколько и т.д. Детальный анализ этих изменений можно сделать лишь с переходом на количественный уровень оценки. Лучший путь количественной оценки структуры сообществ — определение индексов биологического разнообразия. Вместе с тем, само понятие «биологическое разнообразие» сложно и многогранно (Чернов, 1991). В настоящее время предложено более 20 индексов, в связи с чем перед исследователями встает проблема выбора необходимого показателя.

Индекс видового разнообразия в совокупности с другими биологическими показателями качества среды отражает не только число видов, но и их выравненность, сбалансированность, что возможно только в нормально функционирующих экосистемах. Могут быть использованы индексы, предложенные разными авторами.

Наиболее часто видовое разнообразие определяется индексом Маргалефа:

$$d = (S-1)/\ln n,$$

где S — число видов, $\ln n$ — натуральный логарифм числа особей.

Индекс d принимает максимальное значение, если все особи принадлежат к разным видам ($S = n$) и равен 0, когда все особи принадлежат к одному виду ($S = 1$).

Индекс видового разнообразия Маргалефа зообентоса р. Барнаулки по станциям отбора проб в 1996–1998 гг. изменялся от 0 до 4, наименьшее значение он имел в районе от устья реки до АЗА, где происходит наибольшее загрязнение реки (Безматерных и др., 1999; Безматерных, Мисейко, 2000а).

Большинство исследователей считают наиболее оптимальным индекс Шеннона (Терещенко и др., 1994). Он предложен еще в 1963 году для оценки степени структурированности биоценозов как степень упорядоченности (информированности) системы (Шеннон, 1963):

$$H = - \sum P_i \ln P_i,$$

Индекс Шеннона может хорошо согласовываться с индексом Маргалефа. Так, для р. Барнаулки индекс Шеннона зообентоса в точности повторяет колебания индекса Маргалефа, но с меньшей амплитудой: от 0 в устье до 1,5 выше Лесного пруда (Безматерных и др., 1999).

Мерой загрязненности водной среды может служить *индекс сходства* двух сообществ гидробионтов, обнаруженных на загрязненном и на условно чистом («контрольном» или «фоновом») участках. Наиболее часто употребляемые индексы сходства можно разделить на две группы (Максимов, 1984). Одна из них объединяет показатели, учитывающие только число видов в одном из сообществ а, число видов из сообщества в и число видов с, общих для сравниваемых сообществ. К числу таких относятся индексы:

$$\text{Жаккара: } K = c/(a + b - c);$$

$$\text{Серенсена: } K = 2c/(a + b);$$

$$\text{Маунтфорда: } K = \frac{2c}{2ab - (a + b)c}.$$

Среди индексов первой группы наиболее чувствительны индексы Жаккара и Серенсена.

Вторая группа объединяют индексы, при расчете которых учитывается в той или иной форме обилие каждого из видов в обоих сообществах. Наиболее употребительны среди них индексы Шорыгина (Максимов, 1984) и В.Д. Федорова (1979):

$$\text{индекс Шорыгина: } K = \sum_i \min(p_{i1}, p_{i2}),$$

где $\min(p_{i1}, p_{i2})$ — меньшее из двух относительных обилий (по численности или биомассе) в сравниваемых сообществах;

$$\text{индекс Федорова: } K = \frac{\sum_i (n_{i1} - n_{i2})}{\sum_i \max(n_{i1}, n_{i2})},$$

где $\max(n_{i1}, n_{i2})$ — максимальное из двух значений численности в сравниваемых сообществах.

Наибольшая чувствительность по отношению к видовому различию двух сравниваемых сообществ отмечена В.Н. Максимовым (1984) у индекса В.Д. Федорова.

Глава 4. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ОРГАНИЗМЕННОМ И ПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЯХ

Основным методом биологического анализа на организменном и популяционном уровне организации является *биотестирование*. Биотестирование имеет давнюю историю. В Англии в 1913 г. впервые метод БПК был применен не только в качестве показателя содержания окисляемых за счет биохимических процессов органических веществ, но и токсичных для бактерий (Лесников, 1983). Для этого определение БПК проводили в серии разбавлений загрязненной воды. Значение БПК резко возрастало с того разбавления, где снимается бактерицидное действие воды. Позднее Кнепп (Тест AZ..., 1975) разработал AZ-тест — определения БПК в модифицированном виде. Прозрачную склянку с внесенной туда стандартной культурой микроорганизмов выдерживали на свету, о наличии токсических веществ судили по соотношению фотосинтеза и потреблению кислорода, так как фотосинтез при наличии токсических веществ подавляется первым.

В Англии широко применялся для оценки токсичности сточных вод метод изучения поведенческих реакций форели. В США для оценки токсичности сточных вод была предложена концентрация токсикантов 0,1 от LC_{50} за 48 или 96 часов. Рыбу в качестве тест-объекта использовали и во Франции (Лесников, 1983). Но стандартные методики биотестирования были разработаны только в 70-х годах.

Идея биотестирования в нашей стране была предложена в конце XIX в. выдающимся отечественным ихтиологом и рыбоводом О.А. Гриммом. По его инициативе выполнены первые экспериментальные токсикологические работы по изучению воздействия нефти на рыб Волги. Показателем токсичности служила выживаемость подопытных рыб в острых опытах (продолжительностью от нескольких часов до нескольких суток). Н.К. Чермак и И.Н. Арнольд впервые применили метод «рыбной пробы», который потом стал одним из основных методов отечественных и зарубежных ихтиотоксикологических исследований (Лукьяненко, 1983). Но активно биотестирование в СССР начали разрабатывать в 30-х годах (Флеров, 1983). С 1956 г. регулярно проводят биотестирование с помощью *Daphnia magna*, позднее этот метод был подробно разработан и описан Л.А. Лесниковым (1971, 1983).

Для тестирования сточных вод во время экспедиции по Волге были использованы помимо *D. magna* большой прудовик *Lymnaea stagnalis* и гуппи *Lebistes reticulatus* (Строганов и др., 1974), т.е. уже три разных по уровню организации вида, обладающих разной токсикорезистентностью (устойчивостью к токсикантам).

В анализе сточных вод тест-объект *D. magna* успешно использовался в течение многих лет сотрудниками Петрозаводского университета для Байкальского ЦБК и Селенгинского ЦКК (Кондратьева, 1980).

К 1958 г. были разработаны и опубликованы первые ПДК, предложенные ВНИОРХ в качестве «Временных правил охраны рыбохозяйственных водоемов от загрязнений». В 1961 г. они были утверждены как обязательные «Правила по охране поверхностных вод от загрязнения сточными водами». С 1966 г. работы по установлению ПДК стала проводить созданная в Петрозаводском университете Лаборатория водной токсикологии. В 1967 г. Государственная санитарная инспекция утвердила ПДК для 177 веществ.

При научном совете АН СССР по проблеме «Гидробиология, ихтиология и использование биологических ресурсов водоемов» работала Комиссия по водной токсикологии, которая организовывала совещания и конференции. Еще в 1970 г. Н.С. Строганов (1970) поставил вопрос о возникновении хемомутаций, вызывающих стойкие наследственные изменения гидробионтов в условиях химически измененной водной среды.

С 1973 г. ведутся эколого-токсикологические и токсико-генетические исследования в Научно-исследовательском институте биологии при Иркутском государственном университете (ИГУ). Эти исследования имеют исключительно важное значение для Сибири с такими ее уникальными водными объектами, как Байкал, Ангара, Лена. Один из главных объектов токсикологических исследований — водоросли, прежде всего байкальские, среди которых есть эндемичные виды (Кожова, Тимофеева, 1983; Стом и др., 1974, 1993). Другое направление работ института — оценка отдельных генетических последствий действия токсикантов, которая решается путем оценочного, диагностического и прогностического мониторинга (Кожова, Павленко, 1979). В качестве модельных тест-объектов цитогенетического мониторинга используют бактерии *Salmonella typhimurium* (штаммы TA1535 и TA1538 — модель Эймса), применяемые при скрининге (от англ. screen — сито, просеивать) — выявлении мутагенов; различные штаммы дрожжей-сахаромицетов (штаммы 15ПУ и 1ПГ61), дафнии и дрозифилы (Кожова, Тимофе-

ева, 1983). В НИИ биологии при ИГУ проведено биотестирование промышленных сточных вод Байкальского ЦБК с использованием реликтового байкальского рачка *Epischura baikalensis*, составляющего 90% биомассы зоопланктона (Кондрашова, 1980, 1983). Всего в НИИ биологии ИГУ использовано более 30 различных биотестов, в том числе 3 вида водорослей, 1 — простейших, 5 — червей, 1 — моллюсков, 11 — ракообразных, 8 — рыб (Бейм, 1986).

Но только в последнее время научная общественность нашей страны осознала, что биотестирование должно стать обязательным элементом современной системы контроля качества вод. Токсичность (острое и хроническое действие) включена в показатели, нормируемые при оценке качества воды. Перспективность контроля токсического загрязнения обоснована исследованиями многих научных коллективов: Московского, Санкт-Петербургского, Петрозаводского, Нижегородского и Иркутского университетов, а также институтов: Иркутского политехнического, Гидрохимического (ГХИ, г. Ростов-на-Дону) и Биофизики СО РАН (г. Красноярск). Они разрабатывали эту проблему с 1981 г. и являлись координаторами работ по биотестированию природных вод и оценке токсикологического состояния водных объектов Российской Федерации. ГХИ в сотрудничестве со специалистами Московского, Иркутского, Нижегородского, Петрозаводского, Одесского, Ярославского университетов и других учреждений в рамках общегосударственных научно-технических программ на 1981–1990 гг. проводил работы по ревизии и усовершенствованию существующих и апробации новых методов биотестирования с целью разработки нормативно-методических документов государственного и ведомственного уровня. При выполнении этих работ был исследован уровень токсического загрязнения более чем 20 водных объектов: на р. Волге и волжских водохранилищах, реках Московской области, реках Обь, Дон, Енисей, Томь, Иртыш, на Братском и Красноярском водохранилищах, реках Алтайского края и прочих водных объектах (в соответствии с РД 118-02-90). Установлено, что качество воды большинства обследованных водных объектов не соответствует установленным нормам, причем в ряде случаев зарегистрировано не только токсическое, но и острое токсическое загрязнение. На сегодня в Единой государственной системе экологического мониторинга разработан руководящий документ по биотестированию — РД 52.24.309.92 (Хоружая и др., 1996). Однако разработанные на сегодня методики биотестирования пока не нашли широкого применения в государственных службах (Хоружая и др., 1996).

По определению О.Ф. Филенко (1988), биотестирование представляет собой методический прием, основанный на оценке действия фактора среды, в том числе и токсического, на организм, его отдельную функцию или систему организмов. Более подробную формулировку биотестирования дают А.А. Зенин и Н.Б. Белоусова (1988): «Биотестирование – один из приемов определения степени токсического действия физических, химических и биологических неблагоприятных факторов среды, потенциально опасных для живых организмов экосистем, в контролируемых экспериментальных лабораторных или природных условиях путем регистрации изменений биологически значимых показателей исследуемых водных объектов с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранным критерием токсичности». Вопросы терминологического характера отражены в работе Б.А. Флерова (1989).

Основной принцип биологического тестирования сводится к оценке достоверных различий между опытом (среда, содержащая токсиканты) и контролем (чистая вода) по какому-либо показательному биологическому параметру тестируемого объекта, указывающему на полное или частичное угнетение жизненных функций тест-организмов под влиянием испытываемой воды или индивидуальных токсикантов в определенных концентрациях (Брагинский и др., 1979; Патин, Айвазова, 1981; Крайнюкова, 1988).

Несмотря на важность химических и физических анализов, обеспечивающих получение базовой информации о концентрации различных поллютантов и физических изменениях, биологическая оценка качества среды оказывается приоритетной по двум причинам. Во-первых, только биологическая оценка дает возможность интегральной характеристики качества среды, находящейся при всем многообразии воздействий, во-вторых, – характеристику здоровья среды, ее пригодности для живой природы и человека (Флеров, 1989; Стом и др., 1993; Захаров, Кларк, 1993).

Особенностью методологии биотестирования является то, что для оценки здоровья экосистемы используются не экосистемные и популяционные параметры как таковые, а показатели состояния организмов разных видов. С точки зрения используемых методов подразделение системы мониторинга на *молекулярный, клеточный, организменный, популяционный и экосистемный* уровни организации живого вполне оправдано, в то время как по сути объектом слежения при биологическом подходе в любом случае является состояние живого организма. Характеризуя молекулярные, клеточные, тканевые или организменные процессы, параметры и мето-

ды, используемые при этом, могут быть различными, все они представляют интерес лишь как показатели состояния живого организма (Захаров, Кларк, 1993).

Биотестирование по сравнению с гидрохимическим анализом методологически более совершенно и может существенно ограничить объем громоздких гидрохимических работ и занять приоритетное место в системе контроля как природных, так и питьевых, и сточных вод.

В Международном комитете по стандартизации большинства западных стран (США, Германия, Франция) принятые биотесты сравнительно просты, методики биотестирования стандартизованы (Соколова, Айвазова, 1983; *Biossay procedurus...*, 1976; *Determination...*, 1974; Muller, 1980).

Так, для определения предельно допустимых уровней загрязнения и разработки критериев качества воды в США используются унифицированные методы оценки токсичности водной среды (*Review of ERA...*, 1979). В Германии с января 1987 г. вступил в силу закон о водном хозяйстве в новой редакции, в котором существенное внимание уделяется биологическим методам оценки качества сточных вод (Руссо, 1986; Malz, 1987). Информационная система токсичности воды США содержит сведения по результатам биотестирования, проведенного на основе 45–50 тест-исследований с использованием 145 тест-организмов (Захарченко и др., 1994).

Токсикологические методы оценки качества воды и аппаратура для их реализации разрабатываются и все шире используются и в ряде других стран: Англии, Франции, Швеции, Швейцарии, Чехословакии (Крайнюкова, 1988).

4.1. ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ

Анализ литературных данных убедительно свидетельствует об огромном разнообразии тест-объектов, предлагаемых исследователями. Несмотря на то, что диапазон организмов, используемых в качестве тестов, весьма широк (от бактерий к микро- и макроводорослям, высшим водным растениям, беспозвоночным, позвоночным, млекопитающим), нет и не может быть одного такого организма, который был бы универсально чувствительным ко всем существующим токсикантам.

Различают два типа тест-объектов: *индикаторные и представительные* (Брагинский и др., 1979; Веселов, 1984; Бейм, Зоммер, 1986; Тимофеева, 1986). К первым принадлежат организмы с наи-

большой степенью чувствительности к токсикантам различных классов, ко вторым — организмы, наиболее полно представляющие определенный гидробиоценоз, например рачок эпишура в оз. Байкал, мизиды в Придунайских лиманах и т.д. (Бейм, Зоммер, 1986; Афанасьева, 1986). Применение представительных тест-объектов позволяет разрабатывать нормативы на качество воды применительно к разным регионам и типам водных объектов (Каминский, 1980).

Поскольку во многих случаях живые организмы обладают большей чувствительностью в распознавании токсического вещества, чем самые точные аналитические методики (Кратасюк, Гительзон, 1982; Туманов, Постнов, 1984; Туманов и др., 1988), то это свойство, присущее индикаторным организмам, представляет особый интерес. Однако однозначного ответа, токсично ли вещество и насколько токсично, бывает мало. Поэтому исследователь обращает свое внимание на представительные организмы, которые по своим физиологическим и биологическим свойствам близки к той группе организмов, которая в большей степени характерна для данного водоема. Например, если какой-то вид рыб имеет промысловое значение, то лучше для биотестирования брать именно этот вид, т.е. выбор организма для тестирования определяется задачами, которые ставит перед собой токсиколог (Стом и др., 1993). Исследуя токсичность 75 инсектицидов и гербицидов для различных животных — от моллюсков до млекопитающих, Е. Кенага показал, что для раннего ее определения наиболее чувствительными являются крысы, рыбы и дафнии (Kenaga, 1978).

Основные требования к тест-объекту (по Рожнову и др., 1995):

- чувствительность;
- экспрессность получения информации;
- простота культивирования;
- небольшие размеры;
- дешевизна;
- возможность надежных приемов снятия прижизненных параметров;
- однозначность трактовки биологического смысла изменения роста, морфологической структуры, поведения, синтеза макромолекул, метаболизма;
- желательно, чтобы изучаемая функция или процесс были общими для организмов, стоящих на разных ступенях эволюции животных.

На первых этапах биотестирования много внимания уделялось

рыбам как тест-объектам, поскольку водоемы оценивали прежде всего как поставщиков рыбы. Именно снижение уловов, вызванное ухудшением качества воды, послужило одной из причин возникновения водной токсикологии (Иванова, 1982). По мере роста промышленности и загрязнения воды все острее вставал вопрос о чистоте воды вообще, а не только применительно к ихтиофауне. Поэтому определяющим тест-объектом становятся низшие ракообразные — дафнии, как относительно дешевый для культивирования гидробионт, высокочувствительный, с коротким жизненным циклом (Лузгин, Лесников 1983; Туманов, Постнов, 1984; Макрушин, 1988; Методы водной токсикологии, 1988). Н.Я. Воробьева с соавт. (1978) рекомендуют использовать рачков дафний в качестве основного тест-объекта. Водоросли, моллюски и рыбы могут использоваться как дополнительные тесты.

Только для США и Канады к 1984 г. в базу данных информационной системы по токсичности стоков сложного состава введены сведения о 1500 биотестах, где в качестве тест-объектов использовано около 150 пресноводных и морских организмов. Среди них водоросль *Oscillatoria limnetica*; ракообразные *Gammarus lacustris*, *G. fasciatus*, *G. pseudolimnaeus*, *Artemia salina*; моллюски *Mytilus edulis*, *Physa integra*; насекомые *Chaoborus punctipennis*, *Camptochironomus tentens*, *Chironomus riparius*, *Glyptotendipes* sp.; рыбы карпоzubики *Cyprinodon variegatum*, усачи *Barbus tictio*, малорослый окунь *Micropterus dolomieu*, сельдевидный сиг *Coregonus clupeaformis*, восточная сельдь *Clupea harengus palasi*, карась серебряный *Carassius auratus*, карп чешуйчатый *Cyprinus carpio* и др. (Руссо, 1986).

Гидробионты как объекты биотестирования в качестве биологических анализаторов изучены в неодинаковой степени. Имеющиеся на сегодня данные по чувствительности различных биообъектов к различным классам соединений свидетельствуют о больших возможностях практического использования их в качественном и количественном биотестировании загрязнений (Туманов, Постнов, 1983). Поиск высокочувствительных биологических объектов как анализаторов химического состава водной среды продолжается. В связи с этим представляет интерес обзор используемых в нашей стране тест-объектов.

Микроорганизмы

Важное преимущество использования микроорганизмов для биотестирования — их высокая скорость воспроизводства. Например,

период репродукции *Pseudomonas* и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* составляет 50–60 мин., для *Escherichia coli* – 5–10 мин. (Тушкова, Печуркин, 1978). При этом легко получить однородный в генетическом, временном и прочих отношениях материал. Важность результатов микробиологического биотестирования определяется огромной ролью микроорганизмов в процессах жизнедеятельности водоемов, как в процессах очищения, так и в качестве одного из первых звеньев трофической цепи (Ротмистров и др., 1978), и вообще в круговороте веществ (Будыко, 1984).

Бактерии. Для оценки токсичности некоторых компонентов сточных вод могут быть использованы *физиолого-биохимические реакции* бактерий, например потребление кислорода. Известно предложение использовать для оценки острой токсичности бактериальный электрод, в качестве тест-культуры – бактерии *E. coli*, а тест-реакции – скорость продукции углекислого газа (Стом и др., 1993).

Исследуя ультраструктуру клеток фотобактерий *Beuversia harveyi* в электронном микроскопе, С.Е. Медведева с соавторами (1988) показали, что при обработке клеток фенольными соединениями и солями тяжелых металлов в концентрациях, вызывающих 50-процентное гашение люминесценции, влияние токсикантов на жизнеспособность клеток неодинаково. Хлорид кадмия оказывает наиболее сильное влияние, вызывая гибель около половины клеток популяции. Далее следуют резорцин, *p*-бензохинон, гидрохинон, хлорид ртути и пирокатехин.

В настоящее время широко используются светящиеся бактерии *Photobacterium phosphoreum*, о которых подробнее рассказано в разделе «Биолюминесцентный метод».

Дрожжи. Дрожжи-сахаромицеты штамма 15В-П4 применяются при биотестировании токсико-генетических свойств сточных вод Байкальского и других комбинатов целлюлозно-бумажной промышленности. Токсичность по летальному и мутагенному действию оценивают по увеличению ядерных ауксотрофных и дыхательных митохондриальных мутантов (Павленко, 1986).

При определенных условиях культивирования дрожжи склонны к полиморфизму, что может привести к неточной интерпретации результатов. Например, содержание углерода в питательной среде может быть лимитирующим при концентрации 3–5 г/л и ингибирующим при 10^{-20} г/л. Такие разные условия культивирования приводят к неодинаковому влиянию токсикантов (например, сернокислой меди) на тест-объект, т.е. к изменению величины константы ингибирования. В условиях низкой концентрации глюкозы, обес-

печивающей окислительный обмен, устойчивость к действию ионов меди у всех исследованных штаммов дрожжей выше, чем при высоких концентрациях глюкозы (10–20 г/л), обеспечивающей гликолизный обмен. Константы ингибирования при гликолизном обмене у изучаемых дрожжей примерно в два раза выше, чем в условиях окислительного обмена (Фуряева, Тушкова, 1989б).

Вещества-токсиканты могут проявлять свое действие на клетки, увеличивая или уменьшая продолжительность репликации и скорость роста. Так, при концентрации в среде 160 мг/л фурфурола, удельная скорость роста популяции дрожжей *S. vini* снижается с 0,5 ч⁻¹ до 0,11 ч⁻¹. При одновременном двухфакторном ограничении роста (той же концентрации фурфурола и повышенной температуре +40 °С) блокируется процесс отделения дочерних клеток при более низкой концентрации фурфурола, а удельная скорость популяции в этом случае вдвое ниже, чем при однофакторном ограничении (Фуряева, Тушкова, 1989а).

Несмотря на высокие уровни лабильности, основанные на ростовой реакции микроорганизмов, методы биотестирования очень наглядны и просты в исполнении.

Водоросли

В качестве тест-объектов широко используются культуры зеленых протокочковых водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlorella vulgaris*, сине-зеленых *Microcystis aeruginosa*, морских желто-зеленых *Phaeodactylum tricornutum*. Для оценки состояния организмов этих видов используют методы люминесценции в ультрафиолетовых или сине-зеленых лучах, флуоресценции хлорофилла и длительного послесвечения хлорофилла (замедленной флуоресценции) при возбуждении видимым светом (Дмитриева и др., 1989).

Высшие водные растения

Среди высших водных растений (макрофитов) как тест-объекты используются погруженные формы элодеи *Elodea canadensis* и полупогруженные формы ряски, являющиеся наиболее обычными представителями большинства водных объектов (Строганов и др., 1983).

Ряска – самые маленькие плавающие цветковые растения. В качестве тест-объектов используют три вида рясок: *ряска малая* (*Lemna minor*), *ряска тройчатая* (*L. trisulca*) и *многокоренник обыкновенный* (*Spirodella polyrrhisa*). На них исследовано действие пестицидов, кислотных дождей и солей тяжелых металлов (Филипчук, Цаценко,

Миткова, 1996). В качестве основного критерия токсического действия применяли коэффициент роста (прирост); время проведения опыта — 7 суток, контроль — дистиллированная вода. Для тяжелых металлов и пестицидов выявлено уменьшение коэффициента прироста от 2 до 10 раз, для кислотных осадков — отсутствие прироста и гибель растений уже на вторые сутки.

Ряска малая в качестве тест-объекта используется для изучения отдаленных последствий действия грунта, загрязненного нефтью, что актуально при развитии нефтегазового комплекса в Западной Сибири. Воздействие нефтяного загрязнения замедляет рост растений, вызывает повышенную гибель клеток, снижает концентрацию хлорофилла и повышает концентрацию каротиноидов (Петухова, Никонова, 1996).

Много экспериментальных данных по биотестированию получено на элодею. Ее применение в этом качестве определяется легкостью содержания в лабораторных условиях, быстротой роста и развития, наглядностью ответных реакций на токсические воздействия (Король, 1984; Король, Филенко, 1986).

Элодея — погруженное и укореняющееся растение, обитатель неглубоких водоемов. Для биотестирования растения собирают из естественной популяции чистого водоема, отсюда же берут и воду для контроля. В лаборатории растения помещают в широкие неглубокие емкости (10–15 л), где они акклиматизируются 10 суток. Критерии оценки: общее состояние растений и их выживаемость, прирост основного побега, число и длина боковых отростков, число и длина корней. Для установления остротоксичной концентрации (LC_{100} или LC_{50}) проводят 5–10-суточный опыт. Для выявления хронического действия токсических веществ проводят 30-суточные опыты, в этом случае можно устанавливать ПДК загрязняющих веществ (Король, 1989б). Критерием токсического эффекта служит снижение выживаемости более чем на 7% по сравнению с контролем, прироста основного побега — на 25%, числа и длины боковых побегов — более 50%, числа и длины корней — более 60%. В случае стимулирующего эффекта проявлением токсического действия следует считать статистически достоверное увеличение показателей. В качестве экспресс-метода предлагается оценка выживаемости растений в течение 5–10 суток и снижение прироста основного побега от 25 до 0%.

Методом биотестирования с помощью элодеи и ряски *Lemna minor* были установлены максимально допустимые концентрации для триметилловохлорида и триамилловохлорида (0,001 и 0,0 мг/л соответственно) (Король, 1979, 1989б).

Простейшие

Простейшие интересны тем, что сочетают в себе признаки отдельной клетки и целого организма. Они могут рассматриваться как простые рецепторно-эффекторные системы, обладающие способностью реагировать на токсическое воздействие целым комплексом биологических, физиологических и биохимических изменений: скоростью размножения, направлением и скоростью перемещения, реверсией ресничной активности, питанием, поглощением из среды различных веществ и т.д. Простейшие широко распространены в водных объектах, легко культивируются в лабораторных условиях. Особенно многочисленны работы по биотестированию на ресничных простейших (инфузориях) рода *Paramecium*.

На локальное изменение условий обитания *парамеции* отвечают реакцией избегания, резкое изменение химизма среды вызывает у них шоковую реакцию. Действие щелочных и щелочно-земельных металлов сопровождается отрицательным хемотаксисом (Догель и др., 1962). Растворы сильных кислот быстро приводят к лизису клеток, в растворах слабых кислот наблюдается скопление инфузорий. Повышенные концентрации химических веществ подавляют реакцию хемотаксиса. Устойчивость к органическим веществам *парамеций* обычно выше, чем к неорганическим (Гольд и др., 1977). Тяжелые металлы в составе органических соединений оказывают на *парамеций* сильное токсическое действие (кремний), вплоть до их гибели (галлий) (Постнов и др., 1980). Показана также прямая корреляционная связь между антилизоцимной активностью и концентрацией нефтепродуктов в воде и ее биотоксичностью (Бухарин и др., 1996).

Среди ресничных инфузорий первыми в качестве тест-объектов были предложены *Paramecium caudatum* А.Е. Веселовским (1969) и Осиповой (1969). На *P. caudatum* отработывались методики содержания культуры в опытных условиях (Рябухин, Блинкова, 1978), критерии токсичности (Серавин, 1957, 1958, 1983; Голубкова, 1983). *P. caudatum* широко применяется при изучении токсичного воздействия пестицидов. О действии пестицидов в острых и хронических опытах судят по морфологическим (форма и размеры клеток) и физиологическим (поведение, локомоторная функция, выживаемость, функционирование сократительных вакуолей, время генерации) показателям (Олексив, Андрущитин, 1991).

Гораздо меньше данных по биотестированию на других инфузориях: *Spirostomum* (Серавин, 1961, 1962; Данильченко, Тушманова, 1983; Данильченко и др., 1989) и *Tetrachymena* (Ирлина, 1989; Усенко и др., 1989). Оценка функционального состояния *Spirostomum ambiguum* идет по уровню двигательной активности, ее способности к продольному сокращению после часового пребывания в острой токсичной среде или суточного (в случае отсутствия острой токсичности) (Данильченко и др., 1989).

Окрашенные жгутиконосцы — хламидомонады и бесцветные жгутиконосцы политома используются в биотестировании токсичности сточных вод текстильных предприятий после окрашивания тканей. Жгутиконосцев предложено использовать в экспресс-методах биотестирования, поскольку эффект влияния загрязнения на процесс копуляции жгутиконосцев очень легко регистрировать. С их помощью определена степень разбавления сточных вод (в 5 раз), которую можно считать безвредной (Симаков, 1986).

Для биотестирования очень удобны культуры простейших (Айвазова и др., 1988; Маслов и др., 1988; Пожаров и др., 1988).

Кишечнополостные

Кишечнополостные в биотестировании используются сравнительно редко. В качестве экспресс-метода предложено определение токсичности водной среды по регенерации пресноводной гидры *Hydra attenuata* (Бресткина и др., 1978, 1983, 1987, 1989).

Плоские черви

В качестве как индикаторных, так и представительных тест-объектов перспективны планарии. Использовали европейские виды *Dendrocoelum lactum*, *Planariatenuis* и сибирские *P.sibiricae* *Bipalium guttata*. Изучали влияние фенолов, оловоорганических и фосфорорганических соединений в острых (48 и 96 часов) и хронических (до 120 суток) опытах по изменению поведенческих и физиологических реакций (Дыганова, Порфирьева, 1986).

Кольчатые черви

Среди кольчатых червей из класса *олигохет* представители сем. Tubificidae характеризуются достаточно высокой устойчивостью к загрязнению, особенно к органическому. В зоне сброса сточных вод наблюдается повышение численности тубифицид, где они обитают при дефиците кислорода. Наиболее чувствительны тубифициды к химическим токсикантам, в частности, к пестицидам (Беляв-

кая, 1979). Более сильное действие на олигохет оказывают смеси ядов, чем таковые в отдельности (Воронкин, Лошаков, 1973; Белявская, 1979). Катионы тяжелых металлов в концентрации 0,1 мг/л снижают скорость дыхания. В качестве критерия токсичности при биотестировании предложено изменение интенсивности потребления кислорода олигохетами под влиянием пестицидов и тяжелых металлов (Дедю и др., 1986).

Из класса пиявок удобным и интересным объектом биотестирования является *медицинская пиявка* *Hirudo medicinalis*. На ней изучали действие ФОС, ХОП и фенолов (Флеров, 1976, 1979, 1983; Флеров, Лапкина, 1976; Лапкина, Флеров, 1979, 1980). В качестве тест-реакции использовали поведение пиявок (реакцию избегания), локомоторную активность, характерный симптомокомплекс отравления ядами. Чувствительность пиявок к химическим ядам сильно различается: они избегают растворов с содержанием 5 мг/л полихлорпинена, 50 мл/л фенола, 1 мг/л ПАВ, в то же время хлорофос в концентрации 0,1 мл/л привлекает пиявок (Флеров, Лапкина, 1976).

Медицинская пиявка рекомендована в качестве тест-объекта ВНИИ по охране вод (Крайнюкова, 1986).

Моллюски

Следует отметить, что наиболее требовательными к качеству водной среды в целом, так и к токсическому загрязнению являются фильтрующие двустворчатые моллюски, которые должны использоваться в качестве тест-объекта в первую очередь. В большинстве случаев моллюски как аналитические индикаторы уступают более чувствительным к загрязнению гидробионтам (простейшим, ракообразным) (Туманов, Постнов, 1983).

Двустворчатые моллюски широко используются в биотестировании пресноводных и морских водных объектов. Установлено, что под действием хлорорганических и фосфорорганических соединений у черноморских мидий, устриц и сердцевидок происходят необратимые изменения энергетического метаболизма, белкового, углеводного, липидного и водно-солевого обмена (Кандюк и др., 1981). Процессы биотрансформации ртути и ДДТ изучали на черноморских мидиях (Костылев, 1981), кадмия, свинца, никеля и марганца — на макомах (Сейсума и др., 1991). Двустворчатые моллюски были рекомендованы для биотестирования Институтом биологии внутренних вод АН СССР (Крайнюкова, 1986).

Брюхоногие моллюски в качестве хороших тест-объектов рекомендованы Н.С. Строгановым и Л.В. Колосовым (1971). При опре-

делении токсичности среды ими предложено учитывать не только выживаемость взрослых особей, но и образование количества кладок и числа яиц в кладке, появление уродств в зародышевом развитии, жизнеспособность молоди после выклева. На прудовиках Луппаеа изучали влияние оловоорганических соединений (Бузинова и др., 1981, 1986).

Моллюсков *L. lagotis* и *L. stagnalis* использовали для оценки токсичности водной среды (соли тяжелых металлов) по поведенческим реакциям (Степаненко и др., 1987) и физиологическим показателям (выживаемость) (Колосова и др., 1987).

На катушках *Planorbis corneus* изучали их устойчивость к фенолу (учитывались выживаемость и зависимость пропорций раковины от токсиканта). Установлено, что выживаемость катушек в токсических условиях выше, чем у прудовиков, что может быть связано с особенностями дыхательных пигментов (у катушек — гемоглобин, у прудовиков — гемоцианин) (Майорова, Локтева, 1981).

У живородки речной *Viviparus viviparus* в качестве тест-реакции использовали функциональную изменчивость фермента кислой фосфатазы. С помощью живородки речной оценивали токсичность сточных вод ливневой канализации лакокрасочного производства (острые 96-часовые опыты). Чувствительность энзимотестирования с использованием живородок оказалась на порядок выше такового по выживаемости дафний. Электрофоретический анализ показал достоверное нарастание активности фермента по мере ухудшения качества воды (приток Волги — р. Которосль) (Зарубин и др., 1996).

Этот же тест-показатель изучался у брюхоногих моллюсков *P. corneus*, *Vithynia trocheli* (Цветков и др., 1996).

Действие солей тяжелых металлов изучали по поведенческим реакциям (общая двигательная активность и избегание токсичной среды) и выживаемости моллюсков *P. corneus*, *V. viviparus* (Степаненко и др., 1987).

Ракообразные

К наиболее распространенным тест-объектам среди ракообразных относятся ветвистоусые раки отряда *Cladocera*. Особенностью большинства из них является фильтрационный способ питания, при котором через организм пропускаются громадные (по сравнению с размерами их тела) количества воды. Раки способны извлекать из воды не только необходимую пищу, но и растворенные и взвешенные вещества, в том числе компоненты загрязнений. Они

могут накапливать такие вещества в своем теле в концентрации, в несколько десятков тысяч раз превышающей содержание их в воде (Туманов, Постнов, 1983).

Классическим объектом биотестирования является *Daphnia magna*. В 1934 г. Науманн в качестве тест-объекта предложил использовать дафнию (Строганов, 1971). В 1941 г. Скадовский отметил особое значение дафний для биотестирования сточных вод. Дафния как обязательный тест-объект входит в большинство национальных и международных стандартов исследования качества воды (Строганов, 1979; Schweyer, 1974) и широко применяется для контроля степени очистки сточных вод различных предприятий (Чекалова, 1983; Айвазова и др., 1983). По мнению Н.С. Строганова, на острую токсичность следует испытывать *Daphnia magna* (чувствительный организм), *Limnacedax Stag.* (средней чувствительности); *Lebistes reticulata* (малочувствительный организм).

Дафния отвечает целому ряду требований, предъявляемых к тест-объектам: доступность, быстрота получения в массовом количестве, простота лабораторного культивирования, небольшой, но достаточный для визуального наблюдения размер.

В 40–70-е гг. нашего века была исследована чувствительность дафний к различным солям и установлена наибольшая токсичность ионов ртути, меди, серебра, кадмия, хрома, бихромата, цианида и иодида (Щербань, 1975; Туманов, Постнов, 1983). Выявлена большая чувствительность молоди дафний по сравнению со взрослыми, в связи с чем для биотестирования рекомендуется использовать молодь в возрасте 15–26 часов (Ривьер, Флеров, 1973; Лесников, 1976).

При небольших концентрациях 0,1 мг/л остротоксического действия на дафний катионы ТМ не оказывают, наблюдается увеличение периода эмбрионального развития, снижение численности молоди в помете, замедление скорости полового созревания (Щербань, 1975).

При хроническом воздействии неблагоприятное влияние на размножение дафний оказывают концентрации кадмия — $1,7 \cdot 10^{-3}$ мг/л, ртути — $3,4 \cdot 10^{-2}$, платины, свинца, меди, никеля — $1 \cdot 3 \cdot 10^{-1}$, железа, хрома, мышьяка, алюминия — 40–120 мг/л, хлористого натрия — 500–680 мг/л (Щербань, 1975). Сравнительно невысокая чувствительность дафний к катионам тяжелых металлов связана с наблюдающейся детоксикацией катионов в воде за счет комплексобразования (Алимарин, Ушаков, 1960; Авакян, 1967; Злочевская, 1968; Dryl, 1970).

Растворенный в воде молекулярный хлор вызывает гибель дафний при низких концентрациях (Строганов, 1968). Токсическое действие ионов хлора проявляется при концентрации более 700 мг/л (Щербань, 1975).

На металлоорганические соединения дафнии реагируют сильнее, чем на катионы соответствующих металлов.

Реакция дафний на органические вещества зависит от их природы: 1-2 мг/л фенола в воде стимулируют размножение дафний, производные мочевины диурон и монурон летальны при 0,25-2,0 мг/л (Щербань, 1972).

Поверхностно-активные вещества летальны для дафний в концентрации 0,8-30 мг/л (LC_{50}) (Брагинский и др., 1979; Коскова, Козловская, 1979; Maki, Bishop, 1979; Туманов, Постнова, 1983). Летальные концентрации гербицидов ряда атразина и цинатрина равны 1-20 мг/л (Щербань, 1975).

Остротоксическое действие большинства ФОС проявляется при концентрациях 0,01-1,0 мг/л; при более низких значениях сначала наступает иммобилизация дафний, через 2-3 суток смерть (Кербабаев, Мальцман, 1970; Прокопенко и др., 1976; Турунина, 1975).

Некоторые авторы при биотестировании с помощью дафний используют в качестве тест-реакции их сердечный ритм (Колупаев и др., 1977; 1980), для регистрации которого возможно применение технических средств.

Описано применение в качестве тест-объектов и других ракообразных: водяных осликов, гаммарид, артемий, стрептоцефалов, циклопов, диаптомусов, ракушковых раков (Брагинский, Щербань, 1978; Гроздов и др., 1979; Гудкова, 1979; Исакова, Строганов, 1975; Строганов, 1968). Однако чувствительность их в большинстве случаев уступает таковой у дафний.

Эндемичный рачок озера Байкал *Epischura baicalensis* предложен как тест-объект байкальского зоопланктона при тестировании резорцина, пирокатехина, маннита, п-бензолехинона, гексахлорбензола, диоксана, толуола, некоторых СПАВ и соединений тяжелых металлов (Стом, Гиль, 1988).

Личинки двукрылых насекомых

Чаще всего используют в этом качестве личинок комаров семейства *Chironomidae*. Их можно применять для биотестирования не только воды, но и грунтов как донных обитателей. Однако они достаточно устойчивы к токсикантам. Например, 1-20 мг/л фенола не вызывают заметных отклонений в росте и развитии личинок

хируномид, наблюдается даже увеличение их численности (Куражковская, Семенова, 1971). При отравлении личинок хируномид ХОС и ФОС отмечено состояние возбуждения и последующего уменьшения подвижности, судороги, затем иммобилизация и смерть. При иммобилизации тело личинок дугообразно изгибается; 0,7-25 мг/л дилора, диурона, 0,06-0,9 мг/л метилнитрофоса летальны для хируномид (Коростылев, 1979).

Хируномид используют в экспериментальных работах при исследовании изменений уровня кислотности водных объектов. Некоторые виды хируномид являются идеальными тест-объектами в проведении острых и хронических опытов при выявлении токсичности хозяйственно-бытовых и промышленных стоков вследствие того, что они достаточно легко культивируются. Личинки хируномид перспективны для тестирования токсичности в полевых исследованиях мезокосмов (Зинченко, 1998).

Метод сравнительного токсикологического таксономического эксперимента на беспозвоночных животных

С целью разработки системы биотестирования на беспозвоночных организмах в ответ на токсическое воздействие В.А. Алексеевым (1982) предложен метод исследования сравнительной устойчивости гидробионтов разного систематического ранга к токсикантам разной природы, названный им методом сравнительного токсикологического таксономического эксперимента. Разработка метода начата автором еще в 1970 г. на базе Института биологии внутренних вод АН СССР на Рыбинском водохранилище (Алексеев, 1971, 1975; Алексеев, Лесников, 1977). Метод базируется на «bioassay», т.е. на остром кратковременном эксперименте. Кроме водохранилища, изучали временные водные объекты (весенние лужи, придорожные канавы, пересыхающие ручьи), пруды болота, реки. В.А. Алексеевым была изучена резистентность к фенолу для 90 видов пресноводных макробеспозвоночных.

Установлено, что в классе насекомых резистентность к фенолу варьирует от 4 у некоторых Trichoptera и Ephemeroptera до 2000 и более мг/л у Coleoptera. Сравнительно невелика резистентность ракообразных — от 20-100 у Daphniidae до 200-240 мг/л у Ostracoda и Diaptomus. Летальные концентрации для моллюсков составляли от 400 у Dreissena до 1600 мг/л у Sphaerium, для червей — от 200 у Turbellaria и некоторых Oligochaeta — до 1200-1400 мг/л у остальных Oligochaeta и Hirudinea. Паукообразные в целом проявили высокую

устойчивость к токсиканту: для них летальная концентрация LC₁₀₀ варьировала в пределах 600–2400 мг/л фенола (Алексеев, 1982).

На основании полученных данных ряд токсикорезистентности к фенолу у исследованных видов имеет следующую последовательность: Arachnoidea > Insecta (высокоустойчивые) > Mollusca > Vermes > Insecta (устойчивые); Crustacea > Insecta (низкоустойчивые). Аналогичные результаты получены авторами в отношении резистентности к пестицидам (Алексеев, Лесников, 1977).

Рыбы

Биотестирование на рыбах возможно по комплексу вегетативных, соматических и других показателей. В число регламентируемых можно включать не менее 20 показателей рыб, отличающихся достаточной стабильностью в норме в постоянных условиях, высокой чувствительностью и воспроизводимостью отклонений от нормы при интоксикациях. Все они доступны для приборной регистрации или визуальных наблюдений. Могут быть использованы следующие тесты: 1 – устойчивость в естественном положении; 2 – продолжительность выживания, плодовитость и качество потомства; 3 – слизеотделение, внешний вид, пигментация, окраска жабр, кожи и внутренних органов; 4 – поведение, в том числе стайность; 5 – движение соматической мускулатуры, жаберных крышек и плавников; 6 – выраженность респираторных аритмий; 7 – электрокардиограмма и частота сердечных сокращений; 8 – частота вентиляции жабр; 9 – частота всплывания к поверхности и заглатывания воздуха; 10 – подвижность и суммарная двигательная активность; 11 – реотаксис; 12 – латентный период, направленность, выраженность и скорость локомоторных реакций на привычные и новые раздражители; 13 – потребление кислорода и «остаточный» кислород; 14 – электролитный состав сыворотки крови, ее электрические свойства, фракционный состав гемоглобина и другие гематологические показатели (Карпович, Лукьяненко, 1990; Кожова и др., 1989).

Рыбы в качестве тест-объектов широко применяются для биотестирования сточных вод по указанным выше тест-реакциям (Карпович, 1988; Карпович, Колупаев, 1984; Карпович, Бараев, 1984; Кожова и др., 1989). При оценке действия сточных вод на рыб определяющими являются такие биологические показатели, как выживаемость, плодовитость и качество потомства, которые лежат в основе показателей биологического благополучия (Кожова и др., 1989).

Для доказательства токсичности воды во всех случаях обязательна постановка «рыбной пробы» (Никитинский, Долгов, 1913; Кожова и др., 1989), которая относится к довольно простым и доступным методам, но дающим лишь приблизительные сведения о токсичности воды. Кроме того, «рыбная проба» предусматривает длительные наблюдения за поведением и функциональным состоянием рыб, что является существенным недостатком этого метода (Кожова и др., 1989).

Применение рыб в качестве тест-объектов в биотестировании решает многие проблемы рациональной организации рыбного хозяйства с учетом токсикологической обстановки и комплексного использования водных ресурсов (Лукьяненко, 1987).

Тканевые культуры и эмбрионы рыб также можно использовать в качестве тест-объектов. Токсические эффекты определяются по изменению биофизических показателей (теплопродукции, биолюминесценции, электросигналам); цитологическим, физиолого-биохимическим, поведенческим критериям (Брагинский, 1981).

Земноводные

Земноводные занимают особое место среди других животных, так как представляют собой первых и наиболее просто организованных наземных позвоночных, не утративших связи с водой в личиночной, а зачастую и во взрослой стадии. Поэтому велика их роль в транзите токсических загрязнений из водных в околотоводные и наземные экосистемы.

У земноводных часто используют в качестве тест-реакции на токсическое загрязнение воды патологию эмбриогенеза. Так, у амфибий *Salamandrella keiserlingii* и *Rana arvalis* (остромордая лягушка) из окрестностей г. Томска изучена морфологическая организация эмбрионов, плодов и личинок в 1993–1994 гг. (после аварии на Сибирском химкомбинате в апреле 1993 г.). Гибель эмбрионов и личинок в 1994 г. составила 12–50%, 23–38% от общего числа икринок были пустыми, что говорит о токсическом воздействии на самок в 1993 г., когда происходила закладка и формирование икринок. Обнаружены такие виды патологии: агенезия (от греч. genesis – рождение) – уродство плода, врожденное отсутствие или недоразвитие органа или части тела (Орлов, 1983); очаговые разрастания кожи; гипотелоризм; анэнцефалия; крайняя асинхронность развития эмбрионов (Москвитина и др., 1995).

Икру и личинок обыкновенного тритона, зеленой жабы и озерной лягушки использовали для биотестирования загрязненности

воды отравляющими веществами на территории Саратовской области в связи с проблемой уничтожения химического оружия. Наиболее чувствительной к водным растворам отравляющих веществ (иприт, люизит) оказалась икра обыкновенного тритона и зеленой жабы (Шляхтин и др., 1996).

У остромордой лягушки *R. arvalis* из загрязненной радионуклидами территории Восточно-Уральского радиационного следа обнаружены изменения в популяционной структуре, ряд физиологических и генетических отличий по сравнению с популяциями из незагрязненных радионуклидами мест обитания. Из репродуктивных показателей использованы объем кладок, количество в них икринок, средний размер яиц, смертность эмбрионов (Пястолова и др., 1996).

4.2. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ И ТЕСТ-ФУНКЦИИ

При биотестировании, кроме большого набора тест-объектов, существует еще одна трудность – разнообразие критериев, которые используют для оценки действия токсиканта. А.Д. Мак-Интайр (1980) в обзоре по биологическим эффектам загрязнителей касается выбора эффекта для обнаружения загрязнения и его оценки. Он выделяет биохимические, физиологические, поведенческие, морфологические, генетические, популяционные и экосистемные эффекты. При выборе критерия токсичности наиболее часто берут такие, которые лучше всего отражают благополучие особи и вида и являются наиболее чувствительными (Колупаев, 1989).

О.Ф. Филенко (1989) выделяет *частные* и *интегральные* тест-функции. Интегральные параметры характеризуют состояние системы наиболее обобщенно, давая суммарный ответ о состоянии системы. Для организма к интегральным параметрам могут быть отнесены характеристики выживаемости, роста, плодовитости, а отдельные физиологические, биохимические, гистологические и прочие параметры относятся к частным. Для популяций интегральными являются параметры численности, массы, для экосистем – характеристики видового состава, продукции и деструкции органического вещества.

Попытка судить о состоянии интегральных параметров по динамике частных подвержена риску существенной количественной

ошибки. Такой риск может быть снижен одновременным применением комплекса методов биотестирования (Филенко, 1989). Биохимический параметр организма, например, надежно характеризует функцию конкретной ферментной системы, состояние организма в целом оценивает с некоторой степенью вероятности и практически бесполезен для оценки экологической ситуации в водном объекте.

С увеличением интегральности повышается «экологический реализм» теста, но обычно снижаются его оперативность и чувствительность. Функциональные параметры более лабильны, чем структурные. Параметры молекулярного и клеточного уровней проигрывают в отношении экологической информативности, но выигрывают в отношении чувствительности, оперативности и воспроизводимости (Филенко, 1989).

Применение методов, основанных на учете частных параметров, целесообразно в случаях: когда тест-объект используют для выявления только факта токсичности без глубокого анализа его характера и экологического прогноза; для выявления конкретного токсического агента, влияние которого на исследуемую тест-функцию хорошо известно; в системе других тест-объектов и тест-функций (Филенко, 1988).

Рассмотрим более подробно наиболее часто применяемые в биотестировании критерии.

Биохимические критерии

Биохимические изменения в обмене веществ гидробионтов при токсическом загрязнении наступают задолго до появления морфологических, физиологических, популяционных и экосистемных отклонений от нормы (Юровицкий, Сидоров, 1993).

По литературным данным исследованы следующие биохимические критерии:

- биолюминесценция бактерий (Кузнецов, Баян, 1981; Кратасюк, 1982; Ribo, Kaiser, 1987; Тушкова и др., 1992; Пшеничнов, и др., 1995);
- активность мембранных и запасных липидов (Сидоров, 1983; Сидоров и др., 1990; Юровицкий, Сидоров, 1993);
- уровень тиамин (моллюсков) (Маляревская, Карасина, 1985);
- углеводный обмен (мидий) (Иванова и др., 1985);
- биокаталитические системы (Гладышев и др., 1986);

— включение неорганического фосфора из воды в органы и ткани (карпа) (Филенко, Парина, 1983);

— метод ЭПР-спектроскопии (электронного парамагнитного резонанса) (Король и др., 1983; Мелехова, 1995);

— ферментативные реакции (Руссо, 1986; Юровицкий, Сидоров, 1993; Сидоров и др., 1994; Мелехова и др., 1995).

О применении критерия биolumинесценции бактерий подробнее будет рассказано в разделе о методах биотестирования.

Такие биохимические показатели, как липиды (запасные, мембранные и их дериваты), желчные кислоты, лизосомальные ферменты (катепсины, кислая фосфатаза, б-глюкозидаза), различные дегидрогеназы, свободный и белковый оксипролин, щелочная фосфатаза, применяли при изучении нерестового голодания лосося, зимнего голодания молоди карпа, некроза плавников у молоди лосося и явления «расслоения» мышц у волжского осетра (Сидоров и др., 1991; Юровицкий, Сидоров, 1993).

С 1981 г. применение ферментов для оценки качества водной среды является одним из перспективных направлений биотестирования благодаря экспрессности, чувствительности и простоте анализа. Разработаны и испытаны калориметрические и потенциометрические тесты на основе сывороточной холинэстеразы и карбоксиэстеразы из плесневых грибов (Евтюгин и др., 1995). Показано, что они позволяют быстро и надежно определять общее присутствие в тестируемых водах ФОП, тяжелых металлов, азоторганических соединений, некоторых СПАВ, причем в ряде случаев в концентрациях ниже ПДК. Сравнительные испытания чувствительности ферментных тестов и методов биотестирования по оценке выживаемости *P. caudatum*, ингибирования замедленной флуоресценции *Chlorella vulgaris*, тушения биolumинесценции люциферазных микроорганизмов показали, что ферментные тесты превосходят по чувствительности, уступая лишь биolumинесцентному методу. В качестве модельных соединений использовали водные растворы фозалона, базудина, карбофоса, метафоса, солей меди, ртути, фторида натрия.

Явление ЭПР было открыто в Казани в 1944 г. Е.К. Завойским. В 60-е гг. XX в. этот метод в биологических исследованиях стали применять Л.А. Блюмфельд, Н.М. Эмануэль, Б.Н. Тарусов, А.Н. Тернин. Большой вклад в применение метода в биологии и биохимии внес Д. Инграм (Ingram, 1972).

ЭПР позволяет обнаруживать неспаренные электроны, играющие важную роль в любой биологической системе благодаря тому,

что они обладают высокой энергией и, следовательно, активностью. Вещества, содержащие неспаренные электроны, — это свободные радикалы (СР), ферменты, металлоорганические соединения. Изучаемый образец помещают в сильное однородное магнитное поле и перпендикулярно ему подают дополнительное магнитное излучение. В результате этого за счет энергии излучения электроны вещества с нижнего энергетического уровня переходят на верхний, что регистрируется на экране осциллографа.

Анализ спектров ЭПР может служить источником информации о природе биологического поражения (радиационное облучение, загрязнение токсикантами). Изменение концентрации СР при воздействии токсикантов можно наблюдать значительно раньше, чем нарушение биологических показателей: уже в первый час контакта с токсическим веществом. Таким образом, изменение концентрации СР является чувствительным тестом для выявления скрытых патологических отклонений. Этот тест применяют в Институте биологии внутренних вод РАН в п. Борке для биотестирования остро-токсичных вод (Король и др., 1983).

ЭПР и радиометрический метод определения СР используют при биотестировании различных загрязнений среды на биологическом факультете МГУ. Радиоактивный маркер, введенный в живой тест-организм, включается в СР-реакции *in vivo*. Содержание СР определяют по уровню радиоактивности тканей тест-объекта (эмбрионы амфибий и рыб, дафнии, морские беспозвоночные и т.п.). Для тестирования качества очистки сточных вод эти методы используются на Байкальском ЦБК, в экологической экспертизе природных водоисточников в районе полиметаллических рудников в Восточном Казахстане, а также при дозированных лучевых воздействиях (Мелехова и др., 1995).

Физиологические критерии

Действие токсических веществ влияет на биохимические процессы организма, которые обеспечивают функционирование определенных органов и систем. Интоксикация начинается с нарушения функции «мишени», которая и предопределяет патогенез отравления и в конечном итоге может привести к заболеванию и гибели организма. Поэтому выявление физиологических механизмов действия токсиканта — одна из основ понимания и выявления патологического состояния организма.

Для использования физиологических показателей в качестве параметров токсичности необходимо выбирать те, которые отра-

жают нарушение целостных функций организма, поэтому очень важно понятие «токсическая концентрация». Нельзя говорить о токсичности, если даже под влиянием загрязняющих веществ происходит статистически достоверное отклонение функций организма от контроля (Флеров, 1989). У пойкилотермных организмов, которыми являются большинство гидробионтов (все беспозвоночные и рыбы), колебания физиолого-биохимической нормы достаточно широки и недостаточно исследованы. В настоящее время под токсической (пороговой) концентрацией понимают ПВД — *порог вредного действия* — минимальную концентрацию вещества в окружающей среде, при воздействии которой возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций.

Оценка токсичности загрязнения для гидробионтов должна основываться на использовании критериев токсичности, наиболее полно и надежно отражающих благополучие организма:

- выживаемость и смертность (Филенко, Парина, 1983; Иваненко, 1986; Bringmann, Kuhn, 1977; Руссо, 1986; Флеров, 1989; Лукьянцева, 1998);
- размножение (Строганов и др., 1987; Флеров, 1989);
- скорость воспроизведения (Тушкова и др., 1992);
- качество потомства (Флеров, 1989);
- продолжительность жизни (Филенко, Исакова, 1981);
- аномалии развития (заболевания, уродства) (Лесников, 1977; Руссо, 1986; Юнчис, 1991; Бочарова, 1996);
- особенности роста (изменение длины или массы, числа клеток) (Руссо, 1986; Гаевский, Горбанева, 1998; Чупров, Вышегородцева, 1998; Лукьянцева, 1998);
- частота сердцебиения (Колупаев и др., 1986; Кикнадзе и др., 1987);
- изменение содержания гликогена (Руссо, 1986);
- потребление кислорода (Руссо, 1986);
- интенсивность дыхания (Руссо, 1986);
- ингибирование фотосинтеза (Руссо, 1986);
- содержание коллагена у рыб (Майер, Мерл, 1977; Козловская и др., 1984; Павлов и др., 1990).

Правильный выбор и использование в практике биоконтроля показателей физиологического состояния и поведения организма возможны только после получения предварительных данных о чувствительности основных тест-функций гидробионтов к действию антропогенных факторов различной химической природы. Показано, что при исследовании действия СПАВ на рыб биоконтроль це-

лесообразно проводить по данным одного параметра крови — содержанию оксигемоглобина. Биоконтроль токсичности фенолсодержащих вод целесообразно осуществлять по данным карбоангидразной активности крови рыб или по двигательной активности гамма-рида; медьсодержащих вод — по двигательной активности парамеций; хлорофоссодержащих вод — по активности холинэстеразы и продолжительности реакции реотаксиса у рыб. Сублетальные концентрации токсикантов хорошо выявляют показатели дыхания и сердечной деятельности дафний (Колупаев и др., 1987).

Этологические критерии

Этологические (поведенческие) критерии очень широко используют при анализе токсичности среды, они разнообразны и часто видоспецифичны (Сабуров, 1989).

Подавляющее большинство экспериментов по влиянию качества воды на поведение гидробионтов проведено в лабораторных условиях. Такие исследования возможны для мелких планктонных и бентосных организмов, ведущих одиночный образ жизни. Но и в этом случае любому поведенческому токсикологическому эксперименту должен предшествовать этологический анализ поведения — выявление причин, целей и последствий проявляемых животными реакций (Флеров, 1974, 1989). Рассмотрим основные виды поведенческих реакций, изучаемые в токсикологическом эксперименте.

Инстинктивное поведение. Локомоторная активность — разновидность действий, связанных с активным перемещением в пространстве. К локомоции иногда прибавляют регистрацию и других форм движения и рассматривают это как общую двигательную активность. Для наблюдений следует выбирать животных, у которых чередуются периоды передвижения с паузами. Постоянно двигающиеся (фильтраторы) или, наоборот, редко двигающиеся особи для опытов непригодны. При исследовании активности используют прямые и косвенные учеты. В опыте с прямым учетом ведут непрерывное наблюдение за отдельными особями, при более распространенном косвенном — в регистрируемые промежутки времени отмечают число подвижных и неподвижных особей.

Как любые тест-реакции, поведенческие должны отражать не только отклонения от нормы, но и патологические изменения (Флеров, 1989). В этом смысле очень хороши в качестве тест-объектов пиявки разных видов (Методические указания..., 1986). При действии разнообразных токсикантов, благодаря морфологическим

особенностям мускулатуры (наличие кольцевых, продольных и поперечных слоев), с помощью характерных движений они проявляют специфические симптомы отравлений.

Так, у медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* в растворах ФОС (хлорофос) последовательно происходит подворачивание задних сегментов, постепенное скручивание в спираль при дальнейшем прекращении движения, резкое укорочение тела из-за контрактуры продольных мышц, заглывание раствора (при этом глотка открыта и видна работа челюстей), увеличение массы и объема тела, далее расслабление продольной мускулатуры, усиление выведения мочи, падение массы и объема, перед смертью тело удлиняется и изгибается дугой вентральной поверхностью наружу (Лапкина, Флеров, 1979, 1980).

В растворе фенола медицинская пиявка в начале беспорядочно двигается, затем на продолжительное время прикрепляется присосками к стенке сосуда и повисает в виде петли; затем падает на дно, деревенеет, на теле появляются характерные перетяжки и уплотнения, не наблюдаемые при действии других токсикантов (рис. 3).



Рис. 3. Симптомы отравления медицинской пиявки в растворах фенола (1-4), хлорофоса (5-8) и ХОП (9-12) (по Флерову, 1989)

При отравлении ХОП отмечено подворачивание передних сегментов под брюшко или закручивание их в спираль, затем развиваются характерные ритмические судороги, заканчивающиеся иммобилизацией и смертью (Флеров, 1989).

Для обнаружения в воде токсических солей металлов используют молодь пиявки. В естественных условиях молодь пиявки обычно неподвижна на протяжении многих суток, лишь отдельные особи иногда ползают. Медь, ртуть, кадмий, алюминий в первые 15 минут вызывают смену статического состояния на динамическое. При продлении экспозиции наступает реакция избегания и даже смерть.

С помощью стробоскопической фотографии исследовали влияние ионов селена, ванадия, циркония и других металлов на плавание инфузории *Tetrachymena pyriformis* (Флеров, 1989).

Скорость передвижения, способность к закапыванию в грунт и общую двигательную активность под влиянием токсикантов исследовали у моллюсков (Карпенко и др., 1983; Флеров, 1989).

Ориентация по биотическим и абиотическим факторам среды. При ориентации по типу кинезов животное изменяет скорость движения (ортокинез) и частоту поворотов (клинокинез) в изменяющихся внешних условиях. Так, планарию *Dugesia magna* привлекают жирные кислоты (Mason, 1975; цит. по: Флерову, 1989).

Таксисы (от греч. taxis — расположение) — двигательные реакции в ответ на односторонне действующий стимул, свойственны свободно передвигающимся организмам. При исследовании хемотаксисов (ориентация по химическим стимулам) используют два типа градиентов: резкий и плавный. При резком градиенте потоки контрольной и тестируемой воды поступают отдельно. Так работали с арктическими гольцами *Salvelinus alpinus*, солнечными рыбами *Lepomis* и малоротым окунем *Micropterus salmoides*, золотыми рыбками *Carassius auratus*.

При плавном градиенте интенсивность фактора изменяется постепенно, в поток воды по мере его продвижения постепенно вводят исследуемый фактор. Этим способом проведены исследования разнообразных веществ на температурный преферендум (интервал значений физических факторов, которые выбирает организм из всего диапазона этих факторов (Реймерс, 1990)) атлантического лосося. Показано, что высокое содержание меди в воде снижает электрическую реакцию в обонятельной луковице лососевых, ртуть блокирует чувствительность обонятельных рецепторов у лососей. Выявлено влияние токсикантов на изменение положительного реоаксиса радужной форели (Dodson, Mayfield, 1979; цит. по Флерову, 1989).

Реакции избегания-привлечения на присутствующие в воде токсические вещества. Жуки, клопы, нимфы стрекоз, ракообразные, пауки, рыбы и другие гидробионты в лабораторных экспериментах стремятся покинуть растворы токсических веществ (Алексеев, Флеров, 1972; Сабуров, 1989). Детергент «Лотос-71» начиная с 1 мг/л и фенол с 50 мг/л вызывают реакцию избегания у медицинской пиявки и гуппи *Lebistes reticulatus* (Флеров, Лапкина, 1976; Флеров, 1979). *Gambusia affinis* избегает ДДТ (0,1 мг/л), дурбан (0,1 мг/л), мелатион (0,05 мг/л), Д, 4-Д (1,0 мг/л), жаброног *Streptocephalus togivicornis* и водяной ослик *Asellus aquaticus* избегают «Лотос-71», фенол, ПХП, хлорофос (Тагунов, Флеров, 1978; Флеров, Тагунов, 1978; Флеров, 1979). Раки *Orconectas virilis* избегают рН = 4–4,5. В плавных градиентах многие токсиканты в больших концентрациях могут вызывать у рыб привлечение. Многие другие данные по избеганию и привлечению у водных животных (в основном для рыб) приведены в соответствующих обзорах (Broun et al., 1982; Alabaster, Lloid, 1984). До 90-х гг. изучены практически все основные вещества, присутствующие в стоках (Флеров, 1989).

В природе рыбы могут прекращать нерестовую миграцию вверх по течению рек из-за содержащихся в воде нефтепродуктов и стоков целлюлозно-бумажных, алюминиевых и других производств (Suttelin, 1974; Little et al, 1985). При загрязнении воды отмечена миграция беспозвоночных вниз по течению (дрифт). При попадании в воду метилхлорофоса и темефоса бокоплав и личинки поденок открепляются от субстрата и сносятся по течению (Muirhead, Thomson, 1978).

Пищевое поведение. В целом токсиканты в сублетальных концентрациях подавляют питание, хотя при промежуточных сублетальных дозах или при краткой экспозиции наблюдается его усиление. Кроме того, сами токсиканты могут восприниматься как пища (пропитанные нефтепродуктами приманки привлекают растворимой ароматической фракцией). Пищевое поведение при загрязнении токсикантами изучали у моллюсков *Mytilus edulis*, кижуча *Oncorhynchus kisutch*, голубожаберника, дафний *D. pulex* (Ривьер, Флеров, 1975).

Строительное поведение. Влияние токсикантов на эту форму поведения изучали у личинок ручейников раздельнощупиковых, плетущих сети, и цельнощупиковых, строящих домики. Построенные в загрязненной сублетальной концентрации дилдрин личинки *Hydropsyche instabilis* и *H. pellucidula* сооружают ячейки неправильной формы и более крупные, чем в контроле. Личинки *H. angustipennis* при концентрации 0,001 и 0,005 мг/л фенеткарба стро-

или несимметричные, сильно варьирующие в размерах и более плотные сети, чем в норме. Сульфат меди больше влиял на прядильные железы этого вида (Beschert al., 1977, 1979).

Изменения в инстинктивном поведении личинок ручейников по строительству домиков под влиянием хлорофоса изучали на *Chaetopteryx villosa* (Непомнящих, Валюшок, 1990а,б). Основой инстинктивного поведения служат комплексы фиксированных действий (КФД) — сложные стереотипные комплексы движений, характерные для всех особей данного вида, которые вызываются «пусковым» стимулом (каким-либо внешним раздражителем) (Дьюсбери, 1981).

Этограмма (полный перечень двигательных актов, наблюдаемых у данного вида) показала, что в целом строительное поведение укладывается в классическую этологическую схему, согласно которой переход от этапа к этапу определяется наследственной фиксированной программой и ключевыми стимулами (макроуровень), является частично запрограммированным и при действии хлорофоса в слабых концентрациях незначительно меняется (Непомнящих, Валюшок, 1990а, б). Поведение на микроуровне (отдельные этапы цикла строительства) более изменчиво, последовательность и частота некоторых из этапов могут существенно меняться (укрепление домика, ощупывание, поворот личинки в домике). Представляется перспективным выявление в цепи инстинктивного поведения неустойчивых звеньев в качестве чувствительных поведенческих индикаторов.

Известны этограммы и для других видов ручейников, что облегчает использование их в качестве тест-объектов: *Potamophylax gobundipennis* (Баранов и др., 1973), *P. latipennis*, *Silo pallipes*, *Oligostomis reticulata*, *Anabolia* sp. (Асланян, Филимонов, 1977), *Molanna angustata* (Дембовский, 1959), *Neuroclepsis bimaculata* (Козлов, Свешников, 1977) и *Limnophilus stigma* (Козлов, 1979).

При оценке токсичности изучали и некоторые другие формы поведения: образование конгломерата у олигохет (Кузьмина, Богородицкая, 1984), реакцию всплывания у брюхоногих моллюсков (Короленко, Степаненко, 1984).

Приобретенное поведение (условнорефлекторное)

Токсиканты могут нарушать и условнорефлекторную деятельность. Обычно процесс формирования навыка нарушается сильнее, чем сохранение и выполнение уже выработанного. Как и инстинктивное поведение, приобретенное часто нарушается токсич-

кантами в концентрациях ниже летального порога (Флеров, 1973, 1983, 1989).

В.И. Лукьяненко (1983) в результате теоретического анализа влияния токсикантов на рыб, а также экспериментального изучения механизмов действия фенолов высказал идею использования метода условных рефлексов в ихтиологии для выявления токсического эффекта малых концентраций ядов, поступающих в рыбохозяйственные водоемы. Автор пришел к выводу, что форма и степень нарушения условнорефлекторной деятельности рыб под влиянием малых концентраций различных веществ могут служить тонким и высокочувствительным показателем их токсического действия. Среди этих реакций несложно отобрать такие, регистрация которых может быть автоматизирована (Кожова и др., 1989).

Таким образом, как приобретенное, так и инстинктивное поведение существенно меняются при попадании в воду токсикантов. Эти изменения могут отражаться в конечном счете на судьбе популяций, поэтому изучение влияния качества воды на поведение актуально для экологического прогнозирования. Для правильной интерпретации отклонений в поведении необходима разработка четких критериев для различия существенных и несущественных отклонений в поведении (Непомнящих, Валюшок, 1990а,б).

4.3. МЕТОДЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

В мировой и отечественной практике накоплен большой фактический материал по установлению пригодности тех или иных методов биотестирования для оценки уровня токсического загрязнения исследуемых экосистем.

Методы биотестирования, принятые странами — членами СЭВ, предусматривают, чтобы каждое испытание на токсичность включало не менее 4 стандартных методов: с бактериями, растениями, беспозвоночными животными и рыбами или физиологическими процессами (фотосинтез или дыхание) в 3-кратной повторности (Унифицированные методы..., 1990).

Оценка методов биотестирования может быть проведена с различных точек зрения (Филенко, 1989).

С точки зрения *срочности* ответа наиболее быстрые индивидуальные реакции на токсическое воздействие равных концентраций ядов удается регистрировать у одноклеточных водорослей и инфузорий (часы и сутки). Сутками измеряют проявление ответных реакций у гидр, дафний, рыб, высших водных растений.

С точки зрения *технического оснащения* наиболее доступны методы, основанные на регистрации общебиологических характеристик гидробионтов. Минимальных средств требует метод биотестирования с использованием высших растений. Сравнительно простые, но длительны и трудоемки опыты с дафниями и инфузориями. Для физиолого-биохимических исследований необходимо современное оборудование, к сожалению, не выпускающееся отечественной промышленностью.

Приходится принимать во внимание при выборе соответствующих методов и *доступность* культивирования тест-объектов. Наиболее просто культивировать высшие водные растения и дафнии. Специальных средств требует культивирование водорослей, инфузорий и гидр.

Для выбора метода биотестирования возможны следующие рекомендации:

— водоросли могут быть применены для оценки сточных и природных вод, биотестирования с регистрацией люминесцентных характеристик;

— высшие водные растения показательны для разработки токсикологических нормативов; при достаточно высоком загрязнении вод могут использоваться и для биоиндикации токсического загрязнения вод;

— культуры инфузорий и гидр могут быть использованы для оценки токсичности сточных и природных вод с учетом ограничений, связанных с их культивированием на растворах микроэлементов;

— дафнии являются обязательным тест-объектом при установлении ПДК (Лесников и др., 1996);

— для рыб исследован широкий круг физиологических, биохимических и поведенческих частных параметров, однако они не могут быть применены для общих экологических оценок и прогнозов. Рыбы как тест-объекты более показательны при биоиндикации токсического загрязнения вод, что необходимо использовать в практике рационального рыбного хозяйства (Кожова и др., 1989).

Схема токсикологических исследований при биотестировании

В основу токсикологических исследований положены три типа тестов: острые, подострые и хронические (Веселов, 1977; Degani, 1980; Львова, 1996).

Острый опыт проводят для предварительной оценки степени токсичности исследуемого вещества, остроотоксичной (явно недопустимой) концентрации и проявляемых при этом симптомов отравления. Продолжительность острых опытов от нескольких секунд до 24–120 часов. При этом определяют LC_{0} , LC_{16} , LC_{50} , LC_{84} , LC_{100} — концентрации токсического вещества, при которых погибает соответственно 0, 16, 50, 84 и 100% тест-организмов.

Если учитывать не летальность, а какую-либо другую реакцию, ее обозначают символом ЕК (эффективная концентрация). Аналогично LC среди ЕК различают EK_{50} (медиальную эффективную концентрацию), EK_{100} (абсолютную) и EK_{0} (пороговую).

Величину LC_{50}/EK_{50} называют «зоной токсического действия» (Лесников, 1979). ВНИИГИНТОКС предлагает следующие значения отношения LC_{50}/EK_{0} :

- меньше 6 — очень узкая зона (опасное вещество);
- 6–24 — узкая зона;
- более 24 — широкая зона.

Практически показатель зоны токсического действия является оценкой легкости обнаружения действия вещества по реакциям организма (Львова, 1996).

Общая схема опыта такова. Составляют серию концентраций (не менее 7, лучше в геометрической прогрессии) в посуде, соответствующей требованиям тест-организма. Число особей на каждую концентрацию — от 5 до 8, что дает 10–15% погрешность на 95-процентном доверительном уровне. Частоту замены растворов определяют требованиями организмов и скоростью распада вещества (но не реже, чем через 3–4 дня). Параллельно ставится контроль: те же условия, организм из той же партии, вода та же, но без испытуемого вещества. Через 8, 16, 48, 96 и 120 часов (срок задают спецификой исследования) определяют число прореагировавших определенным образом особей (например, недвигающиеся характерным для вида способом). Затем графически или расчетным способом находят линию регрессии зависимости от концентрации изучаемого вещества, доли вероятности прореагировавших организмов (Беленький, 1961). На основании линии или уравнения регрессии определяют LC_{50} (или EK_{50}) и остальные величины. По окончании опыта желательнее провести тщательный анализ состояния всех оставшихся в живых организмов для учета всех отклонений от нормы.

Основной задачей *подострых и хронических опытов* является уточнение хронических летальных и определение границ сублетальных

концентраций. Общие принципы проведения тех и других опытов одинаковы, различия — в длительности экспериментов. Проведение длительных опытов трудоемко, и если нет основания ожидать достаточно отдаленных последствий, можно ограничиться подострыми опытами.

Концентрации для подострых и острых опытов подбирают на основании острых опытов, которые могут составлять 0,3–0,5 LC_{50} за 96–120 часов. Составляют ряд концентраций (6–8), лучше в геометрической прогрессии (чаще с коэффициентом прогрессии 0,5). Количество организмов не менее 8–10 для каждой концентрации. Если за период подострого опыта не произошло стабилизации токсического действия, необходимо проведение хронического опыта.

Особенностями подострых и хронических опытов являются:

- 1) необходимость предварительной адаптации подопытных организмов к условиям эксперимента;
- 2) учет влияния на результаты эксперимента других факторов;
- 3) обязательная регистрация влияния вещества на основные показатели жизнедеятельности организмов.

Срок адаптации — не менее 10 суток. Основными показателями успешной адаптации являются нормальное поведение, активное питание, отсутствие смертности или ее незначительный уровень. Если смертность превышает 25%, партию тест-объектов бракуют.

Перед началом опыта проводят химический анализ воды для опыта. Воду выдерживают в лабораторных условиях не менее суток (для дехлорирования и выравнивания температуры). Для контроля и опыта тест-организмы должны быть взяты из одной партии.

Подострые и хронические опыты ставят в трех вариантах:

- 1) без проточности, но с регулярной заменой растворов на свежеприготовленные; в опытах на рыбах разрешается искусственная аэрация;
- 2) в циркуляционных установках, где жидкость уходит в запасной сосуд, аэрируется и возвращается обратно; прием удобен, когда надо создать взвесь труднорастворимого загрязнителя;
- 3) в проточных условиях; в большинстве случаев по схеме: запасной сосуд — сосуд с организмами — сосуд для слива.

В нашей стране на сегодня целесообразно считать в качестве стандарта схему с регулярной заменой растворов.

Все регистрируемые показатели длительных опытов подразделяют на основные и дополнительные. *Основные показатели:* выживаемость (для популяции — темп вымирания), рост (линейный, весовой, индивидуальный и суммарный), размножение. Для рыб

включают анализы на органолептику и накопление опасных для человека веществ. *Дополнительные показатели:* патологоанатомические, гистологические, физиологические, биохимические, анализ состава крови, поведенческие реакции и т.п.

Требования к отбору проб и их подготовка

Пробы сточной воды для биотестирования отбирают, руководствуясь инструкцией по отбору проб для анализа сточных вод НВН 33-5.3.01-85; отраслевыми стандартами или другими нормативными документами. Пробы природной воды отбирают, руководствуясь ГОСТом 17.1.5.05-85. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков. Отбор проб на водоеме или на водотоке осуществляют по принципу: средняя по времени и средняя по потоку, т.е. отбирать порциями по 200–250 мл в течение 3–4-х часов, в трех точках ($250 \times 3 = 750$ мл $\times 3 = 2250$ мл). Пробы на водном объекте отбирают в стеклянную или эмалированную посуду, в полиэтиленовой можно хранить не более 6 часов. Пробу должен отбирать сам исследователь!

Сначала биотестирование сточной воды ведут в остром эксперименте — острое токсическое действие от 24 до 96 часов. Острое тестирование позволяет выбрать разведение сточной воды для хронического эксперимента. Хронический эксперимент зависит от выбранного тест-объекта: для дафний — 25–30 суток, пока в контрольном варианте рачки не дадут 4 поколения. Длительность эксперимента можно сократить, если стоки токсичны и есть достоверное различие по коэффициенту Стьюдента. Если тестировать на цериодафниях, то острый опыт длится 48 часов, но можно и меньше, если в опыте погибло 20% особей; хронический опыт длится до 7 суток. Цериодафний как тест-объект лучше использовать в летний период, так как они не выдерживают высоких температур.

Биотестирование проб воды проводят не позднее 6 часов после их отбора. Если указанный срок не может быть соблюден, пробы воды охлаждают до $+4^{\circ}\text{C}$ и хранят в холодильнике не более 16–18 часов. Не допускается консервирование проб с помощью химических консервантов. Во время смены воды для тест-объекта вода подогревается до комнатной температуры. Перед биотестированием пробы фильтруют через фильтровальную бумагу с размером пор 3,5–10 мм. Для этого фильтры обязательно необходимо вымочить в дистиллированной воде в течение 2 суток!

При определении наличия острого и хронического токсическо-

го действия воду тестируют без разбавлений. Для учета результатов биотестирования при установлении величин ПДС (предельно допустимых сбросов) и определения степени токсичности сточной и природной воды готовят серию разбавлений.

Для контроля (вода без токсических веществ) и разбавлений сточных вод используют аквариумную воду, которую готовят заранее. В тех случаях, когда результаты биотестирования учитывают при установлении ПДС, в качестве контрольной и разбавляющей служит природная вода, отобранная вне зоны влияния источника загрязнения.

Если отсутствует возможность отбора проб из контрольного створа, сточную воду на сбросе в водный объект тестируют в разбавлении, соответствующем таковому в контрольном створе (Методическое руководство..., 1990).

Ниже мы даем подробное описание некоторых методов биотестирования, используемых в лаборатории водной экологии Института водных и экологических проблем СО РАН (г. Барнаул).

Биолюминесцентный метод

Биолюминесцентный метод тестирования — это использование в качестве тест-функции люминесценции светящихся бактерий (*Photobacterium phosphoreum*), обладающих повышенной чувствительностью. В результате внешнего воздействия в клетке происходит денатурация белков. Поскольку основу люминесценции клетки составляют ферментативные реакции белков, то от люминесцентных характеристик можно ожидать специфической реакции на внешнее воздействие. Такими характеристиками могут быть спектр люминесценции и квантовый выход, а также кривые гашения люминесценции.

Гашение и стимулирование люминесценции — одни из наиболее чувствительных тест-функций среди биотестов, изучавшихся в плане разработки методов биологического контроля уровня загрязненности окружающей среды. Этот тест может быть использован также в совокупности с другими биотестами. Биолюминесцентный метод тестирования позволяет определять наличие сублетальных концентраций токсикантов за значительно меньший, чем другими методами, отрезок времени (30 мин в сравнении с 10-ю днями) (Кратасюк, 1982, 1985).

Биолюминесценция — способность некоторых видов живых организмов излучать свет. В основе биолюминесценции лежит каталитическое окисление восстановленных субстратов (люциферин) спе-

цифическими ферментами (люциферазами). Наиболее широкое применение нашел биолюминесцентный метод с использованием люциферазы светящихся бактерий.

Биолюминесцентный метод основан на изменении активности люциферазы (а значит, и уменьшении или увеличении свечения) под влиянием различных токсических агентов.

Первым применил биолюминесцентный метод анализа М.В. Беджеринк, позднее Е.Н. Гарвей и Т.Х. Моррисон. В 1930–1940 гг. был опубликован ряд работ по использованию свечения фотобактерий для определения наркотиков, токсинов, антибиотиков. С конца 50–начала 60-х гг. работы по аналитическому применению биолюминесцентного метода стали систематическими.

Впервые светящиеся бактерии как тест-объекты были использованы в 1966 г. для обнаружения токсикантов (диметилгидразина – компонента ракетного топлива и фенольных соединений) (Кратасюк, Гительзон, 1982).

В нашей стране впервые использовали светящиеся бактерии для оценки загрязнения сточных вод сульфатцеллюлозной промышленности фенолами и продуктами их распада (Кузнецов, Балаян, 1981).

Угнетение бактериальной люминесценции усиливается при повышении концентрации фенольных соединений. Этот факт говорит о градуальности ответа реакции гашения люминесценции на присутствие фенольных соединений (Стом и др., 1993).

Самым токсичным тяжелым металлом для светящихся бактерий оказалась ртуть: в концентрации 0,0016 мг/л она гасит биолюминесценцию при экспозиции 5 мин на 50%. Простота биолюминесцентного метода и малое время анализа (30 мин) делают его широко распространенным при контроле различных типов сточных вод (Стом и др., 1993; Сазонова и др., 1997).

Метод биолюминесценции нашел применение в Нидерландах (de Zwart, Sloff, 1983), Германии (Kalnowski, 1986), США (Bulich, 1982), Канаде (Ribo, Kaiser, 1983) (цит. по Стом и др., 1993). За рубежом люминесцентные бактериальные испытания выполняют с помощью анализаторной системы токсичности «Микротокс», модели Бекмана 2055 по методике, рекомендованной производителем.

Биолюминесцентный метод анализа в нашей стране используют в научных исследованиях Институт биофизики СО РАН, КГУ (г. Красноярск), Институт биологии СО РАН, ИГУ (г. Иркутск), Институт водных и экологических проблем СО РАН (г. Барнаул), а также в клинической биохимии и микробиологии.

Определение токсичности водной среды биолюминесцентным способом имеет широкие возможности и используется на промышленных предприятиях (Красноярский ЦБК, Научно-производственная лаборатория нетрадиционных методов очистки сточных вод, лесоперерабатывающий комбинат в г. Лесосибирске) (устные сообщения Г.И. Тушковой и Н.А. Бумагиной по биотестированию в г. Красноярске, 1992).

В экспериментах по биотестированию биолюминесцентным методом используют лиофильно высушенную в вакууме из замороженного состояния культуру светящихся бактерий *Photobacterium phosphoreum* в качестве тест-объекта. Во флакон с микробиосенсором (*Ph. phosphoreum*) добавляют 5 мл 3% NaCl, после 30-минутной экспозиции культура светящихся бактерий готова к измерению. В кюветы с контролем и исследуемыми пробами вносят по 50 мкл микробиосенсора и через определенные промежутки времени (5, 10, 15, 25, 30 мин) измеряют на приборе интенсивность свечения бактерий. Контролем служит бидистиллированная вода с 3% NaCl. При использовании биолюминесцентного метода о степени токсичности воды судят по отклонению интенсивности свечения биосенсора в опытных вариантах по сравнению с контрольным свечением. Воздействие испытуемых образцов воды на интенсивность процесса свечения бактерий может быть стимулирующим (+), не отличаться от контрольных значений и ингибирующим (–) процесс люминесценции. Интенсивность свечения бактерий рассчитывают по формуле:

$$T = (I_k - I_o) / I_k * 100,$$

где I_k – интенсивность свечения бактерий в контрольной пробе; I_o – интенсивность свечения в опытной пробе.

Измерения проводят в трех повторностях. Интенсивность свечения люминесцентных бактерий при тестировании проб среды измеряют на биолюминометре БЛМ-8802, изготовленном в СКТБ «Наука» г. Красноярска по разработанной там же методике. Для оценки результатов используют шкалу, предложенную в работе Рибо, Кайзер (Ribo, Kaiser, 1987), где угнетение свечения в диапазоне 0–20% оценивают как отсутствие, 21–50% – как малую и более 50% – как высокую токсичность образца.

ранее были проведены исследования влияния известных доз различных токсикантов на процесс люминесценции у бактерий *Ph. phosphoreum* (Кратасюк, 1982). В результате этих исследований были построены калибровочные кривые для ряда токсикантов: $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $CdCl_2$, $K_2Cr_2O_7$, п-бензохинона, афлатоксинов пше-

ницы, муки, семян подсолнечника. Отклонение опытных значений интенсивности свечения на $\pm 20\%$ от контроля принято считать нормой.

Биотестирование с использованием ракообразных

Как уже было отмечено, планктонные ракообразные заслуживают особого внимания как тест-объекты в токсикологических работах. Благодаря широкому распространению и большой численности в биоценозах они играют важную роль в продуктивности водоемов, а также являются основным пищевым звеном в рационе многих промысловых рыб. Планктонные рачки — активные фильтраторы воды и поэтому способны накапливать значительные количества токсикантов.

Метод основан на чувствительности пресноводных рачков-фильтраторов к токсичности среды или другим неблагоприятным факторам (высокое содержание взвесей, дефицит кислорода, повышенные сапробности и т.д.). Методика биотестирования на дафниях базируется на определении изменений *выживаемости и плодовитости дафний* при воздействии токсических веществ, содержащихся в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Кратковременное биотестирование (до 96 час) позволяет определить *острое токсическое действие* воды на дафний по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой воде за определенное время. Критерием токсичности воды является гибель 50% и более дафний за 96 часов в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Длительное биотестирование (20 и более суток) позволяет определить *хроническое токсическое действие* воды на дафний по снижению их выживаемости и плодовитости. Показателем выживаемости служит среднее количество исходных самок дафний, выживших во время биотестирования, *показателем реальной плодовитости* — среднее количество молодежи, выметанной в течение биотестирования в пересчете на одну выжившую исходную самку, *показателем потенциальной плодовитости* — среднее количество яиц и эмбрионов в выводковой камере в конце опыта по сравнению с контролем. Критерием токсичности является достоверное отличие от контроля показателя выживаемости и плодовитости дафний.

Ухудшение условий среды отражается на *поведенческих реакциях* рачков, окраске тела, наполненности кишечника, частоте сердцебиения, степени накопления жира и т.д. Регистрация этих показателей и их балльная оценка позволяют дать количественную харак-

теристику общему физиологическому состоянию дафний и по нему судить о качестве тестируемой воды.

Daphnia magna как тест-объект. Характеристика этого тест-объекта приводится во многих пособиях (Методические указания..., 1986; Побегайло, Новосадова, 1986; Исакова, Колосова, 1988; Мануйлова, 1964).

Систематическое положение, местообитание: класс Crustacea; отряд Cladocera; семейство Daphniidae; вид Daphnia magna Straus.

Дафнии обитают в стоячих и слабопроточных водоемах. На территории России дафнии широко распространены. Являются типичными мезосапробами, переносят осоление до 6‰ .

D. magna — ценный кормовой объект, как рачок-фильтратор активно участвует в самоочищении воды. В природных условиях встречается в различного рода водоемах, относится к индикаторам мезосапробных условий.

Этот вид дафний имеет относительно крупные размеры. Рачки полупрозрачны, что позволяет просмотр их под биноклем или лупой. Они имеют достаточно короткий биологический цикл: от вымета до начала размножения проходит от 8 до 12 дней. Рачки хорошо культивируются в течение года, что позволяет использовать их в экспериментах в любые сезоны. Они весьма чувствительны ко многим токсикантам.

Содержание культуры в лабораторных условиях. Содержать и разводить дафний удобно в шкафу-термолюминостате, но можно и в обычном лабораторном помещении с дополнительным освещением лампой дневного света. Оптимальная температура $20 \pm 2^\circ \text{C}$, продолжительность светового дня — 12 час. Культивируют дафний на водопроводной воде (можно на чистой природной воде, предварительно профильтрованной через мельничный газ). Для корма используют протококковые зеленые водоросли (хлореллу, сценедесмус), добавка — пекарские или кормовые дрожжи. Достаточное количество корма — 600–700 тыс. кл./мл.

Маточную культуру дафний содержат в стеклянных стаканах с плотностью посадки 1–2 экз. на 200 мл среды. Воду в стаканах меняют наполовину один раз в сутки. В экспериментах при биотестировании необходимо использовать синхронизированную культуру, т.е. одновозрастную молодежь от нескольких самок. Один из способов: в аквариум отсаживают 4–5 самок с выводковыми камерами, заполненными яйцами или зародышами примерно на одной стадии развития; после вымета молодежи самок удаляют. Можно отбирать из маточной культуры молодежь с начавшими развиваться (темными) гонадами.

Оборудование и посуда. Шкаф-термолюминостат, микроскоп, бинокляр, рН-метр, микрокомпрессор (или камера) для продувания воздуха, термометр, аквариум для культивирования культуры (не менее 2 л), химические стаканчики объемом 50 мл (можно до 200 мл), колбы для выращивания водорослей, мельничный газ (или сито №70).

Ход анализа и регистрируемые показатели. В отобранную из водного объекта пробу воды объемом 100 мл помещают 5 экз. молодых дафний. Исследуемую воду предварительно фильтруют через мельничный газ №70 для исключения пищевых конкурентов. Тестирование ведут в трех повторностях, подкормку дафний в эксперименте не проводят. Время экспозиции острого опыта — 96 часов, хронического — 15 суток.

Регистрируют поведение и состояние дафний: в течение первых суток через 1, 2, 5 часов, в последующие сутки 2 раза в день. Нарушения в поведении рачков могут проявляться в резком подъеме к поверхности, опускании на дно сосудов, «ползании» по дну, вращении через голову, скучивании в одном месте на дне, судорожных движениях плавательных антенн, учащенном или замедленном движении грудных ножек, иммобилизации, гибели.

Выживаемость дафний оценивают в процентах к контрольным показателям с учетом времени экспозиции. *Гибель более 20% дафний в опыте свидетельствует о низком качестве воды исследуемого объекта.* В конце экспозиции опыта проводят оценку физиологического состояния дафний. За основу характеристики состояния дафний принята биологическая шкала градаций отдельных показателей (Лесников, 1971). Оценка реакции рачков на качество среды проводится по 5-балльной системе, где в основном учитывают поведение рачков, степень наполненности кишечника, структуру и окраску его содержимого, окраску тела и количество жира у дафний, состояние покровов тела.

Оценка реакции дафний:

1 балл — хорошее состояние рачков (рачки активные, окраска тела желтая, капель жира много, кишечник заполнен полностью или слабо в передней части, окраска содержимого зеленовато-оливковая или зеленовато-охристая);

2 балла — слабые изменения (рачки активные, окраска тела желтоватая, капли жира мелкие, кишечник заполнен, содержимое его частично может быть рыхлым). Это реакция дафний, связанная с легкими повреждениями, не угрожающими гибелью;

3 балла — средние изменения (окраска бледно-желтая или диф-

фузно-розовая, капель жира мало и они мелкие, кишечник заполнен менее чем наполовину или все содержимое просвечивает). Это реакция дафний, связанная с повреждением или нарушениями средней тяжести;

4 балла — сильные изменения (окраска тела бледная «стеклянная» или мутная, капель жира нет, содержимое кишечника прозрачное или наполнение очень слабое и только в задней части кишечника). Это реакция рачков, угрожающая жизни особей;

5 баллов — гибель (симптомы, свидетельствующие о скорой гибели дафний: засорен фильтрующий аппарат, хлопья или образования на антеннах и каудальной игле, судорожное дрожание антенн, замедление движения грудных ножек, обездвиживание, паралич).

Суммарная оценка степени опасности анализируемой среды для дафний дается путем расчета коэффициента τ . Расчет проводят по формуле:

$$\tau_x = \sum Jt(i)/\sum Et(i) * n,$$

где $Jt(i)$ — номер (балл) градации выявленных при биотестировании реакций;

$Et(i)$ — время проявления показателя действия;

n — число организмов, у которых отмечена соответствующая реакция.

Проведенные расчеты оценки опасности анализируемых вод по состоянию дафний показали, что при экспозиции:

— 1 сутки — τ_1 может колебаться от 1 до 5;

— 2 суток — τ_2 может колебаться от 0,5 до 2,5;

— 3 суток — τ_3 может колебаться от 0,33 до 1,66.

Причем, чем хуже состояние рачков и соответственно выше балл, тем выше величина τ_x . При 3-суточной экспозиции показатель τ_x выше 1,0 предупреждает об ухудшении условий существования гидробионтов в анализируемом водном объекте.

Пример расчета. Все 10 дафний, помещенные в опыт, на 3-е сутки были живы. Общее их состояние оценивали так: 6 экземпляров — в 2 балла, 4 — в 1 балл. Вычисляем суммарный коэффициент их состояния:

$$\tau_3 = (6*2/3 + 4*1/3)/10 = 0,53.$$

Показатель τ меньше единицы качество исследуемой воды оценивает как удовлетворительное.

Обработка экспериментальных данных. Из возможных вариантов обработки экспериментальных токсикологических данных наиболее целесообразно использование известного в биометрии про-

бит-анализа (Лакин, 1973). Этот метод, основанный на представлении о статистической (вероятностной) природе токсических эффектов, не только позволяет получить в компактной и сопоставимой форме информацию о результатах целых серий экспериментов, но и оценить вариабельность и достоверность этих результатов.

Методика пробит-анализа достаточно обстоятельно изложена в работах М.А. Беленького (1963) и Г.Ф. Лакина (1973). В этом методе характеристику изменения численности организмов под влиянием токсических или стрессовых доз рассматривают как вариационный ряд с нормальным распределением альтернативных признаков. Задача сводится к отысканию параметров этого ряда: средней дозы, вызывающей эффект у 50% особей (LD_{50}), и стандартного отклонения LD_{50} . Для решения этой задачи строят график, на котором по оси абсцисс откладывают логарифмы доз (концентраций), а по оси ординат пробиты (единицы вероятности), соответствующие экспериментальным величинам смертности при разных дозовых нагрузках (рис. 4).

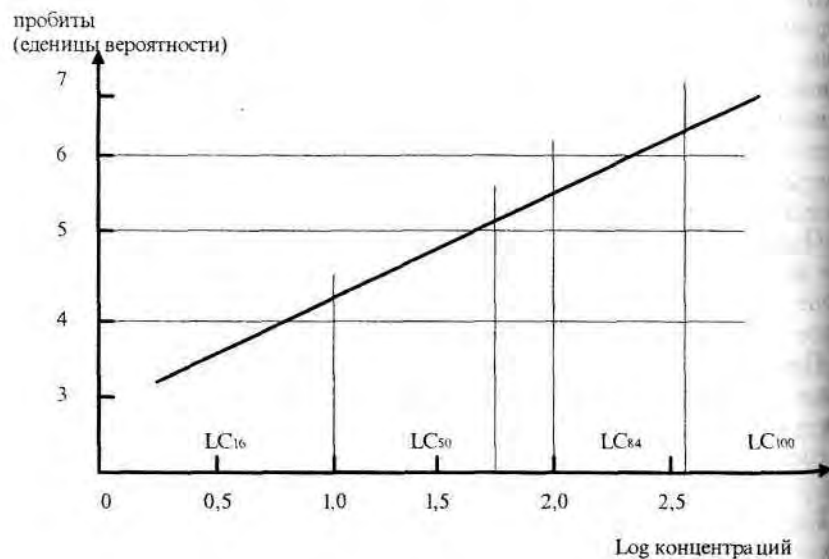


Рис. 4. Пробитный график эффекта действия свинца на морских бокоплавов (Лесников, 1973).

Проведенная через совокупность полученных точек прямая наиболее точно отражает зависимость эффекта от дозы (концентрации) вещества, а пересечение прямой с линией пробита 5 дает величину LD_{50} или LC_{50} .

Рассматриваемый метод позволяет оценивать не только величину LC_{50} или EC_{50} (концентрации, вызывающие соответственно гибель или какой-либо другой эффект у 50% особей), но и ее среднее квадратичное отклонение, которое в первом приближении может быть получено из уравнения:

$$\sigma = (LC_{84} - LC_{16})/2,$$

где LC_{84} и LC_{16} — концентрации, которые за этот же срок опыта вызвали эффект у 84 и 16% особей, что соответствует пробиту 6 и 4 (рис. 2).

Затем может быть найдена статистическая ошибка:

$$S = \sigma/n,$$

где n — объем выборки (Лесников, 1979).

Данные для перехода от выражения эффекта в процентах к пробитам приведены в соответствующих таблицах (Лакин, 1973).

Биотестирование с использованием водорослей

Методика основана на определении изменения интенсивности размножения водорослей под воздействием токсических веществ, содержащихся в тестируемой воде, по сравнению с контролем. Показателем интенсивности размножения является коэффициент прироста численности клеток в единицу времени (Методическое руководство..., 1990).

Кратковременное (96 час.) биотестирование (острый опыт) позволяет определить наличие острого токсического действия тестируемой воды на водоросли, а длительное (14 суток) — хронического токсического действия.

Критерием токсичности воды является достоверное снижение коэффициента прироста численности клеток в тестируемой воде по сравнению с контролем.

В качестве тест-объекта выбраны культуры водорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. или *Chlorella vulgaris* Beijer.

Scenedesmus как тест-объект. Систематическое положение:

- отдел Chlorophyta;
- порядок Chlorococcales;
- семейство Scenedesmaceae;
- вид *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb.

Данный вид относится к ценобиальным организмам. Ценобии 2-, 4-, реже 8-, 16-клеточные, в виде плоских пластинок. Клетки удлинненно-овальные, с закругленными концами. Краевые клетки имеют два отогнутых наружу рога. Оболочка гладкая. Размеры клеток 7–43х2,5–16 мкм. Размножение автоспорами. Автоспоры в материнской оболочке располагаются пучком, после освобождения разворачиваются в виде пластинки. Иногда (особенно в условиях культивирования) вместо ценобиев образуются отдельные клетки. Вид широко распространен в разнообразных биотопах, главным образом в планктоне пресных водоемов.

Хлорелла как тест-объект. Систематическое положение:

- отдел Chlorophyta;
- порядок Chlorococcales;
- семейство Chlorellaceae;
- вид *Chlorella vulgaris* Beijer.

Хлорелла относится к одноклеточным водорослям. Клетки шаровидные, с тонкой оболочкой, без слизи. Хроматофор чашевидный, с пиреноидом. Размножение автоспорами, образующимися по 4–8, реже 16 и освобождающимся через разрыв материнской оболочки. Диаметр клеток 4,2–10,5 мкм. Широко распространенный вид.

Культивирование водорослей. Водоросли выращивают на искусственной питательной среде Успенского №1 (табл. 5).

Таблица 5

Состав питательной среды Успенского №1

Реактивы	Содержание, г/л	
	в среде для культивирования	в растворах солей для биотестирования
KNO_3	0,025	50,0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,025	50,0
KH_2PO_4	0,025	50,0
K_2CO_3	0,0345	69,0
$Ca(NO_3)_2$	0,100	200,0

Примечание: Добавляют раствор микроэлементов (1 мл): H_3BO_3 – 2,86; $MgCl_2 \cdot 4H_2O$ – 1,81; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,222 г/л; MoO_3 – 17,64; NH_4VO_3 – 22,96 мг/л.

Раствор микроэлементов вносят в среду после стерилизации, перед посевом. Питательную среду для культивирования водорос-

лей готовят согласно процедуре подготовки корма для дафний.

Для биотестирования готовят отдельно по 100 мл раствора каждой соли (табл. 5). Питательную среду, растворы отдельных солей и микроэлементов стерилизуют в автоклаве в течение 45–60 мин при 1 атм. Колбы для культивирования водорослей стерилизуют сухим жаром в течение 1 часа при 180° С.

Культуру водорослей вносят в стерильную колбу с питательной средой в количестве, дающем светло-зеленое окрашивание. После посева (над пламенем спиртовки) колбу закрывают стерильной ватно-марлевой пробкой и колпачком из пергаментной бумаги. Культивируют водоросли при круглосуточном освещении лампами дневного света, размещенными на расстоянии 30–40 см от поверхности культуры, освещенность – 2000–3000 лк. Водоросли можно выращивать на окне при естественном освещении, защищая от прямых солнечных лучей. Культуру водорослей перемешивают, встряхивая 1–2 раза в сутки. Оптимальная температура для выращивания водорослей 18–20° С.

Условия биотестирования. Для биотестирования используют 5–7-суточную культуру водорослей, находящуюся на стадии экспоненциального роста. Перед биотестированием ее сгущают фильтрованием через мембранный фильтр №4 или фильтровальную бумагу (синяя лента) с помощью аппарата Зейтца. Клетки можно также сконцентрировать отстаиванием культуры и последующим отсасыванием надосадочной среды из колб.

С фильтра водоросли смывают 30–50 мл контрольной воды. Проверяют численность суспензии клеток, которую используют для посева. Численность клеток в суспензии должна составлять 5–10 млн кл./мл.

Для подсчета численности клеток используют счетную камеру Горяева или Фукс-Розенталя. Камеру и покровное стекло обезжиривают. Покровным стеклом накрывают камеру и притирают его до образования радужных колец интерференции. Из каждой колбы пипеткой наносят по одной капле тщательно перемешанной суспензии на верхний или нижний край покровного стекла. Камеру заполняют так, чтобы не образовывались пузырьки воздуха, избыток суспензии вытесняется по канавкам. Просматривают 16 квадратов по диагонали или все поле камеры в случае малой численности водорослей (при одном заполнении камеры просчитывают не менее 100 клеток). Из каждой колбы просматривают не менее трех проб. Вычисляют по формуле количество клеток водорослей в 1 мл суспензии:

$$M = m/n \cdot V \cdot 1000,$$

где m — количество подсчитанных клеток;
 n — количество просчитанных маленьких квадратов камеры;
 V — объем части камеры, имеющей площадь маленького квадрата (Методическое руководство..., 1990).

Биотестирование проводят при оптимальных температуре и освещении.

Процедура биотестирования. Берут пробу сточной или природной воды объемом 0,5 л. При кратковременном биотестировании сточной воды в колбу емкостью 250 мл наливают по 100 мл контрольной или тестируемой воды. Повторность двукратная. В каждую колбу пипеткой добавляют по 0,5 мл сгущенной культуры водорослей, по 0,1 мл каждого солевого раствора и раствора микроэлементов.

Колбы закрывают ватно-марлевыми пробками, их содержимое тщательно перемешивают и в каждой колбе определяют исходную численность клеток, которая должна составлять 25–50 тыс. кл./мл. Колбы помещают в люминостат или в хорошо освещенное место, защищенное от прямых солнечных лучей. Через 96 час биотестирование заканчивают. В каждой колбе учитывают численность клеток для определения наличия острого токсического действия сточной или природной воды.

При длительном биотестировании воды из контрольного или других створов водного объекта проводят те же операции, что и при кратковременном биотестировании. Первый учет численности клеток водорослей производят через 96 час от начала биотестирования, чтобы определить наличие острого токсического действия тестируемой воды.

При отсутствии острого токсического действия биотестирование продолжают. На седьмые сутки от начала биотестирования производят смену контрольной и тестируемой воды на свежееотбранную. Для этого в новую партию колб емкостью 250 мл наливают по 75 мл контрольной или тестируемой воды из свежееотбранной пробы, в каждую колбу добавляют вышеуказанное количество растворов солей и микроэлементов.

Тщательно перемешивают содержимое колб, в которых проводили биотестирование в течение первых 7 суток. Пипеткой с резиновой грушей отбирают из содержимого каждой колбы по 25 мл, переносят соответственно в свежеприготовленные растворы и перемешивают. Затем в каждой колбе определяют численность клеток и продолжают биотестирование еще в течение 7 суток. Через 14

суток устанавливают: оказывает ли тестируемая вода хроническое токсическое действие на водоросли (Методическое руководство..., 1990).

Обработка и оценка результатов. Для определения наличия острого или хронического действия тестируемой воды на водоросли рассчитывают коэффициент прироста K численности водорослей в контроле и тестируемой воде.

$$K = N_t / N_0,$$

где N_t — численность клеток водорослей в контроле или тестируемой воде через учитываемый промежуток времени t , кл/мл;
 N_0 — исходная численность клеток, кл/мл (Методическое руководство..., 1990).

При длительном биотестировании в контрольной и тестируемой воде K определяют на 7-е сутки, после того как произведена смена воды.

Используя приемы статистической обработки, описанные для биотестирования в хроническом опыте, устанавливают достоверность различия между коэффициентом прироста численности клеток в контроле и тестируемой воде. Достоверное снижение коэффициента прироста численности клеток в тестируемой воде по сравнению с контролем свидетельствует о наличии острого или хронического токсического действия тестируемой воды на водоросли.

Оборудование, материалы, реактивы. Используют обычное лабораторное оборудование, приборы и реактивы, посуду, в том числе автоклав (ГОСТ 9586-75), аппарат Зейтца или другой фильтровальный аппарат, дозаторы пипеточные на 0,1 и 0,5 мл П1 (ТУ 64-1-3329-81), камеру счетную Горяева или Фукс-Розенталя (ТУ 64-1-816-77), люминостат, микроскоп биологический «Биолам», фильтры мембранные №4.

Биотестирование с использованием рыб

Методика основана на сравнении выживаемости рыб в тестируемой воде и контроле (Методическое руководство..., 1990).

Кратковременное биотестирование (до 96 час) позволяет определить острое токсическое действие воды на рыб по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой воде или контроле за определенное время. Критерием токсичности является гибель 50% и более рыб за период времени до 96 час в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Длительное биотестирование (до 30 суток) позволяет опреде-

лить хроническое токсическое действие воды на рыб по их выживаемости. Критерием токсичности является достоверное снижение выживаемости рыб в тестируемой воде по сравнению с контролем.

В качестве тест-объектов используют рыб, широко применяемых в международных и национальных стандартах по биотестированию воды — гуппи (*Poecilia reticulata* Pet.) или данио (*Danio (Brachydanio) rerio* Hamilton-Buch.).

Гуппи как тест-объект. Систематическое положение:

- класс Pisces;
- отряд Cyprinodontiformes;
- семейство Poeciliidae;
- вид *Poecilia reticulata* Peters.

Гуппи — один из распространенных видов аквариумных рыб. В природе они обитают в тропических водоемах, где играют важную экологическую роль, уничтожая личинок mosкитов и комаров. Гуппи — мелкие рыбы с ярко выраженным половым диморфизмом. Самцы (3–4 см) обычно мельче самок и окрашены в более яркие цвета. В их окраске преобладают серовато-коричневые тона с очень яркими красными, голубыми, зелеными и черными вкраплениями и точками. Самки достигают в длину 6 см, окрашены обычно в желтовато-зеленые цвета.

Для содержания гуппи используют термостатируемые аквариумы, обеспечивающие плотность посадки тест-объектов из расчета 1–2 л воды на 1 экз., для производителей — 4 л на 1 экз. Аквариумы размещают в помещении, не содержащем токсических паров или газов, и заполняют водопроводной водой, предварительно отстоянной в течение 3 суток. Вода для содержания гуппи должна отвечать следующим требованиям: жесткость — 2,8–4,0 мг экв./л, рН — 7,0–8,0, температура — 24–27° С. Воду в аквариумах аэрируют с помощью микрокомпрессоров. Ежедневно 1/5 объема воды в аквариуме меняют на свежую, температура которой не должна отличаться от аквариумной. Первоначальный объем воды в аквариумах поддерживают, доливая дистиллированную воду вместо испарившейся. Со дна аквариумов сифоном регулярно убирают ил.

Перед размещением рыб аквариумы засаживают мелколистными и плавающими растениями. Аквариумы освещают ярким верхним светом не менее 8 ч. в сутки. Для этого используют электролампы накаливания или люминесцентные.

Кормят рыб 1–2 раза в сутки, производителей — 3–5 раз сухим (дафнии, циклопы) или живым кормом (мотыль, трубочник,

дафнии, циклопы). По возможности следует избегать сухого корма. Наряду с этим кормом необходимо дополнительное питание растительной пищей (водорослями, салатом, листьями аквариумных растений и т.п.). Корм вносят в таком количестве, чтобы рыбы съедали его без остатка в течение 3–5 мин, так как его излишки приводят к ухудшению качества воды в аквариуме. Для получения молоди отбирают производителей без признаков заболеваний не старше 2 лет (продолжительность жизни гуппи 3–3,5 года).

Самку, готовую к вымету, помещают в отдельную термостатируемую нерестовую емкость объемом не менее 4 л, заполненную водопроводной водой с температурой 25 ± 1 °С и большим количеством мелколистных растений. Готовность самки к вымету мальков определяют по наличию хорошо заметного темного пятна перед анальным плавником. При этом форма брюшка приближается к прямоугольной и оно становится намного шире спины.

После окончания вымета самок изолируют, так как они часто поедают потомство. Мальки рождаются совершенно сформированными. Лучшим кормом для них является «живая пыль», состоящая из инфузорий, коловраток, молоди ветвистоусых рачков и науплиусов веслоногих рачков. При отсутствии «пыли» молодь гуппи кормят перетертыми сухими дафниями или любым другим измельченным сухим кормом. На 100 рыб вносят не более 1 г корма. По мере роста в рацион рыб вводят измельченный трубочник, мотыль, коретру и другой живой корм. Одно-, двухнедельных мальков кормят до 5 раз в сутки, более взрослых — 2–3 раза.

Мальков сортируют по размерам и постепенно переводят из нерестовых аквариумов в выростные (вначале объемом 50 л, а затем 200 л). Мальки становятся половозрелыми в 4–6 месяцев (Ильин, 1977; Романишин, Мишин, 1986).

Условия биотестирования. Для биотестирования используют гуппи в возрасте 1–3 недель или половозрелых данио. Биотестирование проводят при освещении рассеянным светом с естественной сменой дня и ночи, концентрацией кислорода в воде не менее 4 мг/л и температуре воды для гуппи 25 °С, для данио — 23 °С. Гибель рыб в контроле не должна превышать 10%. Объем пробы воды для биотестирования — 20 л.

Процедура биотестирования. В аквариумы наливают по 10 л контрольной или тестируемой воды. Повторность двукратная. В каждый аквариум помещают по 10 рыб. Воду контрольных и опытных аквариумов аэрируют с помощью микрокомпрессоров. Смену воды в контрольных и опытных аквариумах производят через 2 суток.

Ежесуточно в каждом аквариуме подсчитывают количество выживших рыб и удаляют погибших. Погибшими считают рыб, не подающих признаков движения или дыхания в течение 5 мин после прикосновения к ним стеклянной палочкой.

Для определения наличия острого токсического действия воды биотестирование проводят в течение 96 час. Если в любой учитываемый период времени гибнет 50 и более процентов рыб, биотестирование прекращают. При кратковременном биотестировании рыб не кормят.

Для определения наличия хронического токсического действия воды биотестирование проводят в течение 30 сут. Если при промежуточном подсчете устанавливают достоверное отличие от контроля показателя выживаемости рыб в тестируемой воде, время биотестирования сокращается.

Результаты биотестирования обрабатывают, используя приемы, описанные выше.

Если при биотестировании длительностью до 96 час процент погибших рыб в тестируемой воде по сравнению с контролем равен или больше 50, тестируемая вода оказывает острое токсическое действие, если меньше — тестируемая вода не оказывает острого токсического действия на рыб.

Вывод о наличии хронического токсического действия воды делают на основании определения достоверности различия выживаемости рыб в контроле и тестируемой воде. Достоверное снижение выживаемости рыб в тестируемой воде по сравнению с контролем свидетельствует о наличии хронического токсического действия тестируемой воды на рыб.

Оборудование и материалы. Используют обычное лабораторное оборудование, приборы, посуду, материалы и реактивы, в том числе аквариумы объемом 200, 50, 10 л, микрокомпрессоры, оксиметр-1, кислородомер ЮЛ-115, сачки, корм для рыб.

4.4. ПРИМЕРЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Экотоксикологическая оценка поверхностных и подземных вод бассейна р.Алей. Материалом для работы служили пробы поверхностных вод бассейна р. Алей (от с. Староалейское до г. Рубцовска), Гилевского и Склюихинского водохранилищ, озер: Новенькое, Ракиты, Горькое-Перешеечное и питьевых источников Локтевского, Угловского и Рубцовского районов.

Определение качества подземных и поверхностных вод проводили:

- 1) по интенсивности биолюминесцентного сигнала светящихся бактерий *Ph. phosphoreum* (Кратасюк и др., 1980);
- 2) по выживаемости и плодовитости ветвистоусых рачков *Daphnia magna* (Лесников и др., 1986);
- 3) по скорости перекисного окисления фосфолипидных липосом (Липосомы в..., 1983);
- 4) по частоте aberrаций хромосом в обработанных исследованной водой клетках китайского хомячка (Поливода, 1990).

Пункты и условия отбора проб приведены в таблице 6.

Таблица 6

Пункты и условия отбора проб питьевой воды Локтевского и Рубцовского районов Алтайского края

№ пунктов	Населенный пункт	Вид источника	pH	Жесткость воды
1	г. Горняк, ул. Кирова, 55	колодка	7,95	5,85
2	г. Горняк, Центральная райбольница	колодка	7,90	4,30
3	г. Горняк, гостиница АГОК	колодка	8,03	5,65
4	с. Успенка	колодка у клуба	7,85	6,45
5	с. Самарка, ул. Центральная, 17	колодка	7,55	7,85
6	п. Кировский	колодка около магазина	7,91	5,025
7	с. Николаевка	колодка около магазина	6,81	5,35
8	с. Новенькое	колодка у сельсовета	7,00	6,35
9	с. Новомихайловка	в магазине	6,49	7,80
10	р.п. Локоть, ул. Ленина, 2	колодка	7,60	13,75
11	с. Покровка, ул. Комсомольская, 1	колодка	6,49	7,80
12	с. Веселоярск	в хоз. магазине	7,15	—
13	с. Новоалександровка	сельсовет	7,87	6,60
14	с. Половинкино	сельсовет	6,80	13,00
15	г. Рубцовск, ул. Пролетарская, 158	колодка	6,90	4,30
16	г. Рубцовск, ул. Менделеева, 13	колодка	6,85	4,20
17	г. Рубцовск, Склюихинское водохр.	водоем	5,95	5,00

Оценка качества питьевой воды биолюминесцентным методом. При использовании биолюминесцентного метода о степени токсичности воды судят по отклонению показателей интенсивности свечения в опытных вариантах по сравнению с контрольным свечением более чем на 15–20%.

Положительные значения интенсивности свечения (стимуляция процесса биолюминесценции) обусловлены действием содержащихся в воде веществ или комплексных соединений органической природы. Стимуляция свечения тест-объекта *Ph. phosphoreum* более чем 20% свидетельствует об отрицательном характере воздействия. Ингибирование процесса люминесценции тест-организмов происходит в основном под действием тяжелых металлов и их соединений. Результаты биотестирования питьевой воды люминесцентным методом представлены на рисунке 3. По оси абсцисс отложен процент интенсивности свечения тест-организмов по отношению к контролю, по оси ординат — номера пунктов отбора проб. Ингибирование люминесценции обозначено знаком «-», а стимуляция — знаком «+». В норме вода должна иметь аналогичные контролю значения с диапазоном разброса $\pm 20\%$. Таким образом, чем выше процент ингибирования или стимуляции свечения, тем токсичнее вода исследуемого источника для данного тест-организма.

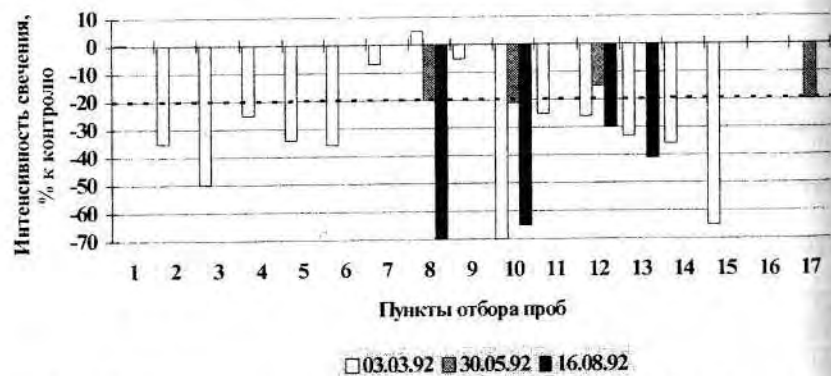


Рис. 5. Интенсивность свечения тест-объекта *Ph. phosphoreum* при биотестировании питьевой воды Локтевского и Рубцовского районов Алтайского края: номера пунктов отбора проб соответствуют номерам в таблице 6; пунктиром показана граница нормы

Анализ воды питьевых источников в марте показал, что наиболее чистой является вода в пунктах 7, 8, 9, 16. Вода питьевых источников г. Горняк, р.ц. Локоть и г. Рубцовск ингибирует люминес-

ценцию тест-объектов на 50, 70 и 65% соответственно (пункты 3, 10 и 15).

По результатам биотестирования питьевой воды в мае отмечено, что в период весеннего половодья питьевая вода исследуемых источников мало отличается по качеству между собой. Она слабо ингибирует свечение фотобактерий (от -5 до -20%) и соответствует показателям воды области контрольных значений. Питьевая вода Склюихинского водохранилища (водозабор для г. Рубцовска — пункт 17) не отличается по качеству от воды подземных питьевых источников.

По данным биотестирования питьевой воды, проведенного в августе (в период летней межени), следует отметить высокий уровень токсичности воды в с. Новенькое (-70%) и р.ц. Локоть (-63%). Артезианская питьевая вода двух других точек отбора проб ингибирует процесс люминесценции тест-объекта до -30 и -43% соответственно, что свидетельствует о незначительном ухудшении качества воды.

Результаты биотестирования поверхностных вод с помощью дафний. С помощью ветвистоусых рачков *Daphnia magna* параллельно были проведены исследования качества поверхностных вод южных районов Алтайского края в 12 пунктах: 4 озера, 2 водохранилища (рис. 6).

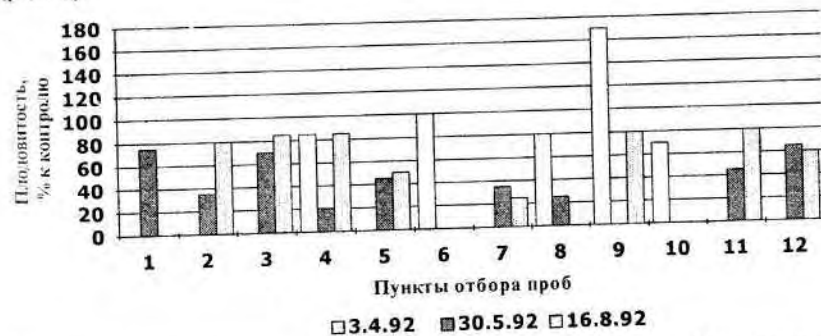


Рис. 6. Динамика реальной плодовитости тест-объекта *D. magna*, в процентах к контролю, при биотестировании поверхностных вод Локтевского, Рубцовского и Третьяковского районов Алтайского края: 1 — р. Алей, у п. Староалейское; 2 — Гилевское водохранилище, у п. Корболиха; 3 — Гилевское водохранилище, у п. Гилево; 4 — р. Алей, у п. Локоть; 5 — р. Алей, у п. Веселоярск; 6 — р. Алей, у п. Новоалександровка; 7 — Склюихинское водохранилище; 8 — р. Самарка; 9 — оз. Новенькое; 10 — оз. Ракиты; 11 — оз. Горькое-Перешеечное; 12 — оз. Белое

Анализ результатов оценки качества поверхностных вод с помощью ветвистоусых рачков показал, что в апреле вода оз. Новенькое вызывает стимуляцию процесса воспроизводства рачков до 170%. Вода р. Алей на исследованном отрезке водотока незначительно снижала реальную плодовитость дафний и по качеству относится к слабо токсичным водам. Вода р. Самарка имеет такое же качество, плодовитость дафний снизилась до 80%. Во время весеннего паводка (май) вода р. Алей у р.ц. Локоть снижала плодовитость тест-объекта до 20%, у п. Веселоярск – до 45%. Высокотоксичной является и вода р. Самарка, плодовитость дафний составила 25%. В период летней межени (август) качество поверхностных вод значительно улучшилось – повысилась реальная плодовитость рачков в воде Гилевского водохранилища, р. Алей у р.ц. Локоть, п. Веселоярск, оз. Горькое-Перешеечное и оз. Белое. Видимое улучшение качества воды произошло, возможно, за счет интенсификации процессов самоочищения водоемов и водотоков.

Окислительная и антиокислительная активность подземных вод. Воздействие артезианской питьевой воды на процессы перекисного окисления в биомембранах изучали на фосфолипидных липосомах. Они достаточно хорошо моделируют структуру биологических мембран и позволяют прогнозировать токсические последствия воздействия повреждающих факторов на организм.

Представленные в таблице 7 результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что питьевая вода населенных пунктов южных районов Алтайского края не содержит примесей, способных существенно влиять на развитие реакций перекисного окисления липидов биологических мембран. Эти данные дают основание считать, что исследованные образцы питьевой воды нетоксичны для биологических мембран.

Таблица 7

Влияние питьевой воды на перекисное окисление липосом по данным Л.С. Эрнестовой (Тушкова и др., 1992)

Населенный пункт	Скорость индуцированного окисления липосом (% к контролю)
с. Новенькое	97
р.ц. Локоть	98
п. Веселоярск	97
с. Новоалександровка	94

Примечание: За 100% принята скорость индуцированного окисления липосом в дистиллированной воде.

Оценка мутагенных свойств питьевой воды населенных пунктов Алтайского края. Для оценки мутагенных свойств питьевой воды в качестве модельной системы были использованы клетки китайского хомячка. Методика кратковременной обработки клеток хомячка на стадии развития G₂ образцами анализируемой воды позволила оценить возможность появления хромосомных и хроматидных аберраций (табл. 8).

Полученные результаты показали, что во всех образцах исследованной воды наблюдается повышенный уровень хромосомных аберраций, относящихся к типу парных фрагментов.

Таблица 8

Влияние питьевой воды на уровень повреждения хромосом в культуре клеток китайского хомячка по данным Л.С. Эрнестовой (Тушкова и др., 1992)

Хромосомные повреждения	с. Новенькое	р.ц. Локоть	п. Веселоярск	с. Новоалександровка	с. Староалейское	Контроль
Число проанализированных метафаз	200	300	200	200	100	700
% поврежденных клеток хомячка	5,5±1,6	5,3±1,3	2,5±1,1	5,0±1,5	7,0±2,6	3,0±1,2
Число хромосомных аберраций на 100 клеток	5,5±1,6	5,3±1,3	2,5±1,1	5,0±1,6	7,0±2,6	3,0±1,2
Фрагменты	2,0±1,0	3,3±0,6	1,0±0,5	1,0±0,5	4,0±2,0	0,1±0,5
Число хроматидных аберраций на 100 клеток	3,5±1,3	2,0±0,8	1,5±0,8	4,0±1,4	3,0±1,7	2,9±0,9
Фрагменты	2,5±1,1	1,6±0,7	0,5±0,5	1,5±0,8	1,0±1,0	1,7±1,0
Обмены	—	—	—	0,5±0,7	—	0,4±0,2
Изолюкусы	1,1±0,7	0,3±0,3	1,0±0,7	2,0±1,0	2,0±1,4	0,7±0,2

Как видно из представленных данных, процент повреждения клеток китайского хомячка почти во всех пробах воды, за исключением п. Веселоярска, увеличен почти в 2 раза. Аналогичные цифры

отмечены и в количестве aberrаций по сравнению с контролем. Число хромосомных aberrаций по типу фрагментов во всех пробах воды увеличено в 10 раз. Таким образом, питьевая вода южных районов Алтайского края вызывает мутагенные перестройки, т.е. увеличивает число поврежденных хромосом в культуре клеток китайского хомячка.

Биотестирование поверхностных вод бассейна р. Алей вышеуказанными методами позволяет заключить, что:

1) в период весеннего половодья (май 1992 г.) питьевая вода и поверхностные воды вызывали невысокий уровень угнетения процессов жизнедеятельности тест-организмов и по качеству относятся к слаботоксичным водам;

2) во время зимней и летней межени (март, август) токсичность подземных и поверхностных вод возрастает в р.д. Локоть, с. Новенькое, п. Веселоярск и с. Новоалександровка более чем в 2–3 раза, что позволяет отнести эти воды к категории высокотоксичных (Тушкова и др., 1992).

Экотоксикологическая оценка качества воды р. Барнаулки

В 1997–1998 гг. во все фазы гидрологического цикла (с мая по ноябрь) была проведена оценка качества воды р. Барнаулки биолюминесцентным методом. Протяженность исследованного участка реки составила 15 км (от устья и вверх по течению).

Результаты биотестирования качества воды р. Барнаулки с помощью фотобактерий – *Ph. phosphogeuim* представлены на рисунке 7.

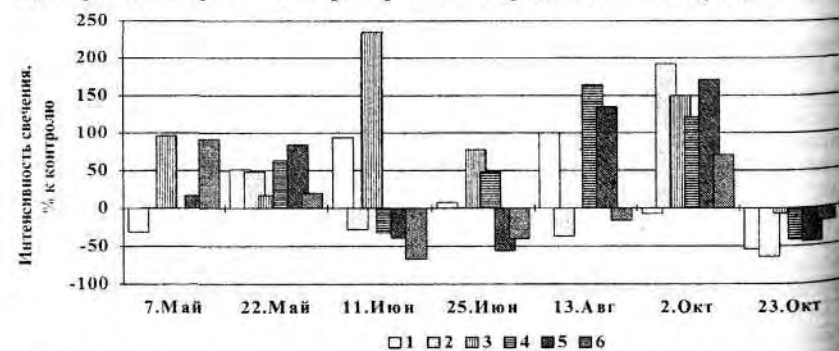


Рис. 7. Результаты биотестирования воды р. Барнаулки биолюминесцентным методом в 1997 г.: 1 – устье; 2 – Социалистический проспект; 3 – ниже стока АЗА; 4 – устье р. Пивоварки; 5 – Лесной пруд; 6 – п. Борзовая заимка

При поступлении в водоток веществ органической природы в мае доминировали процессы стимуляции свечения тест-организмов во всех точках отбора. В начале июня высокий уровень стимуляции процесса люминесценции тест-объекта (до +235%) отмечен в пробе воды «ниже стока АЗА», а в устье р. Барнаулки (до +90%). Вода из остальных пунктов отбора проб угнетала свечение фотобактерий (от –25 до –65%).

Качество воды р. Барнаулки в конце июня в пунктах отбора проб – Социалистический проспект и устье р. Барнаулки, соответствовало контрольным показателям. Высокий уровень стимуляции свечения отмечен в пробах воды «ниже стока АЗА». В точках Борзовая заимка и Лесной пруд вода угнетала люминесценцию фотобактерий до –49–52%. В августе вода исследуемых пунктов стимулировала свечение тест-организмов, что свидетельствует о высоком содержании органических веществ.

Анализ проб воды в октябре показал, что повышение уровня воды в реке, как и в начале периода наблюдений, вызывал стимуляцию свечения фотобактерий, связанную с действием органических компонентов. В конце октября происходило снижение интенсивности первичных продукционно-деструкционных процессов, самоочищающая способность реки в это время падала и вода угнетала процесс люминесценции тест-организмов от –7 до –64% по всем точкам отбора проб.

Таким образом, уровень токсичности воды р. Барнаулки в разные периоды гидрологического цикла в разных пунктах отбора проб зависит от интенсивности продукционно-деструкционных процессов водотока. В конце октября снижаются водность реки и интенсивность процессов самоочищения.

Глава 5. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЯХ

Для эколого-токсикологической оценки объектов окружающей среды на сегодняшний день применяют широкий спектр методов, позволяющих улавливать различные проявления эффектов токсического действия на молекулярном, субклеточном и клеточном уровнях организации.

5.1. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

В последние годы при сохранении определяющей роли традиционных показателей качества воды времяёмких, но не нуждающихся в сложном оборудовании методов, все чаще применяются показатели, полученные методами тонкого исследования нарушений в тканях и клетках организма. С помощью методов, позволяющих регистрировать показатели загрязнения, доказано, что токсический эффект представляет итог взаимодействия деструктивных процессов («механизм действия») и ответных компенсаторных реакций живой системы («реагирование»). Подобные процессы проявляются обычно уже на *молекулярном (биохимическом)* уровне. Полагают, что одним из первичных проявлений действия токсикантов является *нарушение проницаемости биологических мембран*, отвечающих за целостность клетки и проникновение в клетку из внешней среды различных веществ. Ни одно чужеродное или токсическое вещество не может оказать воздействие на клетку и организм без взаимодействия с мембраной или мембранными рецепторами (Котелевцев и др., 1986).

Проникновение веществ в клетку возможно только через биологические мембраны или мембранные образования. Исследование взаимодействия чужеродных и токсических соединений с мембранными структурами клетки помогает создавать биологические тест-системы, раскрывать механизмы действия ксенобиотиков и, следовательно, открывает возможности для направленного предотвращения последствий их влияния. Все приведенные ниже методы эколого-токсикологического анализа на основе биомембран широко применяются для оценки токсического действия сточных вод.

Тест-система на основе Na/K-АТФ-азы микросом жабр рыб. Na/K-АТФ-аза обеспечивает энергозависимый встречный перенос ионов Na^+ и K^+ против градиентов их концентраций. Высокой активностью обладает Na/K-АТФ-аза фракции микросом (микросомы — фрагменты мембран различного происхождения, образующиеся в процессе гомогенизации клеточного материала и дифференциального центрифугирования) жабр рыб (Котелевцев и др., 1986). Для микросомальной фракции жаберные филаменты отделяют от костных пластин, промывают в охлажденной до 4°C дистиллированной воде, осушают фильтровальной бумагой и гомогенизируют в течение 2 минут, затем центрифугируют и суспензируют по соответствующим методикам.

Этот метод широко используется для анализа действия токсикантов на ферментные системы жаберных мембран рыб. Мембраны жаберной ткани рыб первыми вступают в контакт с находящимися в воде токсикантами. Для оценки влияния сточных вод на величину удельной активности Na/K-АТФ-азы микросомальной фракции жабр рыбу *затравливают* сточными водами в разведении 1 : 20. В качестве контроля используют микросомы жабр рыб, содержащихся в чистой воде. В присутствии сточных вод активность фермента на 5–8 сутки незначительно снижается, через 12 суток она уже составляет 140–150% по сравнению с контролем (Котелевцев и др., 1986).

Тест-система на основе определения рНФФ-азной активности микросом жабр рыб. Это еще более удобный метод определения АТФ-азной активности. Основан он на определении скорости гидролиза синтетического субстрата АТФ-аз-паранитрофенилфосфата (рНФФ). Преимущество метода состоит в том, что при гидролизе рНФФ образуется окрашенное соединение (паранитрофенол), нарастание количества которого регистрируется спектрофотометрически (Котелевцев и др., 1986).

Тест-система на основе флуоресцентных зондов. Поведение флуоресцирующих веществ в биологических мембранах служит тестом на состояние этих структур. Изменение физико-химических характеристик мембран, вызываемое воздействием на них разнообразных соединений, оказывает значительное влияние на связывание зондов, квантовый выход или тушение флуоресценции. Первый зонд — 1-анилин-8-нафталин сульфат (АНС) был применен Лауреном в 1952 г. В настоящее время наряду с АНС применяются и другие зонды, например, пирен-2, хлортетрациклин и др. (Котелевцев и др., 1986). Зонды хорошо связываются с различными биомембра-

нами. По изменению параметров флуоресценции судят об изменениях *микровязкости* мембран, т.е. активности белков мембран. От микровязкости бислоя мембран зависят движение клеток, их слияние, активность мембранных ферментов, рецепторных структур, т.е. функциональное состояние мембраны и всего организма в целом.

Тест-система применяется на микросомальной фракции жабр рыб. Нативные биомембраны характеризуются определенной микровязкостью, и изменение этого параметра, регистрируемого с помощью изменения флуоресценции АНС, свидетельствует о степени повреждения биомембран. Длина волны возбуждающего света — 366 нм. Измеряют флуоресценцию на приборе СПЕКОЛ-10 с флуоресцентной приставкой, с использованием фильтра с длиной волны 480 нм.

Исследования с помощью пирена в качестве флуоресцентного зонда показали, что компоненты сточных вод ЦБК условно можно разделить на 3 класса: 1) разжижающие мембраны (скипидар, талловое масло и сульфатное мыло, метанол); 2) вызывающие структуризацию биомембраны (лигнин); 3) оказывающие незначительное влияние (этанол) (Котелевцев и др., 1986).

Тест-системы на основе микросомальных монооксигеназ гидробионтов. Оксигеназы — ферменты класса оксиредуктаз, катализирующие реакции присоединения к субстрату двух атомов кислорода. Монооксигеназные реакции лежат в основе метаболизма гидрофобных ксенобиотиков. Чужеродные соединения в монооксигеназной системе подвергаются атаке активированным кислородом, после чего становятся более гидрофильными и выводятся из организма. Монооксигеназы различных тканей животных являются основой общепризнанных биологических тест-систем благодаря двум основным свойствам. Во-первых, взаимодействие ксенобиотика с монооксигеназной системой по скорости соответствующих ферментативных реакций монооксигеназ позволяет судить о присутствии в организме, и, следовательно, в окружающей среде ксенобиотиков. Во-вторых, в результате метаболизма в системе монооксигеназ многие соединения становятся биологически активными. Этот процесс называется *метаболической активацией* ксенобиотиков. Именно благодаря метаболической активации большая группа соединений — полициклические ароматические углеводороды — приобретает мутагенные и канцерогенные свойства. Некоторые специалисты считают, что более 20% онкологических заболеваний людей связано с загрязнением водной среды (Котелевцев и др., 1986). Злока-

чественные новообразования развиваются и в тканях гидробионтов. Поэтому резко возрос интерес к монооксигеназной системе гидробионтов. Одна из таких монооксигеназ — цитохром Р-450 из печени рыб.

Тест-система на основе монооксигеназы цитохром Р-450 из печени рыб. Цитохром Р-450 был впервые обнаружен в мембранах эндоплазматического ретикулула (органоиде эукариотной клетки, представленном системой мелких вакуолей и канальцев, соединенных друг с другом). Свое название гемопротеид получил за характерный спектр поглощения в области 450 нм. В настоящее время этот фермент известен у всех живых организмов. Он является основным ферментом микросомальной системы, осуществляющим метаболизм ксенобиотиков.

Первым этапом монооксигеназной реакции является связывание субстрата с цитохромом Р-450, которое сопровождается появлением специфических спектров поглощения, характерных для определенных типов субстратов. Следующим этапом является восстановление фермент-субстратного комплекса электроном коферментов. На третьем этапе к восстановленному комплексу присоединяется кислород. На четвертом этапе комплекс восстанавливается электроном, на пятом — продукт реакции распадается и выходит на мембраны.

Концентрация цитохрома Р-450 в печени рыб может быть критерием функционального состояния рыб и изменяется под воздействием факторов внешней среды.

Для определения концентрации цитохрома Р-450 в тканях рыб используется метод Т. Омуре и Ф. Сато (Omura, Sato, 1964; цит. по: Козлов и др., 1983), или Иоханнсена (Котелевцев и др., 1986). Спектры поглощения цитохромов регистрируют на спектрофотометре «СПЕКОЛ» (Германия).

Радужная форель — один из первых объектов среди рыб, на котором детально исследованы механизмы реакции монооксигеназ ксенобиотиками класса ПАУ (полициклические ароматические углеводороды). Было показано, что полициклические углеводороды вызывают почти десятикратное увеличение бенз(а)пиренгидроксилазы под влиянием 3-метилхолантрена, бензантрацена и b-нафтолфлафона. Было изучено действие других многочисленных ПАУ на форели и установлено не только индуцирование, но и ингибирование действия монооксигеназной активности (Котелевцев и др., 1986). Была также показана индукция монооксигеназ в почках, кишечнике, селезенке.

Среди морских рыб большой чувствительностью к ПАУ обладает камбала, а среди пресноводных — карп. Изучались по этому методу скумбрия, ежовый скат, американский угорь, колючая акула (Котелевцев и др., 1986).

Имеется ряд сообщений по результатам изучения системы оксигеназ в мембранах эндоплазматического ретикулума печени рыб — эндемиков Байкала. Отмечена низкая концентрация цитохрома Р-450 у омуля и хариуса из Байкала как достаточно чистого водоема.

При биотестировании с использованием монооксигеназ следует учитывать, что их активность в значительной степени зависит от вида, пола, возраста и физиологического состояния рыб (Котелевцев и др., 1983а, б).

Электрофизиологическое тестирование. Подавляющее большинство чужеродных соединений вызывает нарушение структуры мембран, с чем связано резкое изменение их проницаемости для ионов, в результате чего происходит изменение электрических параметров клетки. На этом эффекте основан метод *электрофизиологического тестирования* качества поверхностных вод. В качестве тест-объекта удобно использовать крупные клетки харовых водорослей (Юрин, 1979, 1980, 1987). Установлена дифференциальная реакция клеточной мембраны на различные образцы природных вод. Разнообразие проявления биоэлектрической реакции делает ее информативным показателем, а возможность применения ЭВМ — экспрессной.

5.2. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ

Интенсивное загрязнение биосферы усугубилось радиоактивными соединениями, с которыми человек еще не сталкивался. Особенно тревожно то, что многие из них приводят к нарушениям генетических структур клеток организма. Уровень рождаемости детей с генетическими аномалиями достиг 10% и есть тенденция к дальнейшему увеличению этого показателя. Кроме того, при поражении генетических структур соматические клетки перерождаются в раковые, в связи с мутациями происходят дисфункциональные изменения клеток и тканей. Практически любая патология так или иначе затрагивает генетический аппарат клеток организма (Ильинских и др., 1992). Поэтому в первоочередную задачу генетиков входит поиск и разработка методов, с помощью которых можно достаточно точно определить мутагенность и канцерогенность как вновь

синтезируемых соединений, так и веществ, широко применяемых в качестве пищи, в быту, промышленности, сельском хозяйстве и медицине, чтобы обезопасить человека от возможного контакта с источниками мутаций.

Каждому виду присущ свой кариотип, т.е. «совокупность количественных (число хромосом и их размеры) и качественных (морфология хромосом) признаков хромосомного набора» (Руководство по цитологии, 1966). Хромосомы могут изменяться спонтанно или под влиянием рентгеновского, нейтронного, α -, β -, γ -излучений.

Изменения в хромосомах, передающиеся по наследству, принято называть мутациями. *Генные* или точковые мутации представляют собой изменения отдельных участков хромосом на молекулярном уровне. *Хромосомные* мутации (или перестройки, абберрации) возникают в связи с фрагментацией и рекомбинацией хромосом. *Геномные* мутации связаны с изменением числа геномов (полиплоидия) или хромосом (анеуплоидия).

Существуют следующие типы хромосомных перестроек: дефисенси, делеции, инверсии, транслокации, дупликации и др. *Дефисенси* — это концевые нехватки хромосом. *Делеции*, или потери участка хромосомы, могут быть хромосомными и хроматидными. *Дупликация* — повторение участка гена или хромосомы. *Инверсия* — переворот на 180° участка генетического материала хромосомы или хроматиды. *Транслокации* — это перемещение участка одной хромосомы или хроматиды в другую хромосому или хроматиду.

Для анализа действия радиации используются метафазный и анафазный методы исследования.

Метафазный метод — изучение хромосомных и хроматидных перестроек в метафазе митоза. Метафазный метод учета перестроек хромосом представляет собой анализ структурных изменений хромосом, которые возникли вследствие повреждений хромосом на различных стадиях митотического и мейотического циклов и дошли до исследуемой метафазы. С помощью этого метода можно не только подсчитать общее количество перестроек, но и с предельной точностью учесть все типы хромосомных и хроматидных нарушений (Немцова, 1970; Метафазный митоз..., 1970).

Анафазный метод применяют при работе с многохромосомными объектами. Он позволяет выявить меньше различных типов аббераций хромосом, чем метафазный. При этом перестройки видны в виде одиночных и двойных колец, фрагментов (делеции) и одиночных и двойных мостов (транслокации).

При анализе подсчитывают митотические индексы и спектр аберраций. *Митотический индекс* — это отношение числа делящихся клеток ко всем просмотренным.

Спектр аберраций (K) определяют в расчете на 100 клеток по формуле (Паушева, 1988):

$$K = D \cdot 100 / B,$$

где D — число аберраций определенного типа;

B — число просмотренных клеток.

Для биологического анализа загрязнений стали применять экологическую генетику, особенно такой ее раздел, как цитогенетика. Цитогенетика (греч. kytos — клетка) — область генетики, изучающая закономерности наследственности и изменчивости на уровне клетки и субклеточных структур (Биологический энциклопедический словарь, 1995). На цитогенетическом уровне используют три метода анализа: цитогенетический, популяционный и мутационный. *Цитогенетический метод* заключается в цитологическом анализе генетических структур и явлений: анализ генных, хромосомных и геномных мутаций, построение цитологических карт хромосом, цитологическое изучение активности генов. С помощью *популяционного* метода изучают генетическую структуру популяций: количественно оценивают распределение особей разных генотипов в популяции, анализируют динамику генетической структуры популяций под действием различных факторов. *Мутационный* метод позволяет установить на основе всестороннего анализа мутаций особенности, закономерности и механизмы мутагенеза, помогает изучить структуру и функции генов.

5.2.1. Определение генотоксичности

Для целей биологического мониторинга на цитогенетическом уровне используют различные структуры и процессы субклеточного уровня (хромосомы, митоз, мейоз). Хромосомы, митоз и мейоз — универсальные механизмы равномерного распределения наследственного материала в соматических и половых клетках всех эукариот. С одной стороны, однотипность генетических структур обуславливает сходные реакции на воздействие химических токсикантов у различных организмов на цитогенетическом уровне. С другой стороны, наблюдается специфичность мутационного процесса у различных биологических объектов, что приводит к необходимости использования нескольких тест-объектов на генотоксичность (Дубинин, 1994).

Тест-система для тестирования химических веществ на мутагенную активность, должна удовлетворять определенным принципам:

- быть дешевой и экспрессной;
- выявлять способность изучаемого вещества индуцировать генные и хромосомные мутации как в половых, так и в соматических клетках;
- устанавливать количественные закономерности в действии химического вещества;
- быть чувствительной, чтобы выявлять эффекты малых доз;
- обнаруживать даже те соединения, которые будучи безвредными, способны становиться мутагенами, попадая в организм человека (Бочков и др., 1975; Алтухов, 1989).

В настоящее время известно более 200 тестов на генотоксичность, в том числе тесты на бактериях на прямые и обратные мутации, репарацию ДНК, подавление роста клеток штаммов, дефектных по репарации, рекомбинацию или репликацию ДНК, многоцелевые тесты на дрожжах-сахаромицетах, тесты на генные мутации, хромосомные перестройки, повреждение ДНК и др. Используют в таких тестах и гидробионты.

Эффективным тест-объектом является *Euglena*. Тест фиксирует генные мутации, обуславливающие белую окраску клеток в результате потери нормальных хлоропластов (Foltinovi, 1994; цит. по Егоркиной, 1996).

Известны исследования по уровню хромосомного мутагенеза и его варибельности в соматических клетках массовых видов *моллюсков* и *олигохет* из бентосных и перифитонных сообществ Дуная (Шыпугина, 1989). Наибольшая частота аберраций хромосомом обнаружена у олигохет на нижнем участке Дуная. Высокий уровень хромосомного мутагенеза сопровождается большой гетерогенностью популяций по этому показателю. Очевидна значительная мутагенная активность дунайских вод и донных отложений.

Загрязнение рыбохозяйственных водоемов в условиях аквакультуры изучалось в Рогожинском рыбном хозяйстве Ростовской области на икре и предличинках *русского осетра*. Установлено, что частота хромосомных аберраций в неочищенной воде достигла 34,9% против 21,0% в пределах фонового уровня (Соколова и др., 1996).

На предличинках русского осетра путем анафазного метода учитывали «мосты» (характерные фигуры, которые принимает бивалент в анафазе I мейоза при гетерозиготности по парацентрической инверсии) и фрагменты хромосом (образуются в это же время

после кроссинговера). Подсчитывали также митотический индекс (отношение числа клеток, находящихся в митозе, к общему числу просмотренных клеток; выражается в промилле, т.е. на 1000 клеток) (Гуляев, Мальченко, 1983).

С помощью клеток эмбрионов рыб *тиляний* выявлена мутагенная активность на хромосомном уровне (одиночные и групповые хроматидные мосты) различных водных источников г. Тюмени (Цой, Пак, 1996).

Большой практический интерес представляет оценка мутагенной активности поверхностных вод Алтайского края, характеризующегося сложным комплексом неблагоприятных природно-климатических факторов для жизни человека. Такая оценка мутагенного загрязнения водных объектов с использованием цитогенетических методов проведена в ИВЭП СО РАН. Г.И. Егоркиной (1999). Ею была исследована эффективность двух тест-систем: *пыльцы макрофитов* и *корневой меристемы ячменя*. Установлено, что мужская генеративная сфера растений является удобной системой для биоиндикации загрязнений с мутагенной активностью объектов водной среды. Значительное уменьшение доли фертильной пыльцы может свидетельствовать о присутствии мутагенов в среде обитания. Высокой чувствительностью к мутагенам обладают рогоз широколистный и тростник. Эти виды рекомендованы для оценки генотоксичности поверхностных вод и донных отложений.

Корневая меристема ячменя оказалась высокоэффективной для оценки генотоксичности снегового покрова, поверхностных вод различной степени засоления, отдельных пестицидов и поверхностно-активных веществ. С помощью этой тест-системы оценивалась мутагенная активность природных вод восточной части Кулундинской степи: озер Кучук, Кулундинское, Платава, рек Кулунда и Кучук, водохранилищ на р. Кучук и у с. Ленки, Кулундинского канала (Егоркина, 1998а). Установлено, что высокой генотоксичностью обладает вода из лимана оз. Кучук, вода оз. Кулундинского в районе военного полигона и вода Кулундинского канала вблизи р. Кучук. Исследования проводили телофазным и анафазным методами.

Снег является одним из наиболее информативных и удобных индикаторов загрязнения: он несет в качестве ядер конденсации загрязняющие вещества. С таянием снега эти вещества попадают в почву и воду. Анализ снеговых проб на генотоксичность был проведен с целью исследования интенсивности мутагенного фона в районе Кучукского сульфатного комбината (Благовещенский район).

Оказалось, что в 7-ми точках отбора проб из 12-ти изученных в снеговой воде можно предполагать наличие веществ с мутагенной активностью (Егоркина, 1998б, 1999). Определялись митотическая активность и патология митоза в корневой меристеме ячменя сорта Сигнал. Выявлена очень низкая митотическая активность корневой меристемы.

В апреле-мае 1998 г. была показана генотоксичность воды р. Обь как основного источника питьевой воды г. Барнаула. Тест-система корневой меристемы ячменя оказалась достаточно чувствительной, чтобы обнаружить присутствие в паводковых водах р. Обь загрязнителей с мутагенной активностью без концентрации их какими-либо методами (Егоркина, 1999).

Структурные преобразования хромосом в клетках меристемы под влиянием вод Астраханского газового комплекса изучались М.Ф. Козак и Н.В. Востриковой (1999).

Быстрые прямые тесты на мутагенность

Постоянно нарастающее загрязнение атмосферы химическими соединениями в результате интенсификации технологических процессов диктует необходимость испытания их на канцерогенез. В основе развития большинства опухолей лежит повреждение генетического аппарата, так как большинство канцерогенов являются и мутагенами. За рубежом и у нас получили в связи с этим широкое распространение быстрые прямые тесты (БПТ) на мутагенность.

Среди БПТ важное значение имеют бактериальные мутагенные тесты (БМТ). Наибольшее распространение среди них получил метод Эймса на *Salmonella typhimurium* и его различные модификации. Тест Эймса основан на регистрации обратных мутаций у некоторых гистидин-зависимых штаммов бактерий в присутствии канцерогенов. Другим распространенным тестом на мутагенность и канцерогенность токсических веществ является микроядерный тест.

Тест-система Эймса сальмонелла/микросомы. Здесь в качестве индикаторных организмов при изучении мутагенного эффекта тестируемых веществ применяют ауксотрофных (т.е. утративших способность к самостоятельному синтезу какого-либо метаболита) по гистидину бактерий *S. typhimurium* линий TA 98, TA 100, TA 1530 и TA 1538. В качестве системы метаболической активации используют микросомальные фракции или постмитохондриальную фракцию S9 (супернатант после осаждения ядер и митохондрий центрифугированием при 9000 г). Чаще других исследователи применяют полуко-

личественный тест Эймса сальмонелла/микросома в модификации Фонштейна с соавторами (1977) с использованием системы метаболической активации *in vivo* из печени крыс линии Вистар или из печени рыб (Ames, McCann, Yamasaki, 1975; цит. по Глазер и др., 1984).

Применение фракции S9 из печени рыб для тестирования сточных вод более оправдано по целому ряду причин. Во-первых, рыбы непосредственно подвержены действию сточных вод, и важно знать, как осуществляется метаболическая активация ксенобиотиков в их тканях. Во-вторых, исследование с метаболической активацией из печени рыб разного вида позволяет определить степень риска онкологических заболеваний для данного вида рыб. В третьих, в лабораториях отпадают проблемы с получением и содержанием лабораторных животных (крыс, кроликов).

Используемые штаммы *S. typhimurium* отличаются высокой чувствительностью к мутагенным и канцерогенным соединениям. Они несут мутацию в одном из генов гистидинового оперона. Оценку мутагенной активности испытуемых веществ проводят по количеству колоний прототрофных (т.е. способных развиваться без добавления специальных веществ) ревертантов по гистидину, выросших на плотной среде, дефицитной по гистидину. При этом клетки сальмонеллы штамма TA 98 ревертируют под действием агентов, вызывающих генные мутации типа «сдвиг рамки считывания генетического кода», а штамма TA 100 — под действием веществ, индуцирующих мутации типа «замены оснований в ДНК».

Для оценки теста Эймса сальмонеллы/микросомы существенное значение имеет вопрос о совпадении канцерогенной и мутагенной активности токсикантов. В лаборатории Эймса было показано, что 90% из 175 исследованных канцерогенов проявили мутагенную активность. Это говорит о высокой достоверности теста Эймса и высокой его чувствительности для выявления канцерогенов. Однако следует иметь в виду, что тест Эймса не способен выявить активность таких канцерогенов, как уретан, 1,2-диметилгидразин, дильдрин, тяжелые металлы и некоторые другие, что требует привлечения для этих целей других тест-систем.

При биотестировании с использованием системы Эймса сальмонелла/микросомы можно использовать прудового карпа, легко содержащегося в аквариуме. Раствор токсиканта вводят стерильно в полость рыб. Максимальный уровень индукции развивается на 7–20 сутки (в зависимости от вида рыб и температуры воды аквариума) и держится в течение 30 суток.

С помощью тест-системы Эймса сальмонелла/микросомы с использованием метаболической активации микросомальными монооксигеназами из печени прудового карпа и форели проводили биотестирование протестов сульфатного производства ЦБК. Показано появление у рыб генотипических эффектов (Глазер и др., 1984).

Тесты Эймса сальмонеллы/микросомы являются простыми и быстрыми методами для массового предварительного отбора (скрининга) соединений, поступающих в водные объекты и обладающих вероятными опухолеродными свойствами (Худолей, 1982, 1983).

Исследовано мутагенное действие ОААТ (о-амино-азототолуол) и ДАБ (диметиламинобензол) на *S. typhimurium* линий TA 98, TA 100, 2АФФ (2-ацетил-аминофлуорен) и бензидина на TA 1530 и TA 1538. Механизм мутаций, вызванных ОААТ и ДАБ, связан в основном с заменой пар оснований бактериальной ДНК, а оба испытанных ароматических амина сдвигают рамку транскрипции ДНК. В работе В.В. Худолей (1982, 1983) показано, что БМТ должны быть основой в экспресс-системах биотестирования канцерогенов.

В последнее время все большее внимание при выборе БПТ привлекают *низшие позвоночные животные* (рыбы и амфибии). Имеющиеся в литературе данные показали высокую чувствительность некоторых видов рыб и амфибий к опухолеродному действию ряда канцерогенов и сравнительно короткий латентный период развития опухолей (Худолей, 1982, 1983; Худолей и др., 1979а,б, 1980, 1982). Первый пик появления опухолей приходится на чрезвычайно ранний период — 4–8 недель, а частота их статистически отличается от спонтанной. Второй, меньший пик «выхода» опухолей может быть на 16–20 неделе.

Исследовали канцерогенное действие соединений, обладающих опухолеродной активностью, уже изученных ранее на млекопитающих, и новой группы подозрительных в бластомогенном отношении веществ — *нитраминов* (Худолей, 1983). В качестве тест-объектов использовались аквариумные рыбы гуппи *Lebistes reticulatus*, данио *Danio (Brachydanio) regio* и бесхвостые амфибии: травяные лягушки *Rana temporaria*, кенийские шпорцевые лягушки *Xenopus boealis*. Эксперименты показали, что основным органом — мишенью всех изученных канцерогенов оказалась печень. Наблюдалась и другая локализация опухолей (пищевод, кишечник и почки). У травяных лягушек преобладали поражения кроветворной ткани. В контроле у интактных рыб и хенопусов опухолей не выявлено; у лягу-

шек были только новообразования кожи, опухолей внутренних органов не отмечено.

Важным параметром предложенных биологических моделей на низших позвоночных является линейная зависимость «доза—эффект». Так, у лягушек *R. temporaria* опухоли возникали при действии НДМА (нитрозодиэтиламин) в концентрации 1 мг/л в 15%, 5 мг/л — 44%, 10 мг/л — 71 и 20 мг/л — 78% при среднем латентном периоде 22, 18, 13, 9 недель соответственно.

Методом Эймса сальмонелла/микросомы был проведен анализ накопления мутагенных соединений в окружающей среде (почва, вода, донные отложения, 4 вида высших растений, водоросли и насекомые) в Рубцовском и Угловском районах Алтайского края, которые подвергались воздействию ядерных испытаний в течение 1949–1965 гг. Контролем служил Тюменцевский район, который не был затронут «радиоактивным следом». Получены следующие результаты:

1) по уровню и частоте загрязнения мутагенными соединениями изученные объекты можно расположить в виде убывающего ряда: картофель — почва — насекомые — трава — водоросли — вода — донные отложения;

2) среди всех обнаруженных случаев присутствия мутагенной активности в экстрактах исследуемых образцов наибольшая доля приходится на прямые мутагены, вызывающие мутации типа замены оснований (штамм TA 98);

3) наибольшая концентрация мутагенных ксенобиотиков обнаружена в исследованных образцах Угловского и Рубцовского районов, что дает возможность предложить вероятное совместное влияние мутагенных соединений и радионуклидов на состояние окружающей среды и здоровье населения этих районов (Иванова, Степанова, 1995).

Микроядерный тест. Микроядерный анализ — метод исследования мутагенности и канцерогенности токсических веществ, основанный на подсчете образующихся в клетках особых образований — микроядер. Микроядра, или тельца Жолли (названные по фамилии одного из исследователей), впервые были обнаружены у отравленной кошки в подавляющем числе эритроцитов, в то время как у здоровых кошек они отмечены в меньшем количестве.

В настоящее время общепризнано, что тельца Жолли имеют ядерное происхождение (Ильинских и др., 1992). Они представляют небольшие образования округлой формы, расположенные эксцентрично или в центре эритроцитов. Чаше единичны, реже в количе-

стве 2–3 в клетке. Появление микроядер свидетельствует или о компенсаторных изменениях эритропоэза, или о нарушении созревания клеток эритроидного ряда в костном мозге. Наиболее многочисленны микроядерные исследования в гематологической литературе. Гематологи констатируют, что некоторые вещества, вводимые в организм, могут вызывать резкое повышение числа эритроцитов с микроядрами. Особенно удобно использовать микроядерный тест, когда организм содержит большое число мелких плохо различимых хромосом и при низкой митотической активности. Еще одно достоинство микроядерного теста — возможность компьютерной обработки. Применяется он для быстрого скрининга нестабильности генома у человека (Ильинских и др., 1986).

Рыбы и амфибии, как обитатели водной среды, являются идеальными индикаторами загрязнения воды мутагенами и кластогенами. С помощью микроядерного анализа рыб был проведен цитогенетический мониторинг Волжско-Камского бассейна (Куйбышевское водохранилище и устье р. Вяшка), где наблюдается резкое ухудшение экологической обстановки. Был проведен микроядерный тест кровяных и половых клеток самцов стерляди. Применение микроядерного теста позволяет с большой точностью выявлять аномалии хромосом и клеточных делений (Захидов и др., 1993а). Первые такие исследования на рыбах проведены Хоофтманом и Раатом (Hoofman, de Raat, 1982), установившими увеличение частоты встречаемости ядерных эритроцитов с микроядрами в периферической крови у карликовой умбры *Umbra pigmae* после введения химического мутагена этилметансульфата.

Увеличение числа эритроцитов с хромосомными поломками при загрязнении хлорорганическими пестицидами выявлено у прибрежных морских рыб (Hose et al., 1987) и индийской акулы под воздействием вод бумажного комбината (Das, Nanda, 1986), у полярной камбалы (Hughes, Heebert, 1991) в загрязненных водах Атлантического побережья (Захидов и др., 1993а).

Самые крупные эритроциты обнаружены у *земноводных* — до 70 мкм (у человека 7–8 мкм), это очень удобно при микроядерном тестировании. Показано, что у бурых лягушек, обитающих на загрязненной радионуклидами территории, уровень эритроцитов с микроядрами был в 36 раз выше, чем из водоемов, благополучных в этом отношении (Войтович, Елисеева, 1989).

У личинок тритона *Pleurodeles waltii* выявлена высокая чувствительность эритроцитов к мутагенному воздействию различных веществ (бензпирена, диэтилсульфата и др.) (Jaylet, 1986; цит. по:

Ильинских и др., 1992). Для тестирования водорастворимых мутагенов предложено использовать культуру клеток икры шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (Risley et al., 1988; цит. по Ильинских и др., 1992). Увеличение частоты клеток с микроядрами выявлено у ранних и поздних головастиков лягушки-быка *Rana catesbiana* под воздействием g-лучей (Krauter et al., 1987; Ильинских и др., 1992).

Прекрасным объектом для мониторинга водорастворимых мутагенов микроядерным тестом могут служить моллюски. Б. Карелек с соавторами пришли к выводу, что если мутагенный фактор в воде индуцирует у мидии в клетках жабр около 7% цитогенетических aberrаций, то это тот порог, за которым моллюски уже не способны обитать в данном водном объекте (Kurelec et al., 1984).

Двустворчатый пресноводный моллюск *Anodonta* (беззубка) предложен в качестве тест-объекта для экспрессной оценки определения экологического неблагополучия водосемов и водотоков в природе и в эксперименте для определения цитотоксического действия химических веществ низких концентраций (Брит, Моргунова, 1983).

Идеальным считается одновременное использование тестов *in vitro* и *in vivo*. В зависимости от концентрации тесты *in vitro* лучше демонстрируют мутагенность, а тесты *in vivo* лучше отражают реальную генотоксическую обстановку водного объекта.

Для биотестирования генотоксичности питьевой воды в качестве тест-объектов рекомендуются гидробионты. При комплексном мониторинге питьевой воды предложено сочетание четырех тестов: тест Эймса, aberrации хромосом и сестринских хроматидных обменов *in vitro* (лимфоциты человека), цитогенетический анализ лягушек *in vivo* (Varga, 1991; Егоркина, 1996).

Микроядерный анализ нашел широкое применение для определения наличия в окружающей среде факторов, способных вызвать поражение генетического аппарата человека и животных.

Установлено, что питьевая вода даже из относительно чистых источников обладает определенной мутагенной активностью (Clarc, 1986). В питьевой воде США зарегистрировано 23 химических соединения с канцерогенными свойствами, 29 веществ с мутагенными и 11 с провоцирующими канцерогенез свойствами (Velema, Jahan, 1987). Показана корреляция между степенью загрязнения воды и смертностью населения от злокачественных опухолей (Dissanayaake, Werrassoorija, 1982; Weiger, Hubert, 1987; Wander, Montuuran, 1988; цит. по Ильинских и др., 1992). Хлорирование воды увеличивает ее мутагенный потенциал в несколько раз (Moguoku, Yamanaka, 1986; Ильинских и др., 1992; Дуган, 1996).

В 1989–1990 гг. с помощью микроядерного теста изучали генотоксические эффекты хронического воздействия суммарных поллютантов в опытах на самцах мышей-гибридов первого поколения (СВА х С57BL₆) и крысах Вистар. Животных поили питьевой водой из различных источников Южного Приаралья, где отмечен стремительный рост сердечно-сосудистых, онкологических и инфекционных заболеваний человека, высокий уровень детской смертности. Ухудшение здоровья населения связывают с плохим качеством питьевой воды. Наибольшую опасность по своим биологическим последствиям представляют вещества, обладающие генотоксической активностью, т.е. способные поражать молекулу ДНК и хромосомы. У мышей изучали клетки печени и семенников, у крыс — клетки наружного зернистого слоя мозжечка (Захидов и др., 1993б). Наиболее явно и достоверно цитогенетические эффекты были обнаружены на клетках печени, так как печень хорошо фиксирует общее неблагополучие экологической ситуации. Химические загрязнители, как было установлено, не оказывают прямого повреждающего действия на генетический аппарат клеток нервной системы. Очевидно, концентрация мутагенов в воде оказалась недостаточной для индукции хромосомных мутаций. Возможно, что для такого рода исследований недостаточной оказалась продолжительность опыта (45 дней).

При оценке экологической обстановки в Астраханской области микроядерный тест был выполнен на лягушках (Жулева, Дубинин, 1994).

В настоящее время микроядерный тест относят к девятому из 9 «развитых» на сегодня краткосрочных тестов (КСТ) для выявления потенциально опасных канцерогенных веществ. Среди них: ро1 А-тест на *E. coli* с недостаточностью синтеза полимеразы, тес-тест на *B. subtilis* с нарушением рекомбинации, тест на клеточную трансформацию, тесты на митотическую рекомбинацию у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, на доминантные аллели у мышей, на аномалии головки спермиев у мышей и микроядерный тест.

5.2.2. Популяционно-генетический мониторинг

Характер и уровень генетического полиморфизма отражают адаптивные особенности и возможности видов. Малая генетическая изменчивость снижает способность популяции поддерживать себя в гетерогенных условиях обитания и при антропогенных нагрузках. С другой стороны, летальные и сублетальные мутации приводят к

увеличению генетического груза, снижению плодовитости и жизнеспособности потомства. Сравнительный анализ генетической структуры популяции в естественных и техногенных экосистемах позволяет оценить направление и скорость происходящих изменений, что делает популяционно-генетический метод важным элементом мониторинга. Удобными модельными видами для водных экосистем являются личинки двукрылых семейства Chironomidae. Они имеют одни из самых крупных хромосом в природе, которые находятся в клетках слюнных желез и в мальпигиевых сосудах. Хромосомы там достигают наибольшей степени политениции, их число в клетках невелико, что наряду с характерной дисковой структурой облегчает задачи исследования.

Впоследствии сходные хромосомы были обнаружены в макронуклеусах инфузорий, в гигантских нейронах моллюсков, в клетках трофобласта бластоцисты (стадия зародыша) млекопитающих, у растений — в антиподах зародышевых мешков, в клетках подвеска зародыша (Смирнов, 1991).

Впервые гигантские хромосомы хирономид стали изучать в целях кариосистематики (Вауер, 1935, 1945), затем для выявления генетического полиморфизма популяций в естественных и экспериментальных условиях (Астон, 1955). Имеются также работы и для водных объектов разных регионов нашей страны. Пионерными были исследования Г.Н. Мисейко, И.И. Кикнадзе и других по популяциям водоемов и водотоков Западной Сибири (Мисейко, Попова, 1970а, б; Мисейко, Минсаринова, Кикнадзе, 1971; Кикнадзе и др., 1987а, б); С.И. Беляниной (1976; 1977; 1981) — по волжским и другим популяциям.

Для популяционно-генетического мониторинга с помощью хирономид изучают политенные хромосомы из клеток слюнных желез личинок последнего (четвертого) возраста и ранних предкуколок по методике, описанной Л.А. Чубаревой, Н.А. Петровой (1982) или И.И. Кикнадзе с соавторами (1991). Анализ структуры кариотипа проводят на *давленных* препаратах методами фазового контраста (он позволяет локализовать активные районы хромосом, ядрышки и кольца Бальбиани), применяют ацетоорсеиновое и дифференциальное окрашивание хромосом. При этом методе анализа можно использовать как живой (что дает лучшие результаты), так и фиксированный материал. Фиксацию личинок проводят в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3 : 1).

По ацетоорсеиновой методике изолированные слюнные железы помещают в краситель на 10–15 мин, затем ацет-орсеин отмывают

45-процентной уксусной кислотой. Далее следует обработка 50-процентной молочной кислотой, в которой происходит дифференцировка степени окраски и лучшее расправление хромосом. После удаления остро заточенными препаравальными иглами секрета железы препарат осторожно накрывают покровным стеклом. Избыток молочной кислоты удаляют фильтровальной бумагой. Для лучшего расправления хромосом на покровное стекло надавливают пальцем или иглой, причем важно не допускать сдвигов покровного стекла, чтобы не нарушить структуры хромосом. Такие препараты называют давленными, они могут храниться в холодильнике до 1,5 месяцев. Хорошие временные препараты лучше перевести в постоянные. Для этого их помещают на металлическую подставку, помещенную в жидкий азот. После того как препараты замерзнут, бритвенным лезвием резким движением снимают покровное стекло, препарат проводят через 96° бутиловый спирт, ксилол и заключают в канадский бальзам.

Основным документом анализа морфологии хромосом служат микрофотографии (фотопленка «Микрат-300»). По микрофотографиям хромосомы картируют, т.е. описывают последовательность дисков по определенным правилам (Keyl, 1961; Кикнадзе и др., 1989).

Имеющиеся на сегодня данные, полученные в результате популяционно-генетического мониторинга, свидетельствует о том, что имеются две основные формы генетического полиморфизма природных популяций хирономид: хромосомный и геномный.

Хромосомный полиморфизм — наиболее распространенная форма генетического полиморфизма у хирономид. Чаще всего он проявляется в форме *гетерозиготных инверсий* (перевороте какого-либо участка хромосомы на 180°), реже в виде делеций, дупликаций и транслокаций (Мисейко, 1999а).

Инверсионный полиморфизм может быть довольно высоким как по числу перестроек, так и по частоте их встречаемости, что свидетельствует о значительной экологической пластичности природной популяции. Так, среди новосибирских популяций *Styptochironomus* *g. defectus* было найдено 19 различных перестроек, в том числе 18 парацентрических (не затрагивающих ядрышка) инверсий и 1 транслокация (Мисейко, Попова, 1970а, б); среди трех видов *Glyptotendipes* — 15 перестроек, в том числе 12 инверсий и одна дупликация (Мисейко, Минсаринова, 1974). Гетерозиготными по инверсиям у *G. glaucus* были 19,5%, у *G. paripes* — 66,0, у *G. barbipes* — 94,0% изученных особей.

Хромосомный полиморфизм может проявляться и в разном числе, и разной локализации функционально активных участков хромосом: ядрышковых организаторов, пуфов, колец Бальбиани.

Геномный полиморфизм характеризуется появлением дополнительных хромосом в кариотипе (их называют В-хромосомами, или микрохромосомами). Одним из первых В-хромосомы наблюдал Э. Вильсон у клона *Matrepodium terminalis*. Он предположил, что в них нет экспрессирующихся генов с существенными для жизни организма функциями и их наличие не приводит к какому-либо заметному влиянию на фенотип (Смирнов, 1991). Особенно распространены В-хромосомы у растений. А.М. Мошкович (1979) отмечает более 700 видов из 55 семейств покрытосеменных растений, у которых обнаружены В-хромосомы.

Впервые В-хромосомы у хирономид обнаружены сравнительно недавно (Мисейко и др., 1971a, Keyl, Naagele, 1971). Обычно имеется одна В-хромосома, с частотой встречаемости 1–16%, редко 20–38% (Белянина, 1983; Ильинская, Петрова, 1985). Лишь однажды в водоемах Якутии (Оймякон) обнаружены личинки хирономид неустановленного вида, принадлежащие к роду *Chironomus*, в кариотипе которых обнаружены многочисленные дополнительные хромосомы с исключительно высокой частотой встречаемости 24–50% (Кикнадзе и др., 1996). Теперь установлено, что морфология дополнительных хромосом может быть различной — от неформленных глыбок до имеющих хорошо выраженную дисковую структуру. Имеются данные, что В-хромосомы встречаются у видов, обитающих в водных объектах, подверженных антропогенному прессу и постоянным значительным колебаниям уровня воды (Мисейко и др., 1971a).

Есть различные мнения о роли хромосомного полиморфизма в природных популяциях. Одни авторы полагают, что хромосомные перестройки могут быть *адаптивно нейтральными*. Вместе с тем в пользу их *высокого адаптивного* значения говорит тот факт, что у хирономид и других двукрылых виды с высоким хромосомным полиморфизмом превосходят близкородственные мономорфные виды по величине ареалов и эколого-климатической пластичности, занимая территории с контрастными условиями существования (Кикнадзе и др., 1996).

Предполагается, что уровень хромосомного полиморфизма связан с разнообразием ниш, занимаемых видом. *Адаптивное* значение инверсий было подтверждено в экспериментах на дрозофиле (Dobzhansky, 1970): популяции с высоким уровнем хромосомного

полиморфизма, по сравнению с мономорфными, более жизнеспособны, особенно при смене температуры. Хирономиды при аноксии (отсутствии кислорода) в некоторых датских озерах (гетерозиготы st/B2) имели меньшую смертность, чем гомозиготы st/st и B2/B2 (Pedersen, 1986).

Имеются данные по воздействию радионуклидов на генетический аппарат хирономид. Первые такие данные получены Блейлоком для реки Уайт-Ок-Крик в США, куда спускались радиоактивные отходы (Blaylock, 1966). По сравнению с «чистым» участком реки у *Chironomus* sp. здесь обнаружено 10 новых инвертированных последовательностей. Радиоактивный фон в то время был в 1000 раз выше естественного.

Лабораторные эксперименты с b- и g-облучением показали высокую чувствительность хирономид: у лабораторных популяций *Ch. thummi* появились хромосомные aberrации, передававшиеся потомству (Blaylock, 1971; Blaylock, Trabalka, 1976).

Впервые в Алтайском крае в 1992–1993 гг. с использованием хирономид был проведен цитогенетический мониторинг радиационного и других видов антропогенного загрязнения в районах, подвергшихся воздействиям ядерных испытаний на Семипалатинском полигоне (Кикнадзе и др., 1993; Голыгина и др., 1996). Изучались хромосомные перестройки и мутации генов, кодирующих белки ферменты, что позволяет выявить начальные этапы *микрорволюционных процессов* под влиянием антропогенных факторов. Для исследования было выбрано 12 загрязненных радионуклидами районов: Доктевский (оз. Новенькое, оз. Соленое, р. Золотуха, Гилевское водохранилище, р. Алей в районе с. Гилево, с. Александровка, р.ц. Локоть); Рубцовский (р. Алей у пос. Веселоярск, Склюихинское водохранилище); Егорьевский (оз. Горькое-Перешеечное); Змеиногорский (оз. Кольванское); Курьинский (оз. Белое). Районами сравнения были выбраны Красногорский (озеро у пос. Талый, р. Березовка, р. Иша) и Тюменцевский (оз. Белое). Из 32 обнаруженных видов хирономид 9 отвечают критериям модельных (встречаются в большом количестве водных объектов, имеют достаточно высокий уровень полиморфизма). У исследованных видов *Ch. tentans* и *Ch. balatonicus* обнаружен высокий уровень хромосомного полиморфизма, в том числе и для условного контроля. Кроме того, выявлены уникальные для хирономид Алтайского края перестройки, не встречающиеся у этих видов из незагрязненных радионуклидами регионов.

В природных популяциях хирономид *Polypedilum nubeculosum* из

оз. Белое Курьинского района Алтайского края обнаружено 27 парацентрических инверсий, образующих 34 генотипических сочетания. Популяция оказалась чрезвычайно полиморфной – 100% особей несли хромосомные перестройки (Мисейко, Вострова, 1999).

Уникальные инверсионные перестройки хромосом были отмечены у хирономид челябинских водоемов, получивших облучение во время Кыштымского взрыва в 1957 г. С тех пор сменилось 60–90 поколений, естественный отбор мог поддержать часть хромосомных нарушений, которые были нейтральны или имели адаптивную ценность. Можно также предполагать, что уникальные перестройки явились эффектом малых доз облучения, так как при высоких дозах выжившие особи (в эксперименте) стерильны (Кикнадзе и др., 1996).

В популяциях *Ch. plumosus* из зоны Чернобыля 100% исследованных особей имели хромосомные перестройки, у 55% личинок увеличен центромерный гетерохроматин, у 21% выявлены В-хромосомы. У *Ch. balatonicus* только 2 из 56 изученных личинок были со стандартными кариотипами, у 5,4% особей также найдены В-хромосомы, ранее у этого вида не отмеченные (Петрова, 1991).

В бентосе р. Барнаулки обнаружено 28 видов хирономид, у 6 из них изучены кариотипы: *Endochironomus tendens*, *E. albipennis*, *Lipiniella moderata*, *Chironomus novosibiricus*, *Ch. acutiventris*, *Glyptotendipes glaucus* (Безматерных, Мисейко, 20006). Из них в качестве модельных на Алтае в бассейне Верхней Оби рекомендованы *G. glaucus*, *L. Moderata*, в качестве очень перспективного для мониторинга можно назвать *Ch. acutiventris* (Кикнадзе и др., 1993).

Кариотип алтайского *Ch. acutiventris* оказался достаточно полиморфным; в популяции из р. Барнаулки 74% личинок имели гетерозиготные инверсии с числом инверсий на одну особь 1,08; всего было обнаружено 17 инверсионных последовательностей и 18 генетических сочетаний (что выше, чем у европейских популяций – 13 и 15 соответственно) (Истомина и др., 1999).

Глава 6. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД

Сооружения биологической очистки сточных вод

Наряду с проблемой мониторинга и охраны природных вод от загрязнения в настоящее время остро стоит вопрос об эффективной очистке сточных вод от бытовых и промышленных загрязнений для повторного их использования в оборотном водоснабжении. Сточные воды очищают до состояния, отвечающего определенным гигиеническим и биологическим требованиям, с помощью физических, химических и биологических методов. Процесс биологической очистки применяется для стоков, содержащих большое количество органических веществ: пищевой, перерабатывающей промышленности, сельскохозяйственных и бытовых стоков и др. Сам процесс биологической очистки в любых типах очистных сооружений в значительной степени построен на принципе *биологического самоочищения*, многократно усиливаемого созданием специальных условий в очистных сооружениях (аэрация, внесение по мере необходимости биогеоценозов, состоящих из бактерий, грибов, простейших (инфузорий, жгутиконосцев, амёб), колловраток, олигохет и других организмов, относящихся в основном к поли-, α -мезо- и β -мезосапробным видам.

Основные принципы биохимической очистки сточных вод известны с конца XIX в. В 1887 г. английский химик Дибуон писал, что сточную жидкость можно очистить путем энергичного искусственного аэрирования. В производственных условиях этот метод был осуществлен Ардерном и Локетом в 1916 г. в Манчестере (Королин и др., 1973).

Очистка сточных вод в естественных условиях. Исторически первыми возникли сооружения, в которых процесс очистки наиболее близок к процессу естественного самоочищения в природных условиях. К ним относятся поля фильтрации, поля орошения и биологические пруды (Айсаев и др., 1984). *Поля фильтрации и орошения* являются методами почвенной очистки стоков. Очистку здесь осуществляют микроорганизмы, образующие биопленку в верхних слоях (0,2–0,3 м) почвы. Минерализация органических соединений идет за счет кислорода атмосферы. К преимуществам почвенной очистки следует отнести исключение поступления сточных вод непосредственно в водные объекты и вторичного их эвтрофирования.

Предметом нашего внимания является определение качества очистки сточных вод с помощью гидробионтов, поэтому остановимся подробнее на сооружениях типа биологических, или окислительных, прудов.

Биологические пруды представляют собой искусственные водоемы для очистки загрязненных вод. В биологических, или окислительных, прудах очищается сравнительно небольшое количество сточных вод (стоки мясокомбинатов, молочных, кондитерских и других предприятий). Биологические пруды представляют собой искусственно созданные водоемы, где очистка сточных вод осуществляется в основном за счет жизнедеятельности фито- и зоопланктона на свету. Поскольку эти организмы хорошо работают при температуре выше +10° С, биологические пруды носят сезонный характер. Как правило, пруды делают многоступенчатыми; чем богаче сточная вода органикой, тем больше должно быть ступеней очистки. В каждом из прудов формируется свой биоценоз, который характеризует определенную степень очистки. На последней ступени вода настолько очищена, что в ней можно выращивать рыбу. Нередко биопруды обеспечивают принудительной аэрацией и циркуляцией воды.

Биопруды используют и как самостоятельные, для доочистки сточных вод после других очистных сооружений биологической очистки. Недостатком прудов являются длительные сроки очистки (до месяца) и то, что в зимних условиях в зонах с холодным климатом они не функционируют.

В Институте микробиологии АН Узбекистана разработана биотехнология очистки сточных вод животноводческих комплексов, заводов первичной обработки кенафа путем культивирования в биопрудах водного растения пистии телорезной *Pistia stratiotes*, обладающей мощной корневой системой. На протяжении 5 лет периода вегетационного развития производили мониторинг качественного и количественного состава микрофлоры и протистофауны сточных вод биопрудов. Выявлено, что во всех экологических зонах (отстойниках, системе биопрудов) микрофлора и протистофауна представлена в основном гетеротрофами, осуществляющими биотрансформацию стоков. Количество сапрофитов и кишечных групп бактерий при этом снижается на 2–4 порядка. В начале очистки доминируют полисапробные формы простейших (*Tetrachimena rugiformis*, *Vodo ovatum*, *V. caudatum*, *Monas vulgaris*). В процессе очистки они сменяются мезо- и олигосапробами (*Aspidisca costata*, *Erystilus plicatilis*). Сточные воды лубзавода через 6 дней, а стоки

животноводческих комплексов через 10–12 дней содержали единичные клетки бактерий и простейших (Кутлиев и др., 1991).

Индустриальные методы биологической очистки сточных вод. В основе индустриальной биологической очистки лежит принцип *биологического самоочищения*, во много раз усиленный инженерными устройствами (Гейсплиц, 1984).

При большом количестве сточных вод применяют *аэротенки*. Их размещают на специальных станциях аэрации. Сначала жидкость очищают механически от крупных отходов, песка, легких фракций, затем она поступает в аэротенк. Аэротенк – сооружение до 120 м в длину, до 5 м в глубину и до 10 м в ширину. Сюда сточная жидкость и активный ил подаются вместе или раздельно в зависимости от типа аэротенка. «*Активный ил*» – это скопление бактерий, простейших и других микро- и макроорганизмов. При избытке кислорода активный ил энергично минерализует органические вещества сточных вод. Аэрация в аэротенке принудительная, через аэраторы разных конструкций. Воздух в виде пузырьков подают снизу, что создает благоприятные условия для функционирования биоценозов активного ила и поддерживает их во взвешенном состоянии, обеспечивая максимальный контакт со сточной жидкостью. Активный ил постоянно в большом количестве образуется в аэротенках в результате минерализации органического вещества в стоках. После очистки в аэротенке сточная очищенная вода поступает во вторичные отстойники, где отделяется от активного ила. Часть его используется вторично, часть утилизируется в метантенках путем анаэробного сбраживания; получающийся при этом метан и другие горючие газы используют как источник энергии.

Осадок и избыточный ил после очистки сточных вод сохраняют много патогенных организмов (Raloff, 1980; цит. по: Гейсплиц, 1984). Университет штата Мичиган предложил компостировать ил с помощью дождевых червей и использовать его в сельском хозяйстве. Подавляющая часть патогенных организмов при этом гибнет. Перед выпуском в водоем или водоток осветленная вода подвергается дезинфекции хлором.

В процессе очистки в аэротенках органические вещества сточных вод подвергаются полной минерализации. После выпуска таких вод в водный объект появляется опасность его *вторичного эвтрофирования*, поэтому возникает проблема вторичного использования очищенных сточных вод. В США такую воду используют для орошения леса, что увеличивает скорость роста деревьев в 2–4 раза и не оказывает отрицательного действия на животный мир (Miller, 1981; цит. по: Гейсплиц, 1984).

Другой путь утилизации очищенных стоков — повторное их использование в системах *безотходного и оборотного водоснабжения*. Это должно стать главным принципом современного хозяйствования. Для этого сточные воды перед биологической очисткой должны пройти дополнительную физико-химическую очистку для разрушения самых стойких загрязнителей (коагуляцию, флотацию, электрохимическую обработку).

На очистных сооружениях небольшой мощности используют *биофильтры, или аэрофильтры*. Они представляют собой емкости, заполненные крупнозернистым фильтрующим материалом (гранитный щебень, керамзит, гранулированная пластмасса, гравий, шлак), через который пропускают стоки. Стоки предварительно осветляют в отстойниках. Поверхность материала обрастает биологической пленкой, состоящей из аэробных бактерий, различных беспозвоночных и водорослей, которые и окисляют органические загрязнения. Со временем биопленка утолщается, нижние ее слои стареют и отмирают, скапливаются в нижних слоях загрузки и с очищенной водой выносятся во вторичные отстойники. Воздух подают принудительно или используют естественную аэрацию. Невозможность работы этих сооружений в зимнее время является основным недостатком их широкого применения.

Особенности биологического контроля качества очистки сточных вод

Поскольку процесс искусственной биологической очистки воды принципиально сходен с процессом естественного самоочищения загрязненных природных вод основа оценки их качества одна и та же. При этом химический, гидробиологический и микробиологический методы должны использоваться одновременно.

Задача гидробиологического анализа при биоочистке воды в аэротенках заключается в том, чтобы по численности индикаторных видов и их физиологическому состоянию в достаточно короткий срок дать заключение об эффективности очистки воды и качестве активного ила, от которого она зависит.

Последовательные этапы биологического анализа включают: отбор проб, оценку характера ила, определение видового состава и физиологических особенностей организмов ила, их количественный учет, соответствующую математическую обработку полученных результатов. Только на основании этих данных можно делать заключение о качестве очистки (Гейспец, 1984).

Отбор проб для биологического анализа. 1. Жидкие пробы (сточная вода, активный ил, очищенная вода) берут методом зачерпывания. Быстро, до оседания взвеси, пробу переливают в стакан или широкогорлую банку, заполняя ее наполовину, и доставляют в лабораторию. Перед анализом пробы с активным илом тщательно перемешивают и отливают в мерный цилиндр 100 мл (для определения объема осевшего ила через 30 мин). Остальную часть пробы используют для визуальной оценки и микроскопирования. Анализ следует провести в течение получаса. Можно хранить пробы в холодильнике в открытом виде не более 2-х час. С разных глубин пробы берут батометром.

2. Перифитон соскабливают со стенок сооружений или получают по методу А.А. Гейспец (1984).

Оценка характера ила. Общие свойства активного ила оценивают визуально с учетом следующих показателей:

- скорость оседания хлопка (быстро, медленно);
- цвет (бурый, рыжеватый, черный, белесый и т.д.);
- характер воды над осевшим илом (прозрачная, мутная, окрашенная, опалесцирующая);
- запах (гнилостный, сероводородный и т.д.);
- состояние ила (вспухание при отстаивании).

К этим основным показателям добавляют и другие (следы нефти, пена от СМС).

Определение видового состава организмов активного ила. Определение организмов ила идет в основном в живом виде. Пробы отстаивают 2—3 мин для образования осадка. Берут по 1 капле с поверхности ила и со дна сосуда и просматривают под бинокулярным микроскопом с подвижным столиком и осветителем. Если определению мешает большая подвижность организмов, их наркотируют (уретаном, хлоралгидратом) или фиксируют (парами 1%-ной осмиевой кислоты). Для замедления движения организмов можно использовать глицерин, вишневым клеем, волокна ваты.

Оценка физиологического состояния организмов активного ила. Анализ физиологического состояния гидробионтов ведут по следующим показателям:

- по преобладающим организмам;
- по степени упитанности (хорошая, удовлетворительная, слабая);
- по критериям: интенсивность фагоцитоза (количество пищеварительных вакуолей) и степень прозрачности цитоплазмы;
- по состоянию сократительных вакуолей (степень наполнения, скорость пульсации);

— по форме тела (у перитрих при хорошей упитанности тело расширено, бочонковидное или округлое, при слабой — вытянуто; недостаток кислорода раздувает тело вплоть до разрыва; токсические вещества ведут к уродствам);

— по состоянию ресничного диска у прикрепленных инфузорий (открыт, закрыт). Диск закрывается при отклонении условий от нормы;

— по интенсивности работы ресничного аппарата (интенсивная, слабая, полная неподвижность);

— по размерам организмов (норма, укрупнение, мелкие); плохое питание и токсикутанты ведут к измельчанию;

— по характеру размножения (у инфузорий большое количество конъюгирующих особей указывает на сдвиг в сторону неблагоприятных условий);

— по наличию цист (это говорит о неблагоприятии);

— по наличию погибших животных (массовая гибель при залповых сбросах).

Количественный учет организмов активного ила. Оценка идет по пятибалльной шкале (1 — единичные находки, 2 — мало, 3 — порядочно, 4 — много, 5 — в массе) или шестиступенчатой девятибалльной с баллами: 1, 2, 3, 5, 7, 9 (Унифицированные методы..., 1976). Последняя шкала удобна, когда данные в дальнейшем используют для обработки результатов по системе Пантле и Букка.

Подсчет организмов ведут в счетных камерах различного типа (Кольквитца, Нажотта, Горяева и др.). Число учтенных организмов в камере делят на ее объем в мм и получают число экземпляров в 1 мм³ жидкости аэротенка. Еще удобней метод «откалиброванной капли» (Николюк, 1963; Липеровская, 1977а), объем который точно измерен. Каплю наносят на предметное стекло и накрывают покровным. Количество организмов в 1 мл определяют по формуле:

$$D = Sd/nr^2h,$$

где D — число организмов в 1 мл (экз.);

d — число организмов в одном поле зрения (экз.);

nr^2 — площадь поля зрения объектива (мм²);

S — площадь покровного стекла (18x18 мм);

h — объем закапанной жидкости.

Для подсчета крупных организмов применяется стереоскопический микроскоп.

Поскольку организмы сильно различаются по размерам, правильнее выражать их количество через биомассу. Для этого приравнивают форму организма к простейшему геометрическому телу и высчитывают объем организмов по их размерам. Плотность организмов при этом приравнивают к 1. Для многих организмов данные

по биомассе приводятся в литературе (Косова, 1961; Мамаева, 1971).

При оценке качества очищенной воды по индикаторным организмам наиболее удобен метод Пантле и Букка.

Оценка качества очистки воды по гидробиологическим показателям. Особенности искусственной экосистемы активного ила диктуют выбор методов оценки качества очистки вод и контроля за ходом технологического процесса.

Активный ил — сложная экосистема, в состав которой входят представители микрофлоры и микрофауны. Основу ее как по численности, так и по биомассе составляют бактерии в виде хлопьевидных скоплений — зооглей. Кроме того, присутствуют нитчатые бактерии, гифы водных грибов, дрожжи, бесцветные жгутиконосцы, саркодовые (голые и раковинные), инфузории. При продленной аэрации появляются коловратки, водные черви, тихоходки, водные клещи, гастротрихи.

Экосистема активного ила имеет *существенные отличия* от экосистем естественных водоемов и водотоков (Липеровская, 1977б; Голубовская, 1978). В последних процесс идет односторонне в сторону загрязнения или очистки воды. В аэротенках идет постоянное рециркуляция активного ила, принудительная аэрация поддерживает ил в постоянно взвешенном состоянии и обеспечивает перемешивание и контакт со сточной жидкостью. По сравнению с естественными экосистемами создается *большая концентрация ила и низкая концентрация очищаемого субстрата*. Все это во много раз увеличивает скорость минерализации органического вещества, вызывает смешение индикаторных организмов «грязных» и «чистых» участков аэротенка. В биоценозе активного ила могут выжить только эврибионтные виды.

Главную роль в очистке играют *бактерии* благодаря высокой скорости размножения, относительно большой удельной поверхности, интенсивной ферментативной активности (Роговская, 1967; Сладечек, 1973; Липеровская, 1977б). Большинство бактерий относятся к неспорообразующим грамотрицательным палочкам, среди которых преобладают *Pseudomonas*, *Achromobacter* и *Flavobacterium*. Каждый вид бактерий, обладая определенным набором ферментов, специализируется на том или ином типе загрязнителей. Сначала включаются бактерии, использующие легкоразлагаемые органические вещества, затем развиваются специализированные бактерии, разлагающие трудноокисляемую органику (Ломова и др., 1975). В аэротенках идет агглютинация бактерий, т.е. образование хлопка активного ила путем слипания оболочек бактериальных клеток за счет внеклеточных полисахаридов.

Важная роль в процессе очистки воды принадлежит *седиментаторам*, или осаждальщикам. Они выделяют большое количество слизи в виде пищевых комков и способствуют осветлению воды путем удаления из нее бактерий (на продвинутых этапах очистки). К седиментаторам относятся свободноплавающие (*Paramecium*, *Colpidium*, *Glaucoma*, *Tetrachimena*, *Stentor*) и прикрепленные инфузории перитрихи (*Vorticella*, *Carchesium*, *Epystilus*, *Zoothamnium* и др.). Перитрихи имеют особо важное значение при очистке воды от патогенных микроорганизмов.

По мере очистки воды далее появляются *хищники* (инфузории *Euplotes*, *Didinium*, жгутиконосцы *Paranema trichophorum*, *Bodo edax* и др.). На вершине пищевой пирамиды на последних стадиях минерализации загрязнений хищничество часто сопровождается *детритофагией* (хищные колдовратки, хищные олигохеты, тихоходки).

Оценка качества очистки вод по состоянию активного ила. Для смешанных городских сточных вод в зависимости от органической нагрузки существуют следующие основные модификации активного ила.

Перегруженный ил — не справляется с загрязнением, в жидкости отмечается значительное количество органики. Для такого ила характерны малое видовое разнообразие и значительная численность. Преобладают бактерии, в том числе нитчатые серобактерии *Beggiatoa*, многочисленны бесцветные жгутиковые. Флокуляция ослаблена, ил рыхлый, вода над ним мутная. Появляются *Vorticella microstoma*, *Paramecium aurelia*, *P. caudatum* и единственный вид колдовраток *Rotaria neptunia*.

Умеренно-нагруженный ил — хорошо работающий, формируется при более низких органических нагрузках. Фауна биоценозов разнообразна, ил более плотный. Появляются спиральноресничные *Aspidisca*, *Oxytricha*, *Opisthotricha*, в значительном количестве встречаются перитрихи *Vorticella*, *Carchesium*, *Zoothamnium*. Численность свободных бактерий резко сокращается, вода осветляется. Многочисленны седиментаторы, поглощающие бактерий, в том числе патогенных. Из колдовраток встречаются *Eriphanes senta*, *Rotaria rotatoria*, из олигохет — *Nais*, *Dero* и *Aelosoma*. Вода над илом прозрачная.

Ил при низких нагрузках формируется при пониженной органической нагрузке и *избытке* минерального азота. Фауна еще более разнообразна, встречаются все основные группы организмов активного ила. Хлопки ила крупные, плотные, быстро оседающие, вода над илом прозрачная. Разнообразна фауна раковинных амёб (*Pamphagus*, *Arcella*, *Centropyxis*, *Euglipha*). Из инфузорий виды те же, но иных экологических форм: перитрихи менее упитаны, их тело вытянуто, ротовое отверстие широко открыто и образует рас-

труб для лучшего улавливания бактерий. При продленной аэрации в таком иле могут появиться хищники и детритофаги: колдовратки *Lecane bulla*, *L. closterocerca*, *Lepadella acuminata*, *Rotaria elongata* и другие; хищные олигохеты *Chaetogaster diaphanus* и *Ch. distrophus*.

Голодающий ил развивается при низких органических нагрузках. Хлопки утончаются, становятся прозрачными или распадаются. Вода над илом с мелкой неоседающей мутью — продуктами деградации бактерий, измельчаются, в их теле пропадают пищевые вакуоли. При дальнейшем голодании они инцистируются. Последними переходят к неактивному состоянию колдовратки.

При недостатке кислорода преобладают бактерии и жгутиковые, из инфузорий — *P. caudatum*. Зоиды перитрих отрываются от колоний, появляется много пустых стеблей; резко увеличивается сократительная вакуоль, что может вызвать разрыв зоидов. Активность организмов снижается, реснички работают слабо. Хлопки распадаются, вода над илом мутнеет.

При залповых сбросах промстоков идет резкое нарушение жизнедеятельности организмов активного ила: отмечаются деформации, закрытие перистомы, измельчание.

При сильных токсических нагрузках наступает полная гибель организмов.

Особенности оценки качества очистки воды по гидробиологическим показателям. Трудность использования традиционных гидробиологических методов в целях контроля работы аэротенков определяется указанными выше особенностями их экосистемы (рециркуляция ила, его мощное перемешивание, аэрация). Поэтому активный ил мало пригоден для определения степени очистки сточных вод. Лучше отбирать гидробиологические пробы не в аэротенках, а *после первичных* (состояние до очистки) и *вторичных отстаивающих* (состояние после очистки). Хорошие результаты дает описанный выше *метод получения обрастаний* на предметных стеклах при экспозиции их в течение всего лишь 1 суток (Гейспич, 1984). Увеличивая время экспозиции, можно получить усредненные данные за желаемый период. Достаточно сравнить фауну обрастаний сточных вод перед входом в аэротенк и в конце процесса очистки. Обработку результатов ведут методом Пантле и Букка.

Поскольку фауну биоценозов сточных вод представляют в основном эврибионтные формы, они в значительных количествах могут присутствовать при различных степенях очистки воды. Таким образом, показатели сапробной принадлежности, установленные для природных водных объектов, для оценки качества очистки часто непригодны. Поэтому для целей индикации в этом случае надежнее пользоваться признаками, непосредственно зависящими от

качества воды. К.Ф. Гейспец (1984) предложил метод визуального морфофизиологического тестирования, основанный на учете приуроченности различных экоформ к определенным зонам сапробности (табл. 9).

Таблица 9
Принципиальная схема морфофизиологических показателей состояния перитрих в зависимости от качества очистки воды (по материалам Петродворцовой станции) (Фауна аэротенков, 1984)

Зоны сапробности	БПК ₅	Размеры зооидов и цист (относительные)	Отношение ширины перистомы к максимальному диаметру	Пищеварительные вакуоли		Цитоплазма		Цисты	Форма зооидов
				число	относительная величина	зернистость	прозрачность		
o	1,0-1,5	Очень мелкие	Перистом не виден	0	-	Нет	Полная	+	Округлая, с толстой оболочкой
>o	1,5-2,5	Мелкие	>>1	1-5	Очень мелкие	Очень мелкая	Хорошая	-	Колоколовидная
β	2,5-5,0	Средние	>1	5-10	Мелкие	Мелкая	Умеренная	-	Сильно вытянутая, с раструбом
α	5,0-10,0	Крупные	=1	10-25	Крупные	Крупная	Слабая	-	Бочонковидная, массивная
>α	10,0-30,0	Крупные	<1 или перистом закрыт	>25	Крупные	Крупная	Непрозрачная	-	Яйцевидная или почти округлая
p	30,0-50,0	Мельче предыдущих	Перистом не виден	нет	-	Крупная	Непрозрачная	+	Округлая, с толстой оболочкой

Тестируемые признаки легко определить под микроскопом как у перитрих, так и у свободноплавающих инфузорий. Наиболее четким индикатором является экологически пластичный вид *Aspidisca castata*. При высоких органических нагрузках (зоны α-, α-β-мезо-сапробные) инфузории переполнены пищеварительными вакуолями; по мере снижения нагрузки (зона β) степень их упитанности

резко уменьшается; в олигосапробных условиях наступает остановка движения и инцистирование.

Дальнейший ход анализа состоит в том, что каждому встреченному виду присваивается определенная индикаторная значимость и дается количественная характеристика (относительная или абсолютная). Исходя из этих данных, по формуле Пантле и Букка вычисляют индекс сапробности анализируемой пробы, который затем по графику В. Сладечека (1973) переводят в соответствующие показатели БПК₅ (рис. 8).

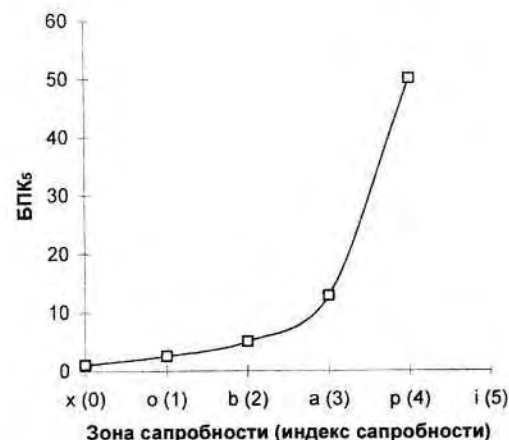


Рис. 8. Соотношение индекса сапробности и БПК₅ (по материалам В. Сладечека) (Фауна аэротенков, 1984)

Вычисляемые таким способом БПК₅ очень близки к реально полученным химическим путем. Единственным затруднением может быть недостаточная изученность видового состава организмов отстойников.

Канализационные очистные сооружения №1 (КОС-1) г. Барнаула построены в 1971 г. с проектной производительностью 200 тыс. м³/сут. Технологическая схема КОС-1 включает стадии механической (решетки, песколовки, первичные радиальные отстойники) и биологической (аэротенки, вторичные радиальные отстойники) очистки, обработку осадка (метантенки, илоуплотнители, иловые поля). Аэрацию осуществляют через фильтровые пластины и перфорированные трубы. Аэротенки — 4-коридорные смесители раз-

мерами 87,00x9,00x4,75 м. Биологически активный ил имеет следующий состав микроорганизмов (в экз. на 1 г сухого вещества) (Кротов и др., 1996):

Нитчатые бактерии <i>Cladotrix dichomoma</i>	— 600
Серобактерии <i>Tiotrix nivea</i>	— 1000
Раковинные амебы <i>Arcella discides</i>	— 800
Жгутиковые <i>Bodo</i>	— 30
<i>Euglena</i>	— 70
Инфузории	
<i>Opercularia glomerata</i>	— 980
<i>O. coarstata</i>	— 40
<i>Epistylis plicatilis</i>	— 1000
<i>Vorticella convalata</i>	— 300
<i>Colpidium colpoda</i>	— 180
<i>Tetrachimena</i>	— 240
<i>Aspidisca</i>	— 380
Сосущие инфузории <i>Acineta flava</i>	— 20
Коловратки	
<i>Colurella</i>	— 65
<i>Lepodella</i>	— 30
<i>Callidina</i>	— 90
Круглые черви	— 30
Олигохеты <i>Aelosoma</i>	— 90

На очистных сооружениях г. Барнаула (КОС-1 и КОС-2) применяют в основном только методику определения органической нагрузки на активный ил по состоянию хлопков. Таксономически определяют лишь основные, характерные группы гидробионтов. Из-за отсутствия специалистов-гидробиологов на очистных сооружениях не проводится подробного таксономического анализа, что исключает использование более тонких и чувствительных методик. На КОС-1 и КОС-2 не проводят определение состояния активного ила по индексу сапробности Пантле и Букка, не определяют морфофизиологических показателей перитрих, не применяют методы биотестирования. Подобная ситуация наблюдается и на большинстве очистных сооружений страны, а, как известно, от состояния активного ила зависит качество очистки сточных вод.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В системе контроля антропогенного загрязнения водной среды биологическим методам принадлежит главная роль. Традиционно они подразделяются на методы *биоиндикации* и *биотестирования*. Современные методы эколого-токсической оценки водных объектов должны включать приемы, позволяющие регистрировать проявления эффектов токсического воздействия на различные уровни организации от молекулярного до экосистемного.

Если речь идет об оценке воды как среды обитания, о состоянии биоценозов с целью мониторинга, то биологические методы совершенно необходимы и вполне доступны. Отпадает надобность прибегать к сложным химическим анализам, если с помощью биологических методов выявлено состояние биоценозов.

При использовании биологических методов *индикации* качества воды принципиально важно учитывать, что существует много типов водных экосистем, различающихся как по биологическим особенностям, так и по особенностям использования их человеком. Поэтому не может быть какой-либо одной стандартной программы для определения качества вод. Может и должен использоваться набор стандартных методов, наиболее приемлемых для данного водного объекта в данной экологической ситуации. Понятно стремление упростить методы и форму представления результатов биологического анализа, избежать сложных способов видового анализа показательных организмов. Однако более простые количественные биологические показатели несут мало информации, если не указано, за счет популяций каких видов они складываются. Например, 5 мкг/л хлорофилла «а» имеют разный смысл, если в одном случае развиваются протококковые, а в другом — сине-зеленые планктонные водоросли. Аналогично, биомасса макрозообентоса 10 г/м² мало говорит о качестве воды, если не указано, за счет чего она складывается: если олигохетами — *Tubifex tubifex*, — то вода полисапробная, если моллюсками *Sphaerium corneum*, — а-мезосапробная, если личинками веснянок, плоских поденок и ручейников без домиков — вода чистая.

Методология существующей в сети ЕГСЭМ системы контроля и оценки качества вод по гидробиологическим показателям основана на нескольких подходах. Важное место среди них занимает характеристика *структуры* гидробиоценозов по видовому составу и численности фито-, зоо- и бактериопланктона, перифитона, макрозообентоса и нектона. Этот подход является классическим в *саптарной гидробиологии*. Ключевым элементом оценки качества вод здесь является система индикаторных организмов и оценка сапроб-

ЛИТЕРАТУРА

ности по биотическому индексу Вудивисса, индексу сапробности Пантле и Букка.

Для своевременного обнаружения ранних признаков нарушения устойчивости водных экосистем помимо их структурных показателей важны *функциональные*. Именно функциональные показатели первыми выявляют нарушения в метаболизме водных экосистем, выражающиеся в первую очередь в изменении процесса обмена веществ и энергии. До настоящего времени функциональные методы используются еще недостаточно.

В современных условиях большую роль играет биологический контроль *эвтрофирования* вод не только пресных, но и морских. В мониторинге процессов эвтрофирования водных объектов большую роль следует отводить наблюдениям за развитием фитопланктона и за поступлением биогенных веществ в водные объекты.

Биотестирование предусматривает выявление уже состоявшегося и / или происходящего загрязнения водных объектов по функциональным и другим показателям отдельных особей гидробионтов и их сообществ. При использовании биотестирования для контроля качества природных вод ставится цель своевременного выявления источников опасного загрязнения, определение интенсивности загрязнения и оценки его возможных экологических последствий.

По причине разной видовой чувствительности гидробионтов к токсикантам должен использоваться набор тест-объектов, представляющих различные по уровню организации организмы. С введением каждого дополнительного объекта эффективность тестирования повышается, однако нет смысла бесконечно расширять набор биотестов. Достаточным считается *набор из трех видов тест-объектов*: водоросли или бактерии, беспозвоночные и позвоночные.

Набор тест-функций, используемых для контроля качества вод, разнообразен, имеет различные уровни биологической организации. Важно использовать *интегральные* тест-функции, наиболее обобщенно отражающие состояние особи или сообщества.

Суть биологического метода контроля качества вод состоит в том, чтобы применяя нужные методы (физико-химические, микробиологические, биоиндикацию, биотестирование и т.д.), получить научно обоснованные и адекватные состоянию водных экосистем данные на уровне современных требований.

Методы биотестирования еще не заняли необходимого места в работах по контролю поверхностных вод. Основные трудности биотестирования связаны с недостаточной критериальной и стандартной основой контроля токсического загрязнения, сложностью экспериментов, требующих высокой квалификации специалистов и приборного обеспечения.

1. Абакумов В.А. К истории контроля качества вод по гидробиологическим показателям // Научные основы качества вод по гидробиологическим показателям. Л., 1981. С. 46–74.

2. Абакумов В.А. Контроль качества вод по гидробиологическим показателям в системе гидрометеорологической службы СССР // Научные основы качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям: Тр. сов.-англ. семинара. Л., 1977. С. 93–100.

3. Абакумов В.А., Бубнова Н.П. Контроль качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. М., 1979. 5 с.

4. Авилова С.Д., Авилов В.И. Биохимическая индикация для нормирования экологического состояния водных объектов: Препринт. М., 1990. 31 с.

5. Агре А.Л., Корогодин В.И. О распределении радиоактивных загрязнений в непроточном водоеме // Медицинская радиология. 1960. Т. 5. №1. С. 67–73.

6. Айвазова Л.Е., Старцева А.И., Гроздов А.О. Биотестирование сточных вод на предприятиях различных отраслей народного хозяйства // Водная токсикология и оптимизация биопродукционных процессов в аквакультуре. М., 1988. С. 47–53.

7. Айвазова Л.Е., Старцева А.И., Соколова С.А. и др. Биотестирование сточных вод химического производства // Экологические аспекты химического и радиоактивного загрязнения водной среды. 1983. С. 88–93.

8. Алабастер Дж., Ллойд Р. Критерии качества воды для пресноводных рыб. М., 1984.

9. Алекин А.О. Основы гидрохимии. Л., 1970. 228 с.

10. Алексеев В.А. Биологическая индикация качества вод – географический аспект // Водные ресурсы. 1982. № 1. С. 140–146.

11. Алексеев В.А. Сравнительная токсикорезистентность водных беспозвоночных при фенольной интоксикации // Формирование и контроль качества поверхностных вод. Вып. 1. Киев, 1975.

12. Алексеев В.А., Лесников Л.А. Пестициды и их влияние на водные организмы // Известия ГОСНИОРХ. 1977. Т. 121.

13. Алексеев В.А., Флеров Б.А. Действие фенола на фотореакции и устойчивость *Chironomus plumosus* и *Limnochares aquatica* // Биология внутренних вод: Информ. бюл., 1972. №13. С. 33–37.

14. Алексеева В.А. Сравнительная устойчивость водных насекомых и паукообразных к фенолу // Информ. бюл. ИБВВ АН СССР. 1971. № 11.

15. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М., 1989. 328 с.
16. Андрушкайтис А.Г., Авенс А.Х., Сейсума З.К. Методика постановки экотоксикологического эксперимента *in situ* // Гидробиологический журнал. 1984. Т. 20. №1. С. 76–81.
17. Асланян Е.М., Филимонов Т.М. Сравнение по двигательным элементам строительного инстинкта у «песчаных» и «лиственного» ручейников // Управление поведением животных. М., 1977.
18. Баканов А.И. Использование комбинированных индексов для мониторинга пресноводных водоемов по зообентосу // Водные ресурсы. 1999. Т. 26. №1. С. 108–111.
19. Балодэ М.Я. Адаптации морских одноклеточных водорослей к воздействию тяжелых металлов // Экспериментальная водная токсикология. 1990. Вып. 14. С. 98–104.
20. Балушкина Е.В. Функциональное значение хирономид в континентальных водоемах. Л., 1989. 152 с.
21. Барина С.С., Медведева Л.А. Атлас водорослей-индикаторов сапробности (Российский Дальний Восток). Владивосток, 1996. 364 с.
22. Безель В.С., Большаков В.Н. Экологическая токсикология: проблемы, задачи, подходы // Токсикологический вестник. 1995. №1. С. 2–7.
23. Безель В.С., Большаков В.Н., Воробейчик Е.Л. Популяционная экотоксикология. М., 1994. 82 с.
24. Безматерных Д.М., Мисейко Г.Н. Зообентос как биоиндикатор качества вод реки Барнаулки (Алтайский край) // Проблемы общей биологии и прикладной экологии. Вып. 2/3. Саратов, 1997. С. 61–63.
25. Безматерных Д.М. Применение биологических индексов на малых реках юга Сибири // Экология Южной Сибири – 2000 г.: Материалы II Южно-сибирской регион. науч. конф. Красноярск, 1998. С. 68.
26. Безматерных Д.М., Жихарева О.Н., Мисейко Г.Н., Силантьева М. М. Биологический анализ качества вод бассейна р. Барнаулки // Известия АГУ. 1999. (Спец. выпуск). С. 107–111.
27. Безматерных Д.М., Мисейко Г.Н. Зообентос реки Барнаулки в системе биоиндикации качества природных вод. Красноярск, 1998. С. 214.
28. Безматерных Д.М., Мисейко Г.Н. Зоогеографический аспект применения хирономид как индикаторов качества природных вод бассейна Верхней Оби // Особо охраняемые природные террито-

- рии Алтайского края и сопредельных территорий, тактика сохранения видовой разнообразия и генофонда. Барнаул, 1999. С. 77–78.
29. Безматерных Д.М., Мисейко Г.Н. Кариотипы массовых видов хирономид // Река Барнаулка: экология, флора и фауна бассейна / Под ред. М.М. Силантьевой. Барнаул, 2000б. С. 147–156.
30. Бейм А.М. Биологическое тестирование производственных сточных вод. Л., 1986. С. 135–150.
31. Бейм А.М., Зоммер Е.А. Комплекс исследований по биотестированию сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 174–175.
32. Белецкий В.И. и др. О возможности использования лабораторных морских экосистем в водной токсикологии // Биологические науки. 1982. №2. С. 65–70.
33. Белоног Н.П., Борзых Н.А., Горбанева Т.Б. Возможности флуоресцентного анализа хлорофилла микроводорослей в биоиндикации водных экосистем и биотестировании // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 311–312.
34. Бельдеева Л.Н. Экологический мониторинг. Барнаул, 1999. 116 с.
35. Белянина С.И. Кариотипический анализ хирономид (*Chironomidae*, *Diptera*) фауны СССР: Дис...докт.биол.наук. Саратов, 1983. 455 с.
36. Белянина С.И. Хромосомный полиморфизм *Chironomus plumosus* L. из различных частей ареала. I. Кариотипическая структура популяции из Волги у Ярославля и из Оби у Новосибирска // Цитология. 1976. Т.18. №7. С. 891–896.
37. Белянина С.И. Хромосомный полиморфизм *Chironomus plumosus* L. из различных частей ареала. II. Кариотипическая структура трех географически разобщенных популяций // Цитология. 1977. Т.19. №5. С. 565–570.
38. Белянина С.И., Кузьмина К.А., Сигарева Л.Е. Влияние естественных и антропогенных факторов на кариофонды природных популяций хирономид. Киев, 1981. С. 17–18.
39. Биоиндикация и биотестирование природных вод: Тез. докл. Всесоюз. конф. Ростов-на-Дону, 1986. 198 с.
40. Биологический энциклопедический словарь. М., 1995. 831 с.
41. Бочарова Т.А. Состояние индикаторных видов паразитов рыб бассейна реки Томи в условиях антропогенного воздействия // Задачи и проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах Сибири. Томск, 1996. С. 104.
42. Бочков Н.П., Шрам Р.Я., Куминов Н.П. и др. Система оцен-

ки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки // Генетика. 1975. Т. 11. №10. С. 156–169.

43. Брагинский Л.П. Биологические тесты как метод индикации токсичности водной среды // Методы анализа природных и сточных вод. М., 1977. С. 27–38.

44. Брагинский Л.П. Биотестирование токсичности природных и сточных вод (современное состояние и перспективы). Киев, 1981. Ч. 3. С. 74–75.

45. Брагинский Л.П. Некоторые закономерности и механизмы реагирования пресноводной экосистемы на воздействие пестицидов и поверхностно-активных веществ // Экспериментальная водная токсикология. 1986. Вып. 11. С. 7–22.

46. Брагинский Л.П. Оценка качества вод природных водоемов по токсикологическим показателям // Научные основы качества вод по гидробиологическим показателям. Л., 1981. С. 201–206.

47. Брагинский Л.П. Пестициды и жизнь водоемов. Киев, 1972. 227 с.

48. Брагинский Л.П. Понятие нормы и патологии на надорганизменном уровне организации живого (в условиях водной среды) // Норма и патология в водной токсикологии: Тез. докл. Байкальск, 1977. С. 11–13.

49. Брагинский Л.П. Теоретические аспекты проблемы «норма и патология» в водной экотоксикологии. Л., 1981. С. 29–39.

50. Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Мережко А.И. Персистентные пестициды в экологии пресных вод. Киев, 1979. 141 с.

51. Брагинский Л.П., Береза В.Д., Биргер Т.И. и др. Экспериментальное тестирование токсичности водной среды и повышение чувствительности биологических тестов // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. 1979. С. 324–336.

52. Брагинский Л.П., Виличко И.М., Щербань Э.П. Пресноводный планктон в токсической среде. Киев, 1987. 180 с.

53. Будников Г. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Соросовский образовательный журнал. 1998. №5. С. 23–29.

54. Васильева Т.В., Кожанова Г.А., Тульчинская В.П., Овсянникова М.Н. Метод биотестирования токсичности и потенциальной мутагенности водной среды на основе реакций роста и размножения одноклеточных зеленых водорослей // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 80–83.

55. Веселов Е.А. Подбор методов и показательных организмов

при экспериментальных исследованиях по водной токсикологии // Проблемы водной токсикологии: Межвуз. сб. Петрозаводск, 1984. С. 3–10.

56. Влияние фенола на гидробионтов / Под ред. М.М. Камшилова. Л., 1973. 228 с.

57. Водоемы Алтайского края. Новосибирск, 1999. 285 с.

58. Войтович А.М., Елисеева К.Г. Микроядра в периферической крови бурых лягушек как тест на хронические мутагенные воздействия // Объем и методы генотоксической оценки и побочных эффектов биологически активных веществ. Л., 1989. С. 25–26.

59. Волков В.М. Актографическое исследование двигательной активности рыб при воздействии хлорфенолов // Проблемы охраны природы: Тез. докл. Байкальск, 1984. С. 68–69.

60. Воробьева Н.Я., Новосадова Г.Т., Побегайло П.И. Дафнии и рыбы как тест-объекты при изучении токсичности резорцина / Тр. ВНИИВОДГЕО. 1978. №76. С. 86–192.

61. Вронский В.А. Прикладная экология. Ростов-на-Дону, 1996. 512 с.

62. Вудивисс Ф. Биотический индекс реки Трент. Макробеспозвоночные и биологическое обследование // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям: Тр. советско-английского семинара. Л., 1977. С. 132–161.

63. Гаевский Н.А., Горбанева Т.Б. Морфофизиологические реакции клеток микроводорослей на действие токсикантов в искусственных и природных экосистемах // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 312–313.

64. Гейспиз К.Ф. Методика технологического контроля работы очистных сооружений // Фауна азотенков: Атлас. Л., 1984. С. 12–31.

65. Гигевич Г.С., Дробкова В.Т. Отклик высшей водной растительности на эвтрофирование озер // Восстановление экосистем малых озер. СПб., 1994. С. 57–63.

66. Гилева Э.А. О накоплении некоторых химических элементов пресноводными водорослями // Проблемы радиационной биогеоценологии. Свердловск, 1965. С. 5–31.

67. Гладышев П.П., Шаповалов Ю.А., Козлов В.А. Прогнозирование токсичности окружающей среды с использованием биокаталитических систем // Химия и технология воды. 1986. №5. С. 10–14.

68. Глазер В.М. и др. Тест-системы для биомониторинга на основе мембранно-связанных ферментных комплексов. IV. Оценка генотоксических эффектов в тест-системе Эймса с метаболической ак-

тивацией микросомальными монооксигеназами из печени рыб // Биологические науки. 1984. №5. С. 85–89.

69. Голубкова Э.Г. Теоретические аспекты биотестирования на примере парамеции // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 137–140.

70. Голубовская Э.Н. Биологические основы очистки вод. М., 1978. 271 с.

71. Гольд З.Г., Глущенко Л.А., Морозова И.И. Структурно-функциональные характеристики и этологические реакции биотестов в оценке качества воды // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 318–319.

72. Гольд З.Г., Мучкина Е.Я., Шиенюк В.В. Парамеции как тест-объекты при определении токсичности сточных вод // Биологические исследования в вузах Красноярского края. Красноярск, 1977. С. 53–54.

73. Гольд З.Г., Скопцова Г.Н. Оценка степени загрязнения вод по организмам планктона и бентоса: Методическое руководство. Красноярск, 1982. 20 с.

74. Гуляев Г.В., Мальченко В.В. Словарь терминов по генетике, цитологии, селекции, семеноводству и семеноведению. М., 1983. 240 с.

75. Данильченко О.П., Туманова Н.А. Экспресс-метод определения токсичности водной среды по функциональному состоянию инфузорий спиростом // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 130–132.

76. Данильченко О.П., Тушмалова Н.А., Бресткина М.Д. Экспресс-методы оценки природной и сточной воды по функциональному состоянию инфузорий спиростом // Методы биотестирования качества водной среды. М., 1989. С. 40–46.

77. Дмитриева А.Г. и др. Содержание хлорофилла и меди в листьях и в целом растении элодеи канадской // Физиология и токсикология водных гидробионтов. Ярославль, 1989. С. 44–52.

78. Дмитриева А.Г., Веселова Т.В., Веселовский В.А. Биотестирование сточных вод и их компонентов и биоиндикация природных вод с использованием люминесцентных методов // Методы биотестирования качества водной среды. М., 1989. С. 21–33.

79. Долгов Г.И. Биологические исследования водоемов // Гидробиологические основы самоочищения вод. Л., 1976. С. 112–123.

80. Долгов Г.И. Изменение и дополнение к списку сапробных организмов Кольквитца и Марссона // Русский гидробиологический журнал. Саратов, 1926. Т. 5. С. 91–104. (цит. по: Макрушин, 1974).

81. Долгов Г.И., Никитинский Я.Я. Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод. 1927. №75. 252 с. (цит. по: Макрушин, 1974).

82. Дубинина Л.Г. Мутагенная активность придонных отложений природных и искусственных водоемов Астраханской области // Генетика. 1996. Т. 32. №4. С. 584–589.

83. Дуплаков С.Н. Материалы к изучению перифитона // Труды микробиологической станции в Косине. 1933. Вып. 16. 160 с.

84. Дыганова Р.Я., Порфирьева Н.А. Возможности использования пресноводных трикладид в качестве тест-объектов в токсикологических экспериментах: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 194–195.

85. Дьюсбери Д. Поведение животных: Сравнительные аспекты. М., 1981.

86. Евтюгин Г.А. и др. Сравнительная оценка методов биотестирования и биохимических тестов контроля качества вод // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 218.

87. Егоркина Г.И. Место растений в оценке генотоксичности химических веществ и загрязненных сред. ИВЭП СО РАН. 22 с. // Деп. в ВИНТИ. №3020 – В96. 14.10.96.

88. Егоркина Г.И. Оценка генотоксичности природных вод Восточной части Кулундинской степи // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998б. С. 367–368.

89. Егоркина Г.И. Оценка генотоксичности снеговой воды в Благовещенском районе // Проблемы устойчивого развития общества и эволюция жизненных сил населения Сибири на рубеже XX–XXI вв.: Мат. междунар. конф. Барнаул, 1998а. С. 175–178.

90. Егоркина Г.И. Оценка мутагенного загрязнения водных объектов с использованием цитогенетических методов. ИВЭП СО РАН. 52 с. // Деп. в ВИНТИ. №1743 – В99. 31.05.99.

91. Жадин В.И. Донные биоценозы реки Оки и их изменения за 35 лет // Загрязнение и самоочищение реки Оки. Л., 1964.

92. Жадин В.И., Родина А.Г. Биологические основы водоснабжения и очистки вод // Жизнь пресных вод / Под ред. В.И. Жадина и Е.Н. Павловского. М.; Л., 1950. Т. 3. С. 779–818.

93. Жулева Л.Ю., Дубинин Н.П. Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области // Генетика. Т. 30. №10. С. 999–1004.

94. Зарубин С.Л., Цветков И.Л., Урванцева Г.А. Изменение характеристик фермента кислой фосфатазы моллюсков *Viviparus*

viviparus при воздействии сточных и природных вод // VII съезд Всерос. гидробиол. общества: Тез. докл. Казань, 1996. Ч. 3. С. 28–30.

95. Захаров В.М., Кларк Д.М. Биотест – интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М., 1993. 68 с.

96. Захарченко М.П., Ткачук С.М., Яковлева Л.Е., Гайдамака А.А., Ромашов П.Г., Бородин В.С. Гигиеническая экспресс-диагностика токсичности дезинфектантов питьевой воды с помощью методов биотестирования // Гигиена и санитария. 1994. №9. С. 3–4.

97. Захидов С.Т. и др. Цитогенетический мониторинг Южного Приаралья. Оценка генотоксической активности воды // Известия АН СССР. Сер. биол. 1993б. №1. С. 95–101.

98. Захидов С.Т. и др. Чувствительность хромосом кроветворных клеток личинок *Xenopus laevis* к действию химического мутагена фотрина // Известия АН СССР. Сер. биол. 1993в. №1. С. 107–111.

99. Захидов С.Т., Карнюк М.Л., Галиченков В.А. Цитогенетический мониторинг Волжского бассейна. Уровни хромосомных мутаций в половых и соматических клетках самцов стерляди // Известия АН СССР. Сер. биол. 1993а. №1. С. 102–106.

100. Зенин А.А., Белоусова Н.В. Гидрохимический словарь. Л., 1988. 240 с.

101. Зилов Е.А., Стом Д.И. Модельный эксперимент в водной токсикологии // Гидробиологический журнал. 1990. Т. 26. №1. С. 67–71.

102. Иванова Г.Г. Санитарная гидробиология с элементами водной токсикологии. Иркутск, 1982. 80 с.

103. Иванова Е.Ю., Степанова Л.И. Анализ мутагенных и канцерогенных соединений в экосистемах Алтайского края // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 233–234.

104. Извекова Э.И., Кузьминых А.А., Николаев С.Г. Хирономиды некоторых малых рек бассейна р. Оки и возможность использования их личинок в качестве индикаторов загрязнения // Экология, эволюция и систематика хирономид. Тольятти, 1996. С. 132–137.

105. Израэль Ю.А., Гасилина Н.К., Абакумов В.А. Гидробиологическая служба наблюдения и контроля поверхностных вод в СССР. М., 1979.

106. Ильин М.Н. Аквариумное рыбоводство. М., 1977.

107. Ильинских И.Н., Ильинских Н.Н., Некрасов Н.Н. Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов // Цитология и генетика. 1988. Т. 22. С. 45.

108. Ильинских Н.Н. Изменчивость нормального хромосомного набора у гомойотермных и пойкилотермных позвоночных живот-

ных // Зоологический журнал. 1980. Вып. 10. С. 1494–1499.

109. Ильинских Н.Н. Цитогенетический анализ последствий инфекционных заболеваний и вакцинации в связи с иммунной реактивностью организма: Автореф. дис. докт. биол. наук. Л., 1984. 44 с.

110. Ильинских Н.Н. Цитогенетическое изучение природных популяций и экспериментальных животных, инвазированных *Opistorchis felinus* // Известия СО АН СССР. Сер. биол. 1981. Вып. 1. С. 109–114.

111. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Вончукова Н.Н. и др. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск, 1992. 272 с.

112. Инграм Д. Электронный парамагнитный резонанс в биологии. М., 1972. 296 с.

113. Ирлина И.С. Тетрахимена – тест-объект в токсикологических исследованиях // Экология морских и пресноводных простейших: Тез. докл. II Всесоюз. симп. протозоологов. Ярославль, 1989. С. 26.

114. Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Метод биотестирования с использованием дафний // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988.

115. Использование инфузории туфельки для теста токсичности: Матер. конф. Петрозаводск, 1969.

116. Истомина А.Г., Кикнадзе И.И., Сиирин М.Т. Кариологический анализ видов *Chironomus* gr. obtusidens Алтая (Diptera, Chironomidae) // Цитология. 1999. Т. 41. №12. С. 1022–1031.

117. Кабанов Е.М. Методы санитарно-гидробиологических исследований // Приемы санитарного исследования водоемов. М. 1960. С. 313–336.

118. Казаринова Т.Ф. и др. Токсичность тяжелых металлов в присутствии донных отложений // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 44.

119. Камшилов М.М. Буферность живой системы // Журнал общей биологии. 1973. Т. 34. №2. С. 174–194.

120. Камшилов М.М. Норма и патология в функционировании водных экосистем // Норма и патология в водной токсикологии: Тез. докл. Байкальск, 1977. С. 13–16.

121. Карелин Я.А. и др. Очистка производственных сточных вод в аэротенках. М., 1973. 223 с.

122. Карпович Т.А. Сравнительная характеристика методов отведения электрокардиограммы и электропневмограммы у рыб // Реакция гидробионтов на абиотические воздействия. Ярославль, 1984. С. 31–37.

123. Карпович Т.А., Бараев А.А. Метод слежения за вентиляцией жабр и сердечными сокращениями у интактных рыб по звуковым сигналам: Тез. докл. Рига, 1988. С. 177–179.

124. Карпович Т.А., Колупаев Б.И. Изучение сублетального действия токсикантов на рыб по физиологическим показателям // Охрана природы от загрязнения промышленными выбросами предприятий целлюлозно-бумажной промышленности. Л., 1984. С. 184–190.

125. Карпович Т.А., Колупаев Б.И. Электромиограмма приводящего мускула нижней челюсти интактного байкальского хариуса *Thymallus arcticus baicalensis* Dybowski в растворе фенола // Вопросы ихтиологии. 1978. Т. 18. Вып. 5. С. 969–971.

126. Карпович Т.А., Лукьяненко В.И. Рекомендации к разработке комплексного экспрессного метода биотестирования сточных вод с использованием рыб в качестве тест-объекта // Экспериментальная водная токсикология. 1990. Вып. 14. С. 232–237.

127. Кикнадзе Г.С., Есаков Б.П., Кузьминых С.Б., Комаров В.М. Автоматизированный метод оценки загрязненности водной среды, основанный на регистрации периода биения сердца дафний // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л., 1987. Вып. 1. С. 25–34.

128. Кикнадзе И.И., Блинов А.Г., Колесников Н.Н. Молекулярно-цитологическая организация генома хирономид // Структурно-функциональная организация генома. Новосибирск, 1989. С. 4–58.

129. Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. и др. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии. Новосибирск, 1996. 160 с.

130. Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. и др. Цитогенетический мониторинг природных популяций хирономид Алтая в условиях антропогенных загрязнений // Генетические эффекты антропогенных факторов среды. Вып. 1: Исследование последствий радиационных загрязнений районов Алтайского края. Новосибирск, 1993а. С. 62–79.

131. Кикнадзе И.И., Керкис И.Е., Рузанова А.И. Хромосомный полиморфизм сибирских популяций *Chironomus nudiventris* // Цитология. 1987. Т. 29. №10. С. 1161–1167.

132. Кикнадзе И.И., Керкис И.Е., Филиппова М.А. Хромосомный полиморфизм природных сибирских популяций *Chironomus plumosus* // Зоологический журнал. 1987. Т. 66. №6. С. 877–882.

133. Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е. и др. Кариотипы и морфология личинок трибы *Chironomini*. Атлас. Новосибирск, 1991. 115 с.

134. Кириллов В.В. и др. Биоразнообразие как фактор и показатель состояния гидросистем бассейна Верхней Оби: Тез. докл. Казань, 1996. С. 128–130.

135. Кириллов В.В., Силантьева М.М., Бельдеева Л.Н., Кириллова Т.В., Тушкова Г.И. Факторы снижения рекреационного потенциала водных экосистем бассейна Верхней Оби // Значение рекреационных ресурсов Алтайского края для Сибирского региона: Мат. науч.-практ конф. Барнаул, 1999. С. 81–84.

136. Кириллова Т.В. Оценка качества поверхностных и подземных вод на основе биотестирования с применением водорослей // Актуальные вопросы биологии: Тез. докл. Барнаул, 1995. С. 87–90.

137. Кожова О.М., Акиншина Т.В. Классификация чистоты вод р. Ангары по состоянию макрозообентоса с использованием выявленных индикаторных групп организмов // Гидробиологические и ихтиологические исследования в Восточной Сибири (Чтения проф. М.М. Кожова). Вып. 3. Иркутск, 1979. С. 55–74.

138. Кожова О.М., Павленко В.В. Биологические эффекты антропогенных воздействий, выявляемых в модельных экспериментах, и прогнозирование последствий загрязнения водоемов с учетом отдаленных генетических эффектов // Исследование биологического действия антропогенных факторов, загрязняющих водоемы. Иркутск, 1979. С. 4–11.

139. Кожова О.М., Тимофеева С.С. Эколого-токсикологические проблемы в системе мониторинга // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 165–169.

140. Козак М.Ф., Вострикова Н.В. Структурные преобразования хромосом в клетках меристемы под влиянием вод ЕСР Астраханского газового комплекса // Ученые записки. Астрахань, 1999. С. 39–51.

141. Козлов А.Т. Строительное поведение личинок ручейников *Limnophylus stigma* при сооружении листовых и песчаных домиков // Зоологический журнал. 1979. №3.

142. Козлов А.Т., Свешников Б.А. Поведение личинок ручейника *Neuroclepsis bimaculata* L. при строительстве домика в условиях эксперимента // Управление поведением животных. М., 1977.

143. Козлов Ю.П. и др. Тест-системы для биомониторинга на основе мембранно-связанных ферментных комплексов. I. Исследования оксигеназ со смешанной функцией в микросомах печени рыб эндемиков озера Байкал // Биологические науки. 1983а. №1. С. 20–24.

144. Козлов Ю.П. Тест-системы для биомониторинга на основе мембранно-связанных ферментных комплексов. II. Изучение ферментных и неферментных систем перекисного окисления липидов в

микросомах печени рыб эндемиков озера Байкал // Биологические науки. 1983б. №5. С. 12–17.

145. Козловская В.И., Майер Ф., Петти Дж. Активность ацетилхолинэстеразы мозга и содержание коллагена в позвоночнике карася при интоксикации хлорофосом // Гидробиологический журнал. 1984. Т. 20. №4.

146. Колосова Л.В., Данильченко О.П., Бузинова Н.С. Использование для токсикологических исследований прудовика обыкновенного // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л., 1987. Вып. 1. С. 98–109.

147. Колупаев Б.И. и др. Сравнительная оценка чувствительности некоторых тест-функций у рыб, ракообразных и простейших к действию токсических веществ // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Вып. 1. Л., 1987. С. 109–118.

148. Колупаев Б.И. Чувствительность тест-функций как основа для выбора биотестов на токсичность водной среды // Гидробиологический журнал. 1989. Т. 25. С. 52–54.

149. Колупаев Б.И., Бейм А.М., Маклаков В.В. Перспективные методы и устройства для тестирования биологической полноценности сточных вод // Водные ресурсы. 1986. №1. С. 159–163.

150. Комаровский Ф.Я. и др. Кумуляция пестицидов в гидробионтах как индикатор загрязнения водной среды: Тез. докл. Киев, 1981. Ч. 3. С. 81–82.

151. Кондратьева И.А. Опыт применения *Epishura baicalensis* Sars. при биотестировании промышленных и сточных вод // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 127–129.

152. Кондратьева И.А. Эколого-токсикологический контроль качества очищенных сточных вод сульфат-целлюлозного производства: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 1980.

153. Константинов А.С. Использование теории множеств в биогеографическом и экологическом анализе // Успехи совр. биологии. 1969. Т. 67. №1. С. 99–108.

154. Константинов А.С. Общая гидробиология. М., 1979, 1986.

155. Константинов А.С. Оценка и индикация состояния водных экосистем в условиях антропогенного воздействия // Научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям. Л.: Гидрометеиздат, 1981. С. 75–89.

156. Короленко П.И., Степаненко А.А. О возможности использования поведенческих реакций брюхоногих моллюсков для биотестирования токсичности химзагрязненных вод // Гидрохимические материалы. 1984. Т. 25. С. 14–17.

157. Король В.М. Влияние триметилловохлорида и триамилловохлорида на водоросли и высшие растения // Реагирование гидробионтов на оловоорганические соединения. М., 1979. С. 22–45.

158. Король В.М. Использование элодеи для биотестирования качества водной среды // Физиология и токсикология гидробионтов. Ярославль, 1989. С. 98–103.

159. Король В.М. Проведение токсикологических исследований на высших водных растениях // Методы биотестирования качества водной среды. М., 1989. С. 34–40.

160. Король В.Н., Строганов Н.С., Апашева Л.Н. Изменение концентрации свободных радикалов как тест для оценки степени токсичности вод // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 159–161.

161. Коростылев М.В. К вопросу об изученности симптомов острого отравления хируномид пестицидами // Биологическая продуктивность сырьевых ресурсов Балтийского моря и их рациональное использование: Тез. докл. конф. Рига, 1979. С. 48–49.

162. Кортс Ф. и др. Экологическая химия. М., 1997. 396 с.

163. Косова А.А. Вычисление веса некоторых форм зоопланктона низовьев дельты Волги // Труды Астраханского заповедника. 1961. Вып. 5. С. 151–159.

164. Котелевцев С.В., Стволинский С.Л., Бейм А.М. Эколого-токсикологический анализ на основе биологических мембран. М., 1986. 106 с.

165. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в охране вод от загрязнения // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 4–15.

166. Крайнюкова А.Н. Роль биотестирования в охране водных объектов от загрязнения сточными водами: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 201–202.

167. Кратасюк В.А. Биolumинесцентный ингибиторный анализ: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 1985. 17 с.

168. Кратасюк В.А., Гительзон И.И. Бактериальная биolumинесценция и биolumинесцентный анализ // Биофизика. 1982. Т. 27. Вып. 6. С. 937–953.

169. Кротов А.П. и др. Исследования возможности применения зон нитри-денитрификации в реконструируемых аэротенках на канализационных очистных сооружениях г. Барнаула // Обской вестник. 1996. №2–3. С. 88–93.

170. Кузнецов А.М., Балаян А.Э. Биolumинесцентный метод оценки токсичности фенольных соединений // Информ. мат. СИ-ФИБРа. Иркутск, 1981. С. 53–55.

171. Кузнецов И.Ю., Измествьева Л.Р. Мониторинг автотрофного звена экосистем озера Байкал с помощью погружного импульсного флуориметра // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 63.

172. Кузьменко К.Н. Изменения в составе и продуктивности зообентоса, связанные с процессом эвтрофикации // Эвтрофирование мезотрофного озера. Л., 1980. С. 108–115.

173. Кузьменко М.И. Радионуклиды в пресноводных экосистемах // Гидробиологический журнал. 1990. Т. 26. №1. С. 96–99.

174. Кузьмина К.А., Богородицкая С.В. Влияние некоторых пестицидов на выживаемость и поведенческие реакции олигохет // Проблемы экологии и охраны природы в Нижнем Поволжье. Саратов, 1984. С. 134–137.

175. Куликов Н.В., Молчанова И.Н. Континентальная радиоэкология. М., 1975. 184 с.

176. Куликов Н.В., Чеботина Н.Я. Радиоэкология пресноводных биосистем. Свердловск, 1988. 128 с.

177. Куражковская Т.Н., Семенова Л.М. Действие малых доз фенола на личинок хирономид // Информ. бюллетень ИБВВ. 1971. №12. С. 42–44.

178. Кутлиев Дж. и др. Роль гидробионтов в очистке сельскохозяйственных и сточных водах: Тез. докл. Мурманск, 1991. Ч. 1. С. 186–187.

179. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1973. 284 с.

180. Лапкина Л.Н., Флеров Б.А. Использование пиявок для идентификации пестицидов в воде // Гидробиологический журнал. 1980. Т. 16. № 3. С. 113–119.

181. Лапкина Л.Н., Флеров Б.А. Исследование острого отравления пиявок некоторыми токсическими веществами // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л., 1979. С. 50–59.

182. Леонтьева О.А., Серебряная О.Л. Земноводные как биоиндикаторы загрязнения окружающей среды: Тез. докл. М., 1996. С. 64.

183. Лесников Л.А. Методика оценки влияния воды из природных водоемов на *Daphnia magna* Straus // Методика биологических исследований по водной токсикологии. М., 1971. С. 157–166.

184. Лесников Л.А. Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов // Вопросы методик в водной токсикологии. Л., 1979. Вып. 144. С. 3–42.

185. Лесников Л.А. Нормирование загрязняющих веществ в системе охраны вод от загрязнения: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 205–206.

186. Лесников Л.А. Основные задачи, возможности и ограничения биотестирования // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 3–12.

187. Лесников Л.А., Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Опыты на дафниях // Методические рекомендации по установлению предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. М., 1986. С. 34–48.

188. Липеровская Е.С. Гидробиологические индикаторы активного ила и их роль в биологической очистки сточных вод // Общая экология. Биоценология. Гидробиология: Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР. М., 19776. Т. 4. С. 169–217.

189. Липеровская Е.С. Гидробиологический анализ активного ила // Методика технологического контроля очистных сооружений городской канализации. М., 1977а. С. 201–215.

190. Липосомы в биологических системах. М., 1983. 90 с.

191. Лузгин Б.Н. Экологические проблемы: Земля, Россия, Алтай: Учеб. пособие: В 2-х ч. Бийск, 1995.

192. Лузгин В.К., Лесников Г.В. Использование химических маркеров при изучении механизмов регуляции численности у дафний // Проблемы экологии Прибайкалья: Тез. докл. Иркутск, 1983. С. 38–59.

193. Лукьяненко В.И. Биохимические тесты в ихтиотоксикологии // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 38–45.

194. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М., 1983. 319 с.

195. Лукьяненко В.И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. М., 1987. 240 с.

196. Лукьянцева Л.В. Биологическое тестирование природных вод // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 329–330.

197. Львова Т.Г. Санитарная гидробиология с основами водной токсикологии. Калининград, 1996. 70 с.

198. Майер Ф.Л., Мерл П. Коллаген и гидроксипролин в токсикологических исследованиях на рыбах // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л., 1979. С. 310–319.

199. Майорова А.Д., Локтева О.Г. Действие фенола на некоторых пресноводных моллюсков из разных местообитаний: Тез. докл. Киев, 1981. Ч. 3. С. 34–35.

200. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будышков Т.К. Экологический мониторинг суперэкоотоксикантов. М., 1996. 320 с.

201. Мак-Интайр А.Д. Успехи в изучении эффектов загрязнения морской среды // Комплексный глобальный мониторинг загрязнения окружающей природной среды. Л., 1980. С. 120–130.

202. Макрушин А.В. Опыт использования в биотестировании разных видов ветвистоусых ракообразных // Сб. науч. тр. ГосНИИ-ОРХ. 1988. №287. С. 92–95.

203. Макрушин А.В. Библиографический указатель по теме «Биологический анализ качества пресных вод» с приложением списка видов-индикаторов. Л., 1974а. 60 с.

204. Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод / Под ред. Г.Г. Винберга. Л., 1974б. 60 с.

205. Максимов В.Н. Метрологические свойства индексов сходства (в приложении к биологическому анализу качества вод) // Комплексные оценки качества поверхностных вод. Л., 1984. С. 77–84.

206. Мамаева Н.В. Динамика фауны организмов активного ила в процессе очистки промышленных сточных вод: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1971. 18 с.

207. Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР. М.; Л., 1964. 372 с.

208. Маслов А.П., Петров А.М., Гиниатуллин И.М., Наумова Р.П. Метод биотестирования сточных вод, поступающих на биологическую очистку // Методы биотестирования сточных вод. Черноголовка, 1988. С. 97–99.

209. Маторин Д.Н. и др. Применение метода регистрации замедленной флуоресценции для биотестирования загрязненности природных вод гербицидами и фитотоксическими веществами // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л., 1987. Вып.1. С. 18–25.

210. Медведева С.Е. и др. Влияние компонентов сточных вод на ультраструктуру светящихся бактерий // Проблемы экологии Прибайкалья: Тез. докл. Иркутск, 1988. С. 87.

211. Мелехова О.П., Касова Г.В., Лимаренко И.М. Тестирование токсичности воды по метаболическому критерию // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 74–75.

212. Метафазный метод учета перестроек хромосом (методическое руководство). М., 1970. 127 с.

213. Методические рекомендации по биотестированию природных, сточных вод и отдельных загрязняющих веществ. Москва, 1982.

214. Методические указания по биотестированию сточных вод с использованием рачка дафния магна. М., 1986.

215. Методические указания по принципам организации системы наблюдений и контроля за качеством воды водоемов и водотоков на сети Госкомгидромета в рамках ОГСНК. Л., 1984. 40 с.

216. Методическое руководство по биотестированию воды РД 118-02-90. М., 1990.

217. Методы водной токсикологии. Л., 1988. 140 с.

218. Мисейко Г.Н. Генетические факторы обеспечения экологической пластичности у хирономид как элемента биомониторинга // Особо охраняемые природные территории Алтайского края и сопредельных территорий, тактика сохранения видового разнообразия и генофонда: Тез. докл. Барнаул, 1999. 103–105.

219. Мисейко Г.Н., Безматерных Д.М. Зообентос реки Барнаулки (Алтайский край) // Биологическое разнообразие животных Сибири: Мат. науч. конф. Томск, 1998. С. 78–79.

220. Мисейко Г.Н., Вострова Л.Г. Кариотипическая структура природных популяций *Polypedilum nubeculosum* Mg. (Diptera, Chironomidae) из Алтайского края // Известия АГУ. 1999. №3(13). С. 58–60.

Алту

221. Мисейко Г.Н., Кикнадзе И.И., Минсаринова Б.Х. Добавочные хромосомы у хирономид // Докл. АН СССР. 1971. Т. 200, №3. С. 709–711.

222. Мисейко Г.Н., Лагуткина Л.В. Гидрофауна малых рек заказника «Михайловский» Алтайского края как индикатор их состояния // Известия АГУ. 1997. №1. С. 132–133.

223. Мисейко Г.Н., Лагуткина Л.В. К вопросу о состоянии малых рек заказника «Михайловский» Алтайского края // Задачи и проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах Сибири. Томск, 1996. С. 29–33.

224. Мисейко Г.Н., Матвеева (Эйдукайтене) О.В. Свободноживущие инфузории нижнего течения реки Барнаулки и их роль в биоиндикации. Видовой состав инфузорий и их роль в биоиндикации // Известия АГУ. 2000. №3. С. 81–83.

225. Мисейко Г.Н., Минсаринова Б.Х. Кариологическая структура природных популяций двух видов комаров рода *Glyptotendipes* // Цитология. 1974. Т. 16. №7. С. 893–896.

226. Мисейко Г.Н., Минсаринова Б.Х., Кикнадзе И.И. Кариотипическая структура природных популяций *Glyptotendipes barbipes* // Цитология. 1971. Т. 13. №12. С. 1501–1506.

227. Мисейко Г.Н., Никонова В.П. Зоопланктон среднего тече-

ния реки Алей в условиях антропогенного воздействия // Рыбопродуктивность озер Западной Сибири. Новосибирск, 1991.

228. Мисейко Г.Н., Попова В.С. Кариологическое изучение *Sturptochironomus gr. defectus* Kieff. II. Характеристика первого кариотипа // Цитология. 1970б. Т.12. №9. С. 1170–1182.

229. Мисейко Г.Н., Попова В.С. Кариологическое изучение *Sturptochironomus gr. defectus* Kieff. I. Общая характеристика кариотипического разнообразия // Цитология. 1970а. Т.12. №2. С. 158–165.

230. Моисеенко Т.И. Экоотоксикологический подход к нормированию антропогенных нагрузок на водоемы Севера // Экология. 1998. №6. С. 452–461.

231. Москвитина Н.С., Куранова В.Н., Савельев С.В. Патология эмбриогенеза мелких млекопитающих и амфибий в связи с загрязнением среды // Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды: Тез. докл. Томск, 1995. Т. 2. С. 82.

232. Мошкович А.М. Добавочные хромосомы покрытосеменных растений. Кишинев, 1979. 164 с.

233. Мур Д., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. М., 1987. 286 с.

234. Некрасова Л.С. Связь гибели личинок кровососущих комаров в хлорофосе с их биологической неоднородностью // Экология. 1989. № 4. С. 39–46.

235. Непомнящих В.А., Валушок Л.Н. Действие хлорофоса на строительное поведение ручейников *Chaetopteryx villosa* Fabr. // Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных. Л., 1990б. С. 95–103.

236. Непомнящих В.А., Валушок Л.Н. Инстинктивное поведение личинок ручейников *Chaetopteryx villosa* Fabr. // Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных. Л., 1990. С. 29–41.

237. Никаноров А.М., Жулидов А.В. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. СПб., 1991. 312 с.

238. Николюк Б.Ф. Метод быстрого подсчета количества микроорганизмов в жидкой среде // Узбекский гидробиологический журнал. 1963. №5. С. 81–82.

239. Новосадова Т.П., Соколова Э.В. Прогнозирование биопомех в системах водоснабжения и контроль глубины очистки сточных вод: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 212–213.

240. Норма и патология в водной токсикологии. Байкальск, 1977.

241. Общие основы изучения водных экосистем / Под ред. Г.Г. Винберга. Л., 1979. 273 с.

242. Оксийок О.П., Жукинский В.Н. Методические приемы ис-

пользования эколого-санитарной классификации поверхностных вод суши // Гидробиологический журнал. 1983. Т. 19. №5. С. 63–67.

243. Оксийок О.П., Жукинский В.Н., Брагинский П.Н. и др. Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши // Гидробиологический журнал. 1993. Т. 29. №4. С. 62–76.

244. Олексив И.Т., Андруштитин О.П. Морфолого-физиологические отклонения от нормы у *Paramecium caudatum* под воздействием некоторых пестицидов: Тез докл. Мурманск, 1991. Ч. 2. С. 127–129.

245. Орлов Ф.М. Словарь ветеринарных клинических терминов. М., 1983. 367 с.

246. Павленко В.В., Демидова Л.А., Трубачева Л.Я. Метод оценки токсичности и мутагенности сточных вод и химических соединений // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 73–77.

247. Павлов Д.Ф., Козловская В.И., Флеров Б.А. Использование коллагена для оценки токсического действия загрязняющих веществ на рыб // Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных. Л., 1990. С. 85–94.

248. Парина О.В. и др. Динамика накопления и распределения ряда триалкилоловопроизводных соединений в органах и тканях карпа в остром и хроническом эксперименте: Тез. докл. Киев, 1981. Ч. 3. С. 94–95.

249. Патин С.А., Айвазова А.Е. Биотестирование природных и сточных вод. М., 1981. 77 с.

250. Патин С.А., Морозов Н.П. Некоторые аспекты проблемы загрязнения морской среды тяжелыми металлами // Труды ВНИРО. 1974. Т. 50. С. 7–12.

251. Паушева З.Н. Практикум по цитологии растений. М., 1988. 271 с.

252. Петрова И.В. и др. Принципы установления нормативов загрязнения донных отложений: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 214–215.

253. Петрова Н.А. Хромосомные перестройки трех видов хирономид из зоны Чернобыля // Генетика. 1991. Т. 27. №5. С. 836–848.

254. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. СанПИН 2.1.4.559-96. М., 1996. 111 с.

255. Побегайло П.И., Новосадова Т.Г. Рекомендации по определению токсичности производственных сточных вод с использованием рачка дафния magna. М., 1986.

256. Пожаров А.В., Папутская Н.И., Титаренко Ю.Н. и др. Метод биотестирования по хемотоксической реакции парамеций // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 99–103.
257. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. М., 1990. 160 с.
258. Поликарпов Г.Г. Радиоэкология морских организмов. М., 1964.
259. Поликарпов Г.Г. Развитие радиоэкологических исследований на морских и пресноводных водоемах СССР // Гидробиологический журнал. 1987. Т. 23. № 6. С. 29–38.
260. Полищук В.В., Тарасевич И.Г., Онанко Ю.И. Сопоставление систем биологической индикации на примере североукраинских водоемов // Водные ресурсы. 1983. №2. С. 152–167.
261. Попченко В.И. Оценка степени загрязнения вод по показателям зообентоса // Биоиндикация: теория, методы, приложения. Тольятти, 1994. С. 99–106.
262. Попченко В.И. Биоиндикация качества воды по сообществам олигохет // Биоиндикация: теория, методы, приложения. Тольятти, 1994. С. 232–237.
263. Попченко В.И. Закономерности изменения сообществ донных беспозвоночных в условиях загрязнения природной среды // Научные основы биомониторинга пресноводных экосистем. Л., 1988. С. 135–141.
264. Попченко В.И., Резанова А.Г. Методические указания по исследованию зообентоса для определения состояния фоновых пресноводных систем. Л., 1987. 25 с.
265. Прохорова И.М. и др. Сравнительная характеристика методов подготовки воды для генетического анализа // Тест-системы для оценки мутагенного потенциала загрязнителей окружающей среды. Иркутск, 1984. С. 43.
266. Прохорова И.М. Некоторые проблемы токсического контроля за водной средой // Оценка суммарной генетической активности природной и сточных вод: Мат. конф. Ярославль, 1985. С. 9–13.
267. Прохорова И.М., Тючкалов Л.И., Потапова Н.И. и др. К вопросу о токсикогенетическом анализе воды // Физиологические аспекты токсикологии гидробионтов. Ярославль, 1989. С. 4–11.
268. Пшеницына Б.М. Региональный подход к биоиндикации загрязненных вод // Водные ресурсы. 1986. №1. С. 123–127.
269. Пшеницына В.Н. Об эффективности шкалы Вудивисса при биоиндикации качества воды // Гидробиологический журнал. 1986. Т. 24. №4. С. 42–45.
270. Пшеничников Р.А., Закиров Ф.Н., Никитина Н.М. Микро-

биотест для оценки мониторинга загрязнения почв // Экология. 1995. №4. С. 332–333.

271. Пясталова О.А., Вершинин В.Л., Трубецкая Е.А. и др. Использование амфибий в биоиндикационных исследованиях территории Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экология. 1996. №3. С. 378–382.

272. Реймерс Н.Ф. Природопользование: Словарь-справочник. М., 1990. 637 с.

273. Реймерс Н.Ф., Яблоков А.В. Словарь терминов и понятий, связанных с охраной природы. М., 1982. 144 с.

274. Рекомендации по определению токсичности производственных сточных вод с использованием рачка дафния magna. М., 1983.

275. Ривьер И.К., Флеров Б.А. Экспериментальные исследования отравления *Daphnia pulex* (De Geer) фенолом, перхлоратом аммония и полихлорпиненом // Антропогенные факторы в жизни водоемов. Л., 1975. С. 117–127.

276. Роговская Ц.И. Биохимический метод очистки производственных сточных вод. М., 1967. 138 с.

277. Рожнов Г.И., Проинова В.А., Лиманцев А.В. и др. Разработка альтернативных методов оценки токсичности химических веществ на основе биотестирования // Токсикологический вестник. 1995. №6. С. 27–29.

278. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. Л., 1974.

279. Романишин Г.Ф., Мишин В.Н. Мир аквариума. Киев, 1986.

280. Романова Н.С. Биотестирование вод реки Обь с использованием *Daphnia magna* (Straus) // Задачи и проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах Сибири. Томск, 1996. С. 37.

281. Романова Н.С. Биотестирование поверхностных вод бассейна озера Кулундинское // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 347–348.

282. Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И., Ставская С.С. Микробиология очистки воды. Киев, 1978. 278 с.

283. Руководство по цитологии. М.; Л., 1966. Т. II. 679 с.

284. Руководящий документ. Методические указания. Охрана природы. Гидросфера. Организация и проведения режимных наблюдений за загрязнением поверхностных вод суши на сети Роскомгидромета. РД 52.24.309 – 92. СПб., 1992.

285. Руссо Р.С. Информационная система по токсичности стоков сложного состава // Проблемы водной токсикологии, биотестирования и управления качеством воды. Л., 1986. С. 151–163.

286. Рябухин В.П., Блинкова М.Ю. Среда и фактор питания в токсикологических экспериментах с *Paramecium caudatum* // Проблемы водной токсикологии. Петрозаводск, 1978.

287. Сабуров Г.Е. Поведенческие реакции гидробионтов в биотестировании сточных вод // Физиология и токсикология гидробионтов. Ярославль, 1989. С. 68–74.

288. Сазонова В.Е., Зализняк Л.А., Савельева Л.М. и др. Использование биотестов при разработке мониторинга водной экосистемы // Экология. 1997. №3. С. 207–212.

289. Сайфулин Р.Р. Тяжелые металлы в икhtiокомпоненте водных экосистем Среднего Поволжья: Тез. докл. Казань, 1996. Т. 3. С. 69–72.

290. Серавин Л.Н. Влияние растворов химических веществ на фагоцитоз *Paramecium caudatum* // Вестник ЛГУ. 1957. №3. Вып. 1.

291. Серавин Л.Н. Влияние химических агентов на двигательную и сократительную систему спиростом // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. 1961. №3. С. 65–67.

292. Серавин Л.Н. Изменение деятельности сократительной вакуоли *Paramecium caudatum* в зависимости от условий среды // Вестник ЛГУ. 1958. №3. Вып. 1.

293. Серавин Л.Н. Особенности развития общего наркоза инфузории спиростом // Цитология. 1962. №4. С. 52–58.

294. Сергиенко О.В., Хлебопрос Р.Г. Биотестирование многокомпонентных загрязнений // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. 1985. Т. 8. С. 132–139.

295. Сидоров В.С. и др. Некоторые итоги изучения проблемы биохимических изменений в тканях волжского осетра при «расслоении» мышц // Биохимические особенности болезней рыб. Петрозаводск, 1991. С. 6.

296. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. Л., 1983. 240 с.

297. Сидоров В.С., Шатуновский М.И. Теоретические и практические аспекты экологической биохимии рыб // Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983. С. 16.

298. Сидоров В.С., Юровицкий Ю.Г., Кирилук С.Д. Принципы и методы эколого-биохимического мониторинга водоемов // Биохимия животных в норме и патологии. Петрозаводск, 1990. С. 5.

299. Силантьева М.М., Жихарева О.Н., Кириллова Т.В., Безма-терных Д.М., Мисейко Г.Н., Золотов Д.В., Савоськин А.В., Журавлев В.Б., Мерлушкина М.А., Стась Е.Ю., Соловьева М.В. К анализу современного состояния экосистемы бассейна Барнаулки // Известия АГУ. 1998. №4 (9). С. 139–144.

300. Симаков Ю.Г. Межклеточные взаимодействия в культурах простейших и их значение в биотестировании токсичности водной среды: Тез. докл. Куйбышев, 1986. Ч. 2. С. 216–217.

301. Симаков Ю.Г., Никитин-Никифоров А.Л., Кузнецов И.Б. Биотестирование токсичности соединений в водной среде на политенных хромосомах хируномид // Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1990. Вып. 14. С. 246–250.

302. Скориков А.С. Биологическая оценка воды Ладожского озера в санитарном отношении // Доклад VIII русскому водопроводному съезду. М., 1909а (цит. по: Макрушин, 1974).

303. Скориков А.С. Зоологические исследования Ладожской воды как питьевой. СПб., 1909б (цит. по: Макрушин, 1974).

304. Скориков А.С. Зоологические исследования Ладожской воды как питьевой. Ладожское озеро как источник водоснабжения города Санкт-Петербурга. Часть санитарная. СПб., 1911. С. 479–709 (цит. по: Макрушин, 1974).

305. Сладечек В. Общая биологическая схема качества воды // Санитарная и техническая гидробиология: Мат. I съезда Всерос. гидробиол. общества. 1967. С. 26–31.

306. Слепухина Т.Д. Сравнение различных методов оценки качества вод с помощью олигохет // Гидробиологические исследования. Т. 14. Таллин, 1983. С. 154–155.

307. Смирнов Б.Г. Цитогенетика. М., 1991. 247 с.

308. Смит Л.Л. Критерии биотестов // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л., 1979. С. 39–49.

309. Соколова И.В. и др. Контроль качества воды по состоянию генетического аппарата объектов аквакультуры // II Межд. конгресс АКВАТЭК-96: Тез. докл. М., 1996. С. 456.

310. Соколова С.А., Айвазова Л.Е. К вопросу об унификации методов проведения токсикологических экспериментов в целях биотестирования // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 79–81.

311. Степаненко А.А., Хоружая Т.А., Геков В.Ф. Экспресс-метод определения токсичности водной среды по двигательной активности брюхоногих моллюсков // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Вып. 1. Л., 1987. С. 84–98.

312. Степанова И.К., Комов В.Т. Накопление ртути в рыбе из водоемов Волгоградской области // Экология. 1997. №4. С. 295–299.

313. Стом Д.И. и др. Влияния фенолов и продуктов их окисления на водные растения и содержание в них сульфгидрильных групп // Доклады АН СССР. 1974. Т. 216. №3. С. 698–701.

314. Стом Д.И., Гиль Т.А., Балаян А.Э. Бактериальная люминесценция и биотестирование. Иркутск, 1993.

315. Стом Д.О., Гиль Т.А. Сравнительная токсикометрия органических и неорганических загрязнителей на веслоногих и ветвистоусых рачках // Доклады АН. 1998. Т. 362. № 1. С. 140–142.

316. Строганов Н.С. Методика определения токсичности водной среды // Методики биологических исследований по водной токсикологии. М., 1971. С. 14–60.

317. Строганов Н.С. Токсикологический контроль загрязненности пресных водоемов // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л., 1979. С. 221–224.

318. Строганов Н.С. Биологический аспект проблемы нормы и патологии в водной токсикологии и теоретические проблемы водной токсикологии. М., 1983. С. 5–21.

319. Строганов Н.С. Дмитриева А.Г. Король В.М. Водоросли и макрофиты как объекты биотестирования // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 153–158.

320. Строганов Н.С. Загрязнение вод и задачи водной токсикологии // Вопросы водной токсикологии: Тез. докл. I Всесоюз. конф. М., 1970. С. 11–33.

321. Строганов Н.С. и др. Биотестирование действия токсиканта на водоросли при помощи длительного послесвечения // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 162–164.

322. Строганов Н.С. Научные основы установления ПДК токсических веществ в открытых водоемах. Биологический аспект: Тез. докл. М., 1972. С. 7–10.

323. Строганов Н.С., Бузинова Н.С. Практическое руководство по гидрохимии. М., 1980. 196 с.

324. Строганов Н.С., Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Метод биотестирования качества вод с использованием дафний // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. 1987. Вып. 1. С. 5–12.

325. Строганов Н.С., Колосова Н.В. Изучение токсичности водной среды на брюхоногих моллюсках // Методики биологических исследований по водной токсикологии. М., 1971. С. 216–218.

326. Строганов Н.С., Путинцев А.И., Шигин В.И. О применении экспресс-метода оценки острой токсичности промышленных стоков в экспедиционных условиях // Известия ГосНИОРХ. 1974. Т. 98. С. 87–90.

327. Тагунов В.Б., Флеров Б.А. Реакция избегания токсических веществ у водяного ослика // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1978. №39. С. 80–84.

328. Тарасова Т.П., Охапкин А.Т., Шурганова Т.В. и др. Сравнения двух систем оценки качества воды // Гидробиологический журнал. 1990. Т. 26. №6. С. 32–36.

329. Тарханов И.Р. Опыты над действием рентгеновских X-лучей на животный организм // Известия СПб. биологической лаборатории. 1896. Т. 1. Вып. 3. С. 47–52. (цит. по: Поликарпов, 1987).

330. Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология / Под ред. Н.С.Строганова. М., 1983. 185 с.

331. Терещенко В.Г., Терещенко Л.И., Сметанин М.М. Оценка различных индексов для выражения биологического разнообразия сообщества // Биоразнообразие. Степень таксономической изученности. М., 1994. С. 86–98.

332. Тест AZ – по Кнеппу для ориентировочного определения токсичности // Унифицированные методы исследования качества воды. Ч. 3: Методы биологического анализа вод. М., 1975. С. 89–98.

333. Тимофеева С.С. Санитарно-техническая гидробиология и водная токсикология. Иркутск, 1986. 128 с.

334. Тимофеева С.С. Активность окислительных ферментов как биотест для оценки токсичности природных и сточных вод // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Вып. 1. Л.: Гидрометеиздат, 1987. С. 76–84.

335. Тодераш И.К. Функциональное значение хириноид в экосистемах водоемов Молдавии. Кишинев, 1984. 172 с.

336. Третьякова Е.И. Особенности распределения тяжелых металлов по компонентам водных экосистем различной минерализации: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Барнаул, 2000. 21 с.

337. Туманов А.А., Постнов И.Е. Водные беспозвоночные как аналитические индикаторы (обзор) // Гидробиология. 1983. Т. 19. № 5. С. 3–16.

338. Туманов А.А., Постнов И.Е., Осипова Н.И., Зимин А.Б. Химико-биологический метод оценки содержания фенола в воде с помощью дафний // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 104–106.

339. Тушкова Г.И. Экотоксикологическая оценка состояния поверхностных вод бассейна Верхней Оби методами биотестирования // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Томск, 1998. С. 363–364.

340. Тушкова Г.И., Эрнестова Л.С., Семенова И.В., Рябченко Н.А., Кратасюк В.А., Кузнецов А.М., Калачева Г.С., Грибовская И.В., Родичева Э.К., Кириллова Т.В. Экотоксикологическая оценка поверхностных и подземных вод Алтайского края // Ядерные испытания,

окружающая среда и здоровье населения Алтайского края: Материалы научных исследований. Барнаул, 1993. Т. 2. С. 80–103.

341. Тушкова Г.И., Кириллов В.В. Качество питьевой воды как элемент рекреационного потенциала территории бассейна Верхней Оби // Значение рекреационных ресурсов Алтайского края для сибирского региона: Мат. науч.-практ. конф. Барнаул, 1999. С. 47–50.

342. Тушкова Г.И., Кириллова Т.В., Романова Н.С., Ким Г.В. Применение методов биотестирования для оценки качества источников питьевого водоснабжения в бассейне Верхней Оби // Проблемы устойчивого развития общества и эволюция жизненных сил населения Сибири на рубеже XX–XXI вв.: Мат. междунар. конф. Барнаул, 1998. С. 219–222.

343. Тушкова Г.И., Печургин Н.С. Анализ возрастной структуры дрожжевой популяции // Анализ динамики роста биологических объектов. М., 1978. С. 28–37.

344. Унифицированные методы анализа вод / Под общ. ред. Ю.Ю. Лурье. М., 1973. 376 с.

345. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч. 3: Методы биологического анализа вод: Атлас сапробных организмов. М., 1977. 227 с.

346. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч.3: Методы биологического анализа вод. Совещание руководителей володохозяйственных организаций стран-членов СЭВ. М., 1976. 185 с.

347. Усенко Е.В. и др. Инфузория *Tetrachymena rugiformis* как тест-объект в токсикологических экспериментах // Экология морских и пресноводных простейших: Тез. докл. II Всесоюз. симп. протозоологов. Ярославль, 1989. С. 72.

348. Фауна аэротенков: Атлас. Л., 1984. 264 с.

349. Филенко О.Ф. Водная токсикология. М., 1988. 154 с.

350. Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Расчетная экстраполяция при ускоренном определении допустимых концентраций токсикантов для дафний // Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. хоз-ва. 1981. №32. С. 101–110.

351. Филипчук О.Д., Цаценка Л.В., Мишкова О.Н. Рясковые как фито-тесты в экологическом мониторинге: Тез. докл. Владивосток, 1996. С. 195–196.

352. Финогенова Н.П. Значение олигохет как индикатора загрязненных вод // Гидробиологические основы самоочищения вод. Л., 1976. С. 51–59.

353. Финогенова Н.П., Алимов Л.Ф. Оценка степени загрязнений вод по составу донных животных // Методы биологического анализа пресных вод. Л., 1976. С. 95–106.

354. Флеров Б.А. Экспериментальное исследование фенольного отравления рыб // Влияние фенола на гидробионтов. Л., 1973. С. 5–38.

355. Флеров Б.А. Биотестирование: терминология, задачи, перспективы // Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983. С. 13–20.

356. Флеров Б.А. Сравнительное изучение реакций избегания токсических веществ у некоторых водных животных // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л., 1979. С. 81–87.

357. Флеров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1983. 38 с.

358. Флеров Б.А., Лапкина Л.Н. Избегание растворов некоторых токсических веществ медицинской пиявкой // Биология внутренних вод: Информ. бюл. 1976. №30. С. 48–52.

359. Флеров Б.А., Тагунов В.Б. Анализ реакции избегания токсических веществ у жабронога *Streptocephalus torvicornis* (Waga) // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1978. №40. С. 68–71.

360. Фонштейн Л.М. и др. Тест-системы оценки мутагенности загрязнителей среды на *Salmonella*: Метод. указ. М., 1977.

361. Францевич Л.И., Паньков И.В. Моллюски – индикаторы загрязнения среды радионуклидами // Экология. 1995. №1. С. 57–62.

362. Фуряева А.В., Тушкова Г.И. Влияние ограничивающих рост факторов среды на изменение константы ингибирования медью у дрожжевых культур // Лимитирование и ингибирование роста микроорганизмов. Пушино, 1989б. С. 93.

363. Фуряева А.В., Тушкова Г.И. Изучение кинетики роста дрожжей в рН-стате без лимитирования и с лимитированием при многофакторном ограничении скорости роста // Лимитирование и ингибирование роста микроорганизмов. Пушино, 1989а. С. 92.

364. Хоружая Т.А. и др. Биоиндикация качества поверхностных вод в системе ОГСНК // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л., 1989. Вып. 2. С. 5–51.

365. Хоружая Т.А. и др. Биотестирование природных вод: проблемы стандартизации методов и нормирования качества воды: Тез. докл. Казань, 1996. Ч. 3. С. 87–92.

366. Худoley В.В. Индикация канцерогенных загрязнений водной среды с помощью быстрых прямых экспериментов на гидробионтах и в краткосрочных мутагенных тестах // Канцерогенные вещества во внутренних и внешних водоемах. М., 1982. С. 36–38.

367. Худoley В.В. Разработка и применение экспресс-систем биотестирования химических канцерогенных соединений на низших по-

- звоночных и бактериях: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Л., 1989. 49 с.
368. Худoley В.В., Боговский С.П. Опухоли гидробионтов и мониторинг канцерогенных загрязнений водной среды // Успехи современной биологии. 1982. №3. С. 466–472.
369. Худoley В.В., Ильинский А.П., Савядчинский Л.А. Некоторые перспективы разработки проблемы загрязнения водоемов канцерогенными веществами // Гигиена и санитария. 1980. №6. С. 19–22.
370. Худoley В.В., Плисс Г.Б. Биологическая индикация канцерогенных загрязнений гидросферы // Канцерогенные вещества в окружающей среде. М., 1979а. С. 62–64.
371. Худoley В.В., Сиренко О.А. Загрязнение гидросферы канцерогенными веществами и опухоли у рыб и моллюсков // Гидробиологический журнал. 1979б. Т. 16. №5. С. 85–90.
372. Цветков И.Л. и др. О возможности биохимического тестирования качества воды с помощью кислой фосфатазы некоторых моллюсков: Тез. докл. Казань, 1996. Ч. 3. С. 93–94.
373. Цимдинь П.А. Коловратки как биоиндикаторы сапробности // Гидробиологический журнал. 1979. Т. 15. №4. С. 63–67.
374. Цой Р.М., Пак И.В. Эффективность различных тест-систем в оценке мутагенной активности загрязненных вод // Экология. 1996. №3. С. 194–197.
375. Цыбань А.В. Бактерионейстон и бактериопланктон шельфовой области Черного моря. Киев, 1970. 272 с.
376. Цыпугина В.Г. Структурный хромосомный мутагенез в природных популяциях гидробионтов Дуная // Материалы первой международной комплексной экспедиции по изучению Дуная (март 1988): В 2-х ч. Киев, 1989. Ч. 2. С. 48–54. (Деп. в ВИНТИ 09.02.89, № 210-В 89).
377. Чеботина М.Я., Куликов Н.В. Экологические аспекты изучения миграции радионуклидов в континентальных водоемах // Экология. 1998, №4. С. 282–290.
378. Чекалова С.Н. Оценка безвредности питьевой воды на основе принципа биотестирования // Контроль качества очистки природных и сточных вод. М., 1983. С. 38–44.
379. Чернов Ю.И. Биологическое разнообразие: сущность и проблемы // Успехи современной биологии. 1991. Т. III. Вып. 4. С. 499–507.
380. Чихачев А.С., Кузина В.Ф. Мониторинг мутагенности и генотоксичности водной среды в рыбохозяйственных водоемах: Тез. докл. М., 1996. С. 456–457.
381. Шахлурзов М.М. и др. Токсичность нитритов для гидробионтов: Тез. докл. Мурманск, 1991. Ч. 2. С. 148–149.

382. Шеннон К. Работы по теории информации и кибернетики. М., 1963. 860 с.
383. Шляхтин Г.В. и др. Икра и личинки амфибий в биоиндикации токсических веществ: Тез. докл. Казань, 1996. Ч. 3. С. 100–102.
384. Экологический энциклопедический словарь / Под ред. В.И. Данилова-Данильяна и др. М., 1999. 930 с.
385. Юнчис О.Н. и др. Использование гидробионтов как тест-объектов для прогнозирования эпизоотической ситуации и оценки общей экологической обстановки на водоеме: Тез. докл. Мурманск, 1991. Ч. 2. С. 149–150.
386. Юрин В.М. Электроальгологический способ контроля загрязнения природных вод // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л., 1987. Вып. 1. С. 63–70.
387. Яковченко С.Г., Ловцкая О.В., Постнова И. С. Геоинформационная система анализа экологического состояния и качества вод в бассейнах рек Алтайского края // Проблемы устойчивого развития общества и эволюция жизненных сил населения Сибири на рубеже XX–XXI вв. Барнаул, 1998. С. 147–150.
388. Якубов Ш.А. Генетический анализ загрязненности некоторых водоемов // Экспериментальная водная токсикология. 1990. Т. 14. С. 34.
389. Acton A.B. Selective values of chromosom inversions in Chironomus // Proc. Roy. Phys. Soc. Edinburgh. 1955. V. 24. P. 10–14.
390. Barbier R. Consideration generale sur test biologiques en milieu dulcaquatigue // Tech. et Munic. 1976. Vol. 71. №6. P. 265–270.
391. Bauer H. Chromosomen und Systematik bei Chironomiden // Arch. Hydrobiol. 1945. Bd. 50. №4. S. 994–1008.
392. Bauer H. Der Aufbau der Chromosomen aus den Speicheldrüsen von Chironomus thummi Kieff // Z. Zellforsch. 1935. Bd. 23. S. 280–313.
393. Berezky M. Changes in the Structure and Nutrition Preference of the Protozoa Community in Standing Water Developed from Running Water // Acta Protozoologica. 1991. №30. P. 25–31.
394. Bioassay procedures for the ocean disposal permit program. EPA. Gulf Breeze, Florida, 1976. 80 p.
395. Blaylock B.G. Chromosomal polymorphism in irradiated natural population of Chironomus // Genetics. 1966. V. 53. P. 131–136.
396. Blaylock B.G. The production of chromosome aberration in Chironomus riparius (Diptera, Chironomidae) by tritiated water // Canad. Entomol. 1971. V. 103. P. 448–453.
397. Blaylock B.G., Trabalka J.R. Effectiveness of tritium and ²³⁹Pu in producing chromosome aberration in Chironomus riparius // International

Atomic Energy Agency: Biological and environmental effects of low level radiation. Vienna, 1976. V. 2. P. 45-50.

398. Bringman G., Kuhn R. Befunde der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna* // Z. Wasser und Abwasser. Forsch. 1977. Bd. 10. H. 5. S. 161-166.

399. Buikema A.L., Niderlehner B.R., Lairns J. Biological monitoring part IV-toxicity testing // Water Res. 1982. Vol. 16. №3. P. 239-262.

400. Calamary D.D., Galassi S., Dd Gasso R. A system of tests for the assessment of toxic effects on aquatic life an experimental preliminary approach // Ecotoxicol. and Environ. Safety. 1979. Vol. 3. №1. P. 75-89.

401. Carlson R.E. A trophic state index for lakes // Limnol. Oceanogr. 1977. V. 22. P. 361-369.

402. Corliss J.O. The ciliated Protozoa (Characterisation, Classification and Guide to the Literature). Oxford, 1979.

403. Dagani Ron. Aquatic toxicology nature gains importance // Chem. and Eng. News. 1980. Vol. 58. №26. P. 18-23.

404. Determination de L-inhibition de la mobilité *Daphnia magna* Straus (Crustacea Cladocera). Paris, 1974. 6 p.

405. Foissner W. Evaluating water quality using Protozoa and saprobity indexes // Protocols in Protozoology / Ed. J.J. Lee and A.T. Soldo. 1992. Vol. 1.

406. Goodnight C.J., Whitley L.S. Oligochetes as indicators of pollution // Proc. 15-th Int. Waste Conf., Purdue Univ. Ext., Sec. 1961. V. 106. P. 139-142.

407. Hassal A.N. A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London. London, 1850. 98 p.

408. ISO 8692. Water quality - Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*. ISO, 1989.

409. Jonson R.K. The indicator concept in freshwater biomonitoring // Chironomids: From genes to ecosystems / Ed. P. Cranston. Melbourne, 1995. P. 11-30.

410. Kenaga Eugene E. Test organisms and methods useful for early assessment of acute toxicity of chemical // Environ. Sci. and Technol. 1978. Vol. 12. P. 1322-1329.

411. Keyl H.-G. Chromosomen evolution bei *Chironomus*. I. Strukturabwandlungen an Speicheldrüsen-Chromosomen // Chromosoma. 1961. Bd. 12. S. 26-47.

412. King D.G., Ball R.C. A quantitative biological measure stream pollution // J. Water Pollution Control Federation. 1964. V. 36. №7. P. 650-653.

413. Lee David Robert, Buikema Arthur L. Molt-related sensitivity of

Daphnia pulex in toxicity testing // J. Fish Res. Board Can. 1979. V. 36. №9. P. 1129-1133.

414. Lloyd R. Toxicity testing with aquatic organisms: A framework for hazard assessment and pollution control // Papp. et proc. verb. reun. Cons. int. explor-mer. 1980. №339. P. 339-341.

415. Malz F.R. Chemische, physikalische und biologische Analysen zur Abwasseruntersuchung // Abwassertechnik. 1987. Vol. 38. №1. P. 11-13.

416. Muller H.G. Experiences with test systems using *D. magna* // Ecotoxicol. and environ. safety. 1980. V. 4. №1. P. 21-25.

417. Nagarajah N., Sophia A.I.A., Balasubrama-Manian T. Behavior of some intertidal molluscs exposed to water soluble fractions of diesel // Mar. Pollut. Bull. 1985. Vol. 16. №7. P. 267-271.

418. Page F. An illustrated key to freshwater and soil *Amoeba* with notes on cultivation and ecology. Cambridge, 1976.

419. Pantle R., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse // Gas- und Wasserfach. V. 96. №18. S. 604.

420. Pedersen B.W. On microgeographic differentiation of a chromosomal polymorphism in *Chironomus plumosus* L. from lake Tystrup-Bavelse Denmark (Diptera, Chironomidae) // Hereditas, 1986. V. 105. №2. P. 209-219.

421. Pratt J.R. Caerns J. Functional groups in the Protozoa: Roles in differing ecosystem // J. Protozool. 1985. V. 32 (3).

422. Ralloff J. Vermicomposting. A wormy approach to sludge management is under scrutiny // Sci. news. 1980. V. 117.

423. Review of EPA Red Book: Quality Criteria for Water // Bethesda Md. 1979. 313 p.

424. Ribo M.I., Kaiser K.Z. Photobacterium phosphoreum toxicity bioassay // Toxicity Assessment and Iterative Quarterly. 1987. V. 2. P. 305-323.

425. Schweyer P. Test de toxicité de effluents // Circ. informs techn. Cent. doc. sider. 1974. Vol. 31. №2. P. 2619-2623.

426. Sladeczek V. System of water quality system from biological point of view // Ergebnisse der Limnologie. Arch. Hydrobiol. 1973. V. 76. S. 218.

427. Sloff W., Canton J., Hermens I.L. Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds, 1 (SUB) acute toxicity tests // Aquat. Toxicol. 1983. V. 4. №2. P. 113-128.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши (по Окснюк и др., 1993)

А. По солевому составу
1. По степени минерализации

Показатели	Пресные воды				Солоноватые воды			Соленые воды		
	гипогалинные (гг)		олигогалинные (ог)		мезогалинные (мг)			полигалинные (пг)		ультрагалинные (уг)
	β	α	β	α	β	α	α	β	α	
Соленость г/л (%)	<0,10	0,10-0,50	0,51-0,75	0,76-1,00	1,01-5,00	5,01-18,00	18,01-30,00	30,01-40,00	>40,00	

2. По ионному составу (по О.А. Алекину)

Классы	Гидрокарбонатные (С)			Сульфатные (S)			Хлоридные (Cl)		
	Ca	Mg	Na	Ca	Mg	Na	Ca	Mg	Na
Группы	III	III	III	II	III	IV	I	III	III
Типы	I	II	III	II	III	IV	I	II	III

Продолжение Приложения 1

Б. По эколого-санитарным (трофо-сапробиологическим) показателям

Показатели	Классы качества воды									
	2 - чистая		3 - удовлетворительной чистоты		4 - загрязненная		5 - грязная		6 - грязная	
	1 - предельно чистая	2а - очень чистая	2б - вполне чистая	2в - достаточно чистая	3а - дос- таточно чистая	3б - сла- бозагряз- ненная	4а - уме- ренно за- грязная	4б - силь- но загряз- ненная	5а - весьма грязная	5б - предельно грязная
Гидрофизические										
Взвешенные вещества, мг/л	<5	5-9	10-14	15-20	21-30	31-50	51-100	101-300	>300	
Прозрачность, м	>3,00	0,75-3,00	0,55-0,70	0,45-0,50	0,35-0,40	0,25-0,30	0,15-0,20	0,05-0,10	<0,05	
Цветность по Pt-Co шкале	<10	10-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-80	81-100	>100	
Трофические										
Гидрохимические										
pH	7,0	6,5-6,9	6,1-6,4	5,9-6,0	5,7-5,8	5,5-5,6	5,3-5,4	4,0-5,2	<4,0	
NH ₄ ⁺ , мг N/л	< 0,05	7,1-7,5	7,6-7,9	8,0-8,1	8,2-8,3	8,4-8,5	8,6-8,7	8,8-9,5	>9,5	
NO ₂ ⁻ , мг N/л	0	0,05-0,10	0,11-0,20	0,21-0,30	0,31-0,50	0,51-1,00	1,01-2,50	2,51-5,00	>5,00	
NO ₃ ⁻ , мг N/л	<0,05	0,001-0,002	0,003-0,005	0,006-0,010	0,011-0,020	0,020-0,050	0,051-0,100	0,101-0,300	> 0,300	
NO ₃ ⁻ , мг N/л	<0,05	0,05-0,20	0,21-0,30	0,31-0,50	0,51-0,70	0,71-1,00	1,01-2,50	2,51-4,00	>4,00	
N _{общ} ³⁻ , мг N/л	<0,30	0,30-0,50	0,51-0,70	0,71-1,00	1,01-1,50	1,51-2,00	2,01-5,00	5,01-10,00	>10,00	
PO ₄ ³⁻ , мг P/л	< 0,005	0,005-0,015	0,016-0,030	0,031-0,050	0,051-0,100	0,101-0,200	0,201-0,300	0,301-0,600	>0,600	
P _{общ} ³⁻ , мг P/л	< 0,010	0,010-0,030	0,031-0,050	0,051-0,100	0,101-0,200	0,201-0,300	0,301-0,500	0,501-1,00	> 1,00	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
O ₂ , % насыщения	100	96-99 101-105	91-95 106-110	81-90 111-120	71-80 121-130	61-70 131-140	41-60 141-150	20-40 151-160	<20 >160
Перманганатная окисляемость, мг O ₂ /л	<2,0	2,1-4,0	4,1-6,0	6,1-8,0	8,1-10,0	10,1-15,0	15,1-20,0	20,1-25,0	>25,0
Бихроматная окисляемость, мг O ₂ /л	<8	8-12	13-18	19-25	26-30	31-40	41-60	61-80	>80
БПК ₅ , мг O ₂ /л	<0,4	0,4-0,7	0,8-1,2	1,3-1,6	1,7-2,1	2,2-4,0	4,1-7,0	7,1-10,0	>10,0
Гидробиологические									
Биомасса фитопланктона, мг/л	<0,1	0,1-0,5	0,6-1,0	1,1-2,0	2,1-5,0	5,1-10,0	10,1-50,0	50,1-100,0	>100,0
Хлорофилл «а», мкг/л	<5	5-10	11-15	16-20	21-40	41-75	76-150	151-250	>250
Валовая первичная продукция									
фитопланктона, гO ₂ /м ² *сут.	<0,5	0,5-0,9	1,0-1,5	1,6-2,0	2,1-5,0	5,1-7,5	7,6-10,0	10,1-12,0	>12,0
Индекс самоочищения, самозагрязнения, (A/R)	1,0	1,0	0,9 1,1	0,8 1,2	0,7 1,3-1,5	0,6 1,6-2,0	0,5 2,1-2,2	0,2-0,4 2,6-5,0	<0,2 >5,0
Бактериологические									
Численность бактериопланктона, млн. кл./мл	<0,3	0,3-0,5	0,6-1,5	1,6-2,5	2,6-5,0	5,1-7,0	7,1-10,0	10,1-20,0	>20,0

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Численность сапрофитных бактерий, тыс. кл./мл	<0,1	0,1-0,5	0,6-1,0	1,1-3,0	3,1-5,0	5,1-7,0	7,1-10,0	10,1-100,0	>100,0
Численность бактерий группы кишечной палочки, тыс. кл./л	<0,003	0,003-0,5	0,6-2,0	2,1-6,0	6,1-10,0	11,0-50,0	51,0-100,0	101,0-1000,0	>1000,0
Биоиндикация сапробности									
Индекс сапробности	<0,5	0,5-1,0	1,1-1,5	1,6-2,0	2,1-2,5	2,6-3,0	3,1-3,5	3,6-4,0	>4,0
Наименование зон сапробности	ксеносапробная	олигосапробная	β-мезосапробная	β-мезосапробная	α-мезосапробная	α-мезосапробная	α-мезосапробная	полисапробная	
классы	ксеносапробная	β-олиго-сапробная	α-олиго-сапробная	β-мезо-сапробная	β-мезо-сапробная	α-мезо-сапробная	α-мезо-сапробная	β-поли-сапробная	α-поли-сапробная
разряды	олиготрофная	олиготроф-олигомезотрофная	мезотрофная	мезо-трофная	эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	политрофная	гипертрофная
Категории (преобладающий тип)	олиготрофная	олиготроф-олигомезотрофная	мезотрофная	мезо-эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	политрофная	гипертрофная
классы	олиготрофная	олиготроф-олигомезотрофная	мезотрофная	мезо-эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	политрофная	гипертрофная
разряды	олиготрофная	олиготроф-олигомезотрофная	мезотрофная	мезо-эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	эвтрофная	политрофная	гипертрофная

В. По эколого-токсикологическим показателям
1. По содержанию токсических веществ, мкг/л

Токсические вещества	Уровни (классы) токсического загрязнения воды (УТЗ)									
	I – незагрязненная	II – слабо загрязненная	III – умеренно загрязненная	IV – сильно загрязненная	V – весьма загрязненная	VI – предельно грязная				
	Классы качества воды									
	3 – удовлетворительной чистоты		4 – загрязненная		5 – грязная					
3а – достаточно чистая		4а – слабо загрязненная		4б – сильно загрязненная		5а – весьма грязная		5б – предельно грязная		
Разряды качества воды										
Неорганические										
Ртуть	<0,1	0,1-0,5	0,6-1,0	1,1-2,5	2,6-5,0	>5,0				
Кадмий	<0,1	0,1-0,5	0,6-1,0	1,1-2,5	2,6-5,0	>5,0				
Медь	<1	1-5	6-10	11-25	26-50	>50				
Цинк	<5	5-10	11-30	31-75	76-150	>150				
Свинец	<2	2-5	6-10	11-25	26-50	>50				
Хром (общ.)	<2	2-5	6-10	11-25	26-50	>50				
Никель	<2	2-10	11-20	21-50	51-100	>100				
Мышьяк	<0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-5,0	5,1-10,0	>10,0				
Сурьма	<0,1	0,1-0,5	0,6-1,0	1,1-2,5	2,6-5,0	>5,0				
Железо	<50	50-500	501-1000	1001-2500	2501-5000	>5000				
Марганец	<50	50-250	251-500	501-1250	1251-2500	>2500				
Кобальт	<1	1-5	6-10	11-25	26-50	>50				
Фториды	<100	100-200	201-500	501-1000	1001-3000	>3000				
Цианиды	0	0	<10	10-25	26-50	>50				

1	2	3	4	5	6	7
Органические						
Нефть и нефтепродукты	0	<5	5-50	51-100	101-500	>500
Фенолы (летучие)	0	следы	<1	1-10	11-50	>50
СПАВ	0	<50	50-100	101-250	251-500	>500
Хлорорганические пестициды	0	0	0	0	<0,001	>0,01
Фосфорорганические пестициды	0	0	<3	3-10	11-20	>20

2. По уровню токсичности (на основании результатов биотестирования на дафниях, церидафниях) *Продолжение Приложения 1*

Критерии токсичности	Уровни (классы) токсичности воды				
	Зона нетоксичных и слаботоксичных вод (природные воды)		Зона токсичных вод		
	I — нетоксичная	II — слаботоксичная (хронотоксичная)	III — остротоксичная	IV — высокотоксичная	V — чрезвычайно токсичная
	Классы качества воды				
	1 — предельно чистая	2 — чистая	3 — удовлетворительной	4 — загрязненная	5 — грязная
	Разряды качества воды				
	1а — предельно чистая	2а — очень чистая	2б — вполне чистая	3а — достаточно чистая	3б — умеренно загрязненная
	3в — полностью чистая	4а — умеренно загрязненная	4б — сильно загрязненная	4в — очень сильно загрязненная	5а — весьма грязная
Острый токсический эффект	Отсутствие смертности менее 10% в 48-часовом опыте				
Поведенческие реакции	Не нарушены				
Хронический токсический эффект	Отсутствие в 30-суточном опыте (в острой или отфильтрованной воде)				

* Биотестирование возможно без контроля.

Г. По радиоэкологическим показателям (по содержанию радионуклидов — Кю/л) *Продолжение Приложения 1*

Радионуклиды	Уровни (классы) радиоактивного загрязнения воды (УРЗ)					
	I — незагрязненная		II — умеренно загрязненная		III — сильно загрязненная	
	IV — слабо загрязненная	V — весьма загрязненная	VI — предельно грязная			
	Классы качества воды					
	3 — удовлетворительной чистоты		4 — загрязненная			
	Разряды качества воды					
	3а — достаточно чистая		4а — умеренно загрязненная		5а — весьма грязная	
	5а — весьма грязная		5б — предельно грязная			
Ведущие						
⁹⁰ Sr	<6,2·10 ⁻⁸	6,2·10 ⁻¹³ — 3,0·10 ^{-12,3}	1,1·10 ⁻¹² — 4,0·10 ⁻¹¹	(4,1-8,9)·10 ⁻¹¹	9,0·10 ⁻¹¹ — 4,0·10 ⁻¹⁰	>4,0·10 ⁻¹⁰
¹³⁷ Cs	<1,2·10 ⁻⁸	1,2·10 ⁻¹³ — 5,0·10 ^{-12,5}	1,1·10 ⁻¹³ — 1,5·10 ⁻¹⁰	1,6·10 ⁻¹⁰ — 1,5·10 ⁻⁹	1,6·10 ⁻⁹ — 1,5·10 ⁻⁸	>1,5·10 ⁻⁸
Коррозионные						
⁵¹ Cr	0	<4,0·10 ⁻¹⁰	4,0·10 ⁻¹⁰ — 1,5·10 ⁻⁷	(1,6-3,3)·10 ⁻⁷	3,4·10 ⁻⁷ — 1,5·10 ⁻⁶	>1,5·10 ⁻⁶
⁵⁴ Mn	0	<4,0·10 ⁻¹⁰	4,0·10 ⁻¹⁰ — 1,2·10 ⁻⁸	(1,3-2,7)·10 ⁻⁸	3,8·10 ⁻⁸ — 1,2·10 ⁻⁷	>1,2·10 ⁻⁷
Коррозионные						
⁵⁵ Fe	0	<5,0·10 ⁻¹⁰	5,0·10 ⁻¹⁰ — 1,6·10 ⁻⁸	(1,7-2,9)·10 ⁻⁸	3,0·10 ⁻⁸ — 1,0·10 ⁻⁷	>1,0·10 ⁻⁷
⁵⁹ Fe	0	<3,0·10 ⁻¹¹	3,0·10 ⁻¹¹ — 1,1·10 ⁻⁹	(1,2-7,1)·10 ⁻⁹	7,2·10 ⁻⁹ — 5,3·10 ⁻⁸	>5,3·10 ⁻⁸
⁵⁸ Co	0	<3,0·10 ⁻⁹	3,0·10 ⁻⁹ — 9,0·10 ⁻⁸	(1,2-7,1)·10 ⁻⁹	7,2·10 ⁻⁹ — 5,3·10 ⁻⁸	>9,0·10 ⁻⁸
⁶⁰ Co	0	<1,0·10 ⁻¹¹	1,0·10 ⁻¹¹ — 3,5·10 ^{-10,3}	3,6·10 ⁻¹⁰ — 4,3·10 ⁻⁹	4,3·10 ⁻⁹ — 3,5·10 ⁻⁸	>3,5·10 ⁻⁸
⁶⁵ Zn	0	<3,0·10 ⁻¹¹	3,0·10 ⁻¹¹ — 1,0·10 ⁻⁹	1,1·10 ⁻⁹ — 1,2·10 ⁻⁸	1,3·10 ⁻⁸ — 1,0·10 ⁻⁷	>1,0·10 ⁻⁷
Осколки деления						
⁸⁹ Sr	0	<1,0·10 ⁻¹⁰	1,0·10 ⁻¹⁰ — 1,2·10 ⁻⁹	(1,3-2,7)·10 ⁻⁹	2,8·10 ⁻⁹ — 1,2·10 ⁻⁸	>1,2·10 ⁻⁸
⁹⁵ Zn	0	<2,0·10 ⁻¹⁰	2,0·10 ⁻¹⁰ — 6,2·10 ⁻⁹	6,3·10 ⁻⁹ — 1,4·10 ⁻⁸	(1,5-6,2)·10 ⁻⁸	>6,2·10 ⁻⁸
⁹⁵ Nb	0	<3,0·10 ⁻¹⁰	3,0·10 ⁻¹⁰ — 9,6·10 ⁻⁹	9,7·10 ⁻⁹ — 2,1·10 ⁻⁸	(2,2-9,6)·10 ⁻⁸	>9,6·10 ⁻⁸
¹⁰³ Ru	0	<3,0·10 ⁻⁹	3,0·10 ⁻⁹ — 8,0·10 ⁻⁸	(3,1-5,8)·10 ⁻⁹	5,9·10 ⁻⁹ — 2,2·10 ⁻⁸	>2,2·10 ⁻⁸
¹⁰⁶ Ru	0	<4,0·10 ⁻¹⁰	4,0·10 ⁻¹⁰ — 1,2·10 ⁻⁸	(1,2-7,1)·10 ⁻⁹	7,2·10 ⁻⁹ — 5,3·10 ⁻⁸	>5,3·10 ⁻⁸
¹²⁵ Sb	0	<3,0·10 ⁻¹⁰	3,0·10 ⁻¹⁰ — 3,0·10 ⁻⁹	(3,1-5,8)·10 ⁻⁹	5,9·10 ⁻⁹ — 2,2·10 ⁻⁸	>2,2·10 ⁻⁸
¹³¹ I	0	<7,0·10 ⁻¹¹	7,0·10 ⁻¹¹ — 1,0·10 ⁻⁹	(3,1-5,8)·10 ⁻⁹	5,9·10 ⁻⁹ — 2,2·10 ⁻⁸	>2,2·10 ⁻⁸
¹³⁴ Cs	0	<3,0·10 ⁻¹²	3,0·10 ⁻¹² — 1,7·10 ⁻¹⁰	(1,2-7,1)·10 ⁻¹⁰	7,2·10 ⁻¹⁰ — 5,3·10 ⁻⁹	>5,3·10 ⁻⁹
¹⁴¹ Ce	0	<3,0·10 ⁻¹⁰	3,0·10 ⁻¹⁰ — 8,8·10 ⁻⁹	8,8·10 ⁻⁹ — 2,0·10 ⁻⁸	(2,1-8,8)·10 ⁻⁸	>8,8·10 ⁻⁸
¹⁴⁴ Ce	0	<4,0·10 ⁻¹⁰	4,0·10 ⁻¹⁰ — 1,2·10 ⁻⁸	(1,3-2,7)·10 ⁻⁸	2,8·10 ⁻⁸ — 1,2·10 ⁻⁷	>1,2·10 ⁻⁷

Класс качества вод	Степень загрязненности воды	Гидробиологические показатели			Микробиологические показатели		
		индекс сапробности	по зообентосу		общее количество бактерий, тыс. кл./мл	количество сапрофитных бактерий, тыс. кл./мл	отношение общего количества бактерий к количеству сапрофитных бактерий
			олигохетный индекс Гуд-наита и Уитгея	биотический индекс Вудивисса			
I	Очень чистые	<1,00	1 - 20	10	<0,5	<0,5	<10 ³
II	Чистые	1,00-1,50	21 - 35	7 - 9	0,5 - 1,0	0,5 - 5,0	>10 ³
III	Умеренно загрязненные	1,51-2,50	36 - 50	5 - 6	1,1 - 3,0	5,1 - 10,0	10 ³ - 10 ²
IV	Загрязненные	2,51-3,50	51 - 65	4	3,1 - 5,0	10,1 - 50,0	<10 ²
V	Грязные	3,51-4,00	66 - 85	2 - 3	5,1 - 10,0	50,1 - 100,0	<10 ²
VI	Очень грязные	>4,00	86 - 100 или макрозообен- тос отсутствует	0 - 1	>10,0	>100,0	<10 ²

Приложение 3
Список видов-индикаторов сапробности водоемов и водотоков Алтайского края

CYANOPHYTA

Anabaena flos-aquae (Lyngb.) Breb. - b (M)
Aphanizomenon flos-aquae Ralfs - b (M)
Microcystis flos-aquae (Wittr.) Kirchn. - b (M)
Oscillatoria agardhii Gom. - b (M)

CHRYSOPHYTA

Dinobryon bavaricum Ehr. - o (M)
Synura spinosa Ehr. - b-o (M)
Bacillariophyta
Diatoma elongatum (Lyngb.) Ag. - o-b (M)

Fragilaria capucina Desm. - o-b (M)
Melosira granulata (Egr.) Ralfs - b (M)

PYRRHOPHYTA

Ceratium hirundinella (O.F.M.) Begh. - o (M)

CHLOROPHYTA

Pediastrum boryanum (Turp.) Menegh. - b (M)
Scenedesmus quadricauda (Turp.) Breb. - b (M)

BRYOPHYTA

Riccia fluitans (L.) All. - o (K)
Sphagnum sp. - o (K)
Lycopodiophyta

Isoetes lacustris L. - x (K)

EQUISETOPHYTA

Equisetum fluviatile L. - o (K)

Polypodiophyta

Salvinia natans L. - o (K)

ANTHOPHYTA

Acorus calamus L. - o (K)
Ceratophyllum demersum L. - b (K)
Hydrocharis morsus-ranae L. (K)

Lemna minor L. - o (K)

Lemna trisulka L. - o-b (K)

Myriophyllum spicatum L. - b (K)

Nuphar lutea (L.) Smith - b-o (K)

Polygonum amphibium L. - b (K)

Potamogeton crispus L. - b (K)

Potamogeton gramineus L. - b (K)

Potamogeton lucens L. - b-o (K)

Potamogeton perfoliatus L. - b (K)

Sagittaria sagittifolia L. - o-b (K)

Spirodela polyrrhiza (L.) Schleid - b (K)

Utricularia vulgaris L. - b (K)

CILIOPHORA

KINETOPHAGMINOPHORA

Chilodonella inflata Stokes - a-p (F)

Chilodonella uncinata Ehrenberg - a (F)

Coleps hirtus Nitzsch - b-a (F)

Colpoda cucullus O.F.Muller - p-a (F)

Didinium nasatum O.F.Muller - b-a (F)

Dileptus gigas Claparede et Lachmann - a (F)

Enchelys gasterosteus Kahl - b-a (F)

Lacrymaria pupula O.F.Muller - b (F)

Litonotus carinatus Stokes - b-a (F)

Litonotus cygnus O.F.Muller - b (F)

Litonotus lamella Schewiakoff - a (F)

Loxodes magnus Stokes - p (F)

Loxodes rostrum O.F.Muller - a-b (F)

Paradileptus elephantinus Svec - b (F)

Phascolodon vorticella Stein - b-a (F)

OLIGOHYMENOPHORA

Charchesium polypinum Linnaeus - a (F)

Colpidium colpoda Ehrenberg - p-a (F)

Colpidium compyllum Stokes - p (F)

Cyclidium glaucoma O.F.Muller - a (F)

Frontonia acuminata Ehrenberg - o (F)

Frontonia leucas Ehrenberg - o-p (F)

Paramecium caudatum Ehrenberg - a (F)

Pleuronema coronatum Kent - b (F)
 Tetrachymena pyriformis Ehrenberg - a (F)
 Urocentrum turbo O.F.Muller - b (F)
 Vorticella companula Ehrenberg - b-a (F)
 Vorticella convallaria Linnaeus - a (F)
 Vorticella mayeri Faure-Fremiet - b (F)
POLYHYMENOPHORA
 Aspidisca costata Dujardin - b-a (F)
 Bursaria truncatella O.F.Muller - b-a (F)
 Bursaridium pseudobursaria Faure-Fr. - o-b (F)
 Codonella cratera Leidy - b-a (F)
 Euplotes affinis Dujardin - a (F)
 Euplotes patella O.F.Muller - b (F)
 Halteria grandinella Dujardin - b-a (F)
 Metopus sp. - p (F)
 Oxytricha fallax Stein - a (F)
 Paruroleptus musculus Kahl - a (F)
 Paruroleptus piscis Kowalewski - a (F)
 Spirostomum minus Roux - a-b (F)
 Spirostomum teres Claparede et Lacham. - p (F)
 Stentor polymorphus O.F.Muller - b-a (F)
 Stentor roeseli Ehrenberg - b-a (F)
 Strombidium viride Stein - b (F)
 Stylonychia mytilus Ehrenberg - a (F)
 Tachysoma pellionellum O.F.Muller - b-a (F)
 Tintinnidium fluviatile Stein - o-b (F)
 Tintinnopsis cylindrata Kofoid Campbell - b (F)
 Uroleptus rattulus Stein - b (F)
 Urostyle grandis Ehrenberg - a (F)
SPONGIA
 Spongilla lacustris L. - b (M)
COELENTERATA
 Chlorohydra viridissima Pall. - o (Ж)
NEMATHELMINTHES
ROTIFERA
 Asplanchna priodonta Gosse - o-b (M)
 Brachionus angularis Gosse - b-a (M)
 Brachionus calyciflorus Pallas - b-a (M)

Brachionus diversicornis Daday - b-a (M)
 Brachionus rubens Ehr. - a (M)
 Brachionus urceus L. - b (M)
 Conochilus unicornis Pousselet - o (M)
 Epiphanes senta O.F.M. - a (M)
 Euchlanis dilatata Ehrb. - o-b (M)
 Filinia longisetia Ehr. - b-a (M)
 Hexarthra oxyurie Zernov - b (M)
 Kellicottia longispina Kellicott - o (M)
 Keratella cochlearis Gosse - b-o (M)
 Keratella quadrata O. F. M. - b-o (M)
 Lecane lunaris Ehr. - o-b (M)
 Notommata copens Ehr. - b (B)
 Platyias quadricornis Ehrb. - b (B)
 Polyarthra vulgaris Carlin - b (M)
 Synchaeta pectinata Ehr. - b-o (M)
NEMATOMORPHA
 Gordius aquaticus Duj. - o (Ж)
ANNELIDA
OLIGOCHAETA
 Limnodrilus claparedianus Ratzel - b (И)
 Limnodrilus hoffmeisteri Clap. - p-a (M)
 Limnodrilus udekemeianus Clap. - a (M)
 Lumbriculus variegatus Mull. - a (M)
 Tubifex tubifex O. F. M. - p (M)
HIRUDINEA
 Erpobdella octoculata L. - a (M)
 Haemopsis sanguisuga L. - b (M)
 Glossosiphoniacomplanata L. - b-a (M)
BRYOZOA
 Plumatella fungosa Pall. - b (M)
 Plumatella repens L. - b (M)
MOLLUSCA
 Bithynia tentaculata L. - b (M)
 Bythinella austriaca Frauenf. - x (M)
 Lymnaea auricularia L. - b (M)
 Lymnaea intermedia Lamarck - b (Б)
 Lymnaea ovata Draparnaud - b (M)
 Lymnaea lagotis Schrank - b (Б)
 Lymnaea palustris Muller - b (M)
 Lymnaea stagnalis L. - b (M)
 Planorbis corneus L. - b (M)
 Planorbis planorbis L. - b (M)

Sphaerium corneum L. - a-b (M)
CRUSTACEA
CLADOCERA
 Bosmina coregoni Baird - o-b (M)
 Bosmina longirostris O. F. M. - o-b (M)
 Ceriodaphnia quadrangula O. F. M. - o (M)
 Chydorus sphaericus O. F. M. - o-b (M)
 Daphnia cucullata Sars - b (M)
 Daphnia hyalina Leydig - b (M)
 Daphnia longispina O. F. M. - b (M)
 Daphnia magna Straus - a-p (M)
 Daphnia pulex De Geer - a (M)
 Diaphanosoma brachyurum Lievin - o-b (M)
 Leptodora kindtii Focke - b-o (M)
 Polyphemus pediculus Linne - o (M)
 Sida crystallina O. F. M. - o (M)
COPEPODA
 Eudiaptomus gracilis Lill. - o (M)
 Mesocyclops leuckarti Claus - o (M)
 Mesocyclops oithonoides Sars. - o (M)
 Paracyclops fimbriatus Fisch. - b (M)
MALACOSTRACA
 Asellus aquaticus L. - a (M)
 Astacus fluviatilis Fab. - o (M)
 Gammarus pulex L. - o-b (M)
INSECTA
EPHEMEROPTERA
 Baetis rhodani Pictet - o-b (M)
 Cloen dipterum L. - b (M)
 Ephemerella ignita Poda - b-o (M)
 Potamanthus luteus L. - b (M)
TRICHOPTERA
 Anabolia laevis Lepneva - b-a (M)
 Limnephilus marmoratus Curtis - o (B)
DIPTERA
 Chaoborus crystallinus De Geer - b-a (M)

Eristalis tenax L. - p (M)
 Simulium sp. - o-b (M)
 Stratiomys chameleon L. - a (M)
 f. Chironomidae
 Chironomus acutiventris Wulker et al. - a (Б)
 Chironomus cingulatus Meig. - p-a (Б)
 Chironomus f. l. plumosus - p (T)
 Chironomus f. l. semireductus - b-a (T)
 Cricotopus algarum Kief. b-o (T)
 Cricotopus bicinctus Meig. - b-o (T)
 Cricotopus silvestris Fabr. - o-b (T)
 Cryptochironomus gr. defectus - b (T)
 Glyptotendipes barbipes Staeger - p (B)
 Glyptotendipes glaucus Meig. - b (T)
 Paratrichocladius inaequalis Kief. - o-b (И, H)
 Polypedilum nubeculosum Meig. - b (T)
 Polypedilum scalaenum Schrank - b (T)
 Tanypus punctipennis Meig. - b-a (T)
PISCES
 Abramis brama L. - b (M)
 Acipenser ruthenus L. - o (Ж)
 Carassius carassius L. - b-a (M)
 Cottus gobio L. - x-o (M)
 Cottus poecilopus Heckel - x (M)
 Esox luceus L. - b (M)
 Barbatula [Nemachilus] toni Dybowski - b (M)
 Perca fluviatilis L. - b (M)
 Phoxinus phoxinus L. - o (M)
 Rutilus rutilus L. - b (M)
 Salmo trutta m. fario L. - x-o (M)
 Stizostedion [Lucioperca] lucioperca L. - o-b (M)
 Tinca tinca L. - b-a (M)

Примечания: x - ксеносапроб, o - олигосапроб, b - б-мезосапроб, a - а-мезосапроб, p - полисапроб. В скобках: Б - (Безматерных, Мисейко, 1997), Г - (Голубева, 1985), Ж - (Жадин, Родина, 1950), И - (Извекова, Кузьминых., Николаев, 1996), К - (Кокин, 1982), М - (Макрушин, 1974), Н - (Недоступ, 1988), П - (Попченко, 1994), Т - (Тодераш, 1984), F - (Foissner, 1992), X - (Водоёмы Алтайского края, 1999).

Л.А.И.К.Т.О.Н. П.О.

Приложение 4
Список видов-индикаторов сапробности зообентоса
и зооперифитона

SPONGIA
Ephidatia mulleri Lieberkuhn - b (M)
Ephidatia fluviatilis L. - b (M)
Spongilla lacustris L. - b (M)
Spongilla fragilis Leidy - b (M)
COELENTERATA
Chlorohydra viridissima Pall. - o (Ж)
Cordylophora lacustris Allm. - o (Ж)
Hydra vulgaris Pall. - o (Ж)
Pelmatohydra oligactis Pall. - b-o (M)
TURBELLARIA
Crenobia alpina Dana - x (M)
Dendrocoelum lacteum O. F. M. - b (M)
Planaria gonocephala Duges - x-o (M)
Polycelis cornuta Jonson - x (M)
Polycelis tenuis Ijima - b (Ж)
GASTROTRICHA
Dasydytes saititans Stok. - b (Ж)
Ichthyidium podura Mull. - o (Ж)
NEMATOMORPHA
Gordius aquaticus Duj. - o (Ж)
OLIGOCHAETA
Aeolosoma hemprichi Ehrbg. - b (M)
Alexandrovina onegensis Hrabe - o (II)
Aulodrilus limnobius Bretscher - b (II)
Aulodrilus plurisetia Piguet - b (II)
Aulophorus furcatus Mull. - b (M)
Chaetogaster diaphanus Gruith. - o-b (M)
Chaetogaster dystrophus Gruith. - o-b (M), a (II)
Chaetogaster limnei Baer - b (II)
Criodrilus lacuum Moq.-Tand. - b (M)
Dero digitata O.F.M. - a (II)
Dero limosa Leidy - a (M)
Dero obtusa d'Udekem - a-b (M)
Enchytraeus albidus Henle - a (II)
Haplotaxis gordioides Hartm. - o (M)
Isochaetides newaensis Michaelsen - o (II)
Lamprodrilus achaetus Isossimoff - o (II)
Lamprodrilus isoporus Michaelsen - b (II)
Limnodrilus claparedianus Ratzel - b (II)
Limnodrilus hoffmeisteri Clap. - p-a (M), a (II)
Limnodrilus udekemeanus Clap. - a (M), b (II)
Lumbriculus variegatus Mull. - a (M), b (II)
Nais alpina Michaelsen - o (II)
Nais barbata O.F.M. - a (II)
Nais behninge Michaelsen - o (II)
Nais bretscheri Michaelsen - o (II)
Nais communis Piguet - p (M), a (II)
Nais elinguis O.F.M. - o (II)
Nais pseudobtusa Piguet - a (M), o (II)
Nais simplex Piguet - o (II)
Piguetiella blanci Piguet - b (II)
Potamothrix hammoniensi Michaelsen - a (II)
Profundicola [Limnodrilus] helveticus Piguet - b (II)
Propappus volki Michelsen - b (II)
Psammoryctides albicola Michaelsen - b (II)
Psammoryctides barbatus Grube - b (II)
Rhynchemis limosella Hoffmeister - b (II)
Rhynchemis vagensis Hr. - x-o (M)
Stylaria lacustris L. - b (M), o (II)
Stylodrilus heringianus Clap. - b-o (M), o (II)
Stylodrilus parvus Hrabe et Cernosvitov - o (II)
Tatriella slovenica Hrabe - o (II)
Tubifex tubifex O. F. M. - p (M)
Uncinaxis uncinata Oersted - b (II)

Vejdovskyella comata Vejdovsky - b (II)
HIRUDINEA
Erpobdella octoculata L. - a (M)
Haemopsis sanguisuga L. - b (M)
Glossosiphonia complanata L. - b-a (M)
BRYOZOA
Cristatella mucedo Cuvier - o (M)
Fridericella sultana Gerv. - o (Ж)
Paludicella ehrenbergi v. Ben. - o (Ж)
Plumatella fungosa Pall. - b (M)
Plumatella repens L. - b (M)
MOLLUSCA
GASTROPODA
Acroloxus lacustris L. - b (M)
Ancylus fluviatilis O.F.M. - o-b (M)
Bithynia tentaculata L. - b (M)
Bithynella austriaca Frauent. - x (M)
Lymnaea auricularia L. - b (M)
Lymnaea intermedia Lamarck - b (B)
Lymnaea lagotis Schrank - b (B)
Lymnaea ovata Draparnaud - b (M)
Lymnaea palustris Muller - b (M)
Lymnaea stagnalis L. - b (M)
Physa acuta Drap. - a (M)
Physa fontinalis L. - b (M)
Planorbis corneus L. - b (M)
Planorbis planorbis L. - b (M)
Theodoxus fluviatilis L. - b (M)
Valvata piscinalis O.F.M. - b (M)
Viviparus viviparus L. - b (M)
BIVALVIA
Anodonta cygnea L. - b (B)
Dreissena polymorpha Pall. - b-o (M)
Margaritifera margaritifera L. - o (M)
Pisidium supinum A. Schm. - o (Ж)
Pseudanodonta complanata Rossmass. - a-b (H)
Sphaerium corneum L. - a-b (M)
Sphaerium rivicola L. - a (M)
Sphaerium solidum Norm. - o (Ж)
Unio crassus Philipson - b (M)
Unio pictorum L. - b-o (M), a-b (H)
Unio tumidus Philipson - b (M)
TARDIGRADA
Macrobotus macronyx Duj. - o (Ж)
CRUSTACEA
Asellus aquaticus L. - a (M)
Asterocaris fluviatilis Fab. - o (M)
Carinogammarus roeselii Gervais - b (M)
Gammarus fluviatilis Ros. - x (M)
Gammarus pulex L. - b (Ж), o-x (M)
Gammarus tatei Karam. - x (M)
ARACHNIDA
Feltria minuta Koen. - x (M)
Hydrobates fluviatilis Strom. - b-o (M)
Hydrobates foreli Lebert - x (M)
Hydrobates nigromaculatus Lebert - o (Ж)
Hydrachna globosa de Geer - b (Ж)
Lebertia rivalis Koen. - b (M)
Limnesia maculata Mull. - b (Ж)
Neumaniaspinipes Mull. - o (Ж)
Piona nodata Mull. - o (Ж)
Sperchom brevis Koen. - x-o (M)
Unionicola crassipes Mull. - o (Ж)
INSECTA
EPHEMEROPTERA
Ameletus inopinatus Etn. - x (M)
Baetis alpinus Pict. - x (M)
Baetis bioculatus L. - b (M)
Baetis gemellus - x (M)
Baetis pumilus Burm. - o-b (M)
Baetis rhodani Pictet - o-b (M)
Baetis scambus Eth. - o-b (M)
Baetis tenax Eth. - o-b (M)
Baetis vernus Curt. - b (M)
Chironomus krieghoffii Ulm. - x-o (M)
Chironomus picteti Eat. - b (M)
Cloen dipterum L. - b (M)
Ecdyonurus fluminis Pictet - o (M)
Ecdyonurus forcipula Koll.-Rict. - b-o (M)
Ecdyonurus insignis Eth. - b (M)
Ecdyonurus venosus Fabr. - o (M)
Epeorus assimilis Eth. - x-o (M)
Ephemera vulgata L. - b (M), o (Ж)
Ephemera ignita Poda - b-o (M)
Habroleptoides modesta Hag. - o (M)
Habrophlebia lauta Eth. - b (M)
Heptagenia coerulans Rost. - b (M)
Heptagenia lateralis Curt. - b-o (M)

Heptagenia sulphurea Mull. - b (M)
 Oligoneuriella rhenana Imn. - b (M)
 Polymitarcis virgo L. - b (M), o (Ж)
 Potamanthus luteus L. - b (M)
 Rhithrogena aurantiaca Burm. - o-x (M)
 Rhithrogena semicolorata Curtis - x (M)
 Torleya belgica Lest. - o-b (M)
PLECOPTERA
 Amphinemura borealis Mort. - x (M)
 Amphinemura sulcicollis Steph. - o (M)
 Amphinemura triangularis Ris. - o (M)
 Arcynopteryx compacta McLachnan - x (M)
 Brachyptera risi Mort. - x-o (M)
 Capnia bifrons Newm. - o (M)
 Chloroperla torrentium Pict. - o-x (M)
 Dinoceras cephalotes Curt. - x (M)
 Diura bicaudata L. - x (M)
 Ecdyonurus venosus F. - b-a (H)
 Isogenus nubecula Newm. - b-o (M)
 Isoperla difformis Klap. - o-b (M)
 Isoperla grammatica Poda - b (M)
 Isoperla rivulorum Pict. - x (M)
 Leuctra albida Kny. - o-b (M)
 Leuctra aurita Navas. - o-b (M)
 Leuctra braueri Kny. - o (M)
 Leuctra fusca L. - b (M)
 Leuctrahi ppopus Kny. - x (M)
 Leuctra inermis Kny. - o-x (M)
 Leuctra major Brk. - b-o (M)
 Leuctra nigra (Oliv.) Kny. - o-b (M)
 Leuctra prima Kny. - x-o (M)
 Leuctra rosinae Kemp. - x (M)
 Nemura avicularis Mort. - o (M)
 Nemura cambrica Steph. - o (M)
 Nemura cinerea Retius - b-o (M)
 Nemura marginata Ris. - o (M)
 Nemura variegata Oliv. - o (Ж)
 Nemurella picteti Klap. - x (M)
 Perla burmeisteriana Claas - o-b (M)
 Perla marginata Panz. - o-x (M)
 Perla sp. - o (M)
 Perloides microcephala Pict. - o (M)
 Protonemura nimborella Mosely - x (M)
 Protonemura nitida Ris. - o-b (M)
 Protonemura praecox Mort. - o (M)

Taeniopteryx hubaulti Auber. - x (M)
 Taeniopteryx nebulosa L. - o-b (M)
ODONATA
 Aeschna grandis L. - o (Ж)
 Coenagrion puella L. - o (Ж)
HEMIPTERA
 Aphelochirus aestivalis Fabr. - o (Ж)
 Velia currens F. - a (Ж)
COLEOPTERA
 Helmis maugaei Bed. - o (M)
 Latelmis sp. - o (M)
MEGALOPTERA
 Sialis lutaria L. - a (Ж)
TRICHOPTERA
 Agapetus fuscipes Curtis - x (M)
 Anabolia laevis (Zett.) Lepneva - b-a (M)
 Apatania fimbriata Pict. - x (M)
 Apatania muliebris McLachnan - o (M)
 Brachycentrus montanus Klap. - x (M)
 Drusus discolor Ramb. - x-o (M)
 Glossoma boltoni Curt. - o (M)
 Goera pilosa Fabr. - o (M)
 Grammotaulius nitidus Mull. - o (M)
 Halesus digitatus Schr. - o (M)
 Hydropsyche ornatula L. - b-a (M)
 Hydropsyche sp. div. - b (M)
 Lepidostoma hirtum Fabr. - b (M)
 Leptocerus fulvus Ramb. - o (M)
 Leptocerus annulicornis Steph. - o (Ж)
 Limnephilus flavicornis Fabr. - o (M)
 Limnephilus marmoratus Curtis - o (B)
 Limnephilus rhombicus L. - o (M)
 Mesophylax impunctatus McLachnan - o (M)
 Metanoea flavipennis Pict. - x (M)
 Micrasema minimum McLachnan - x-o (M)
 Molanna angustata Curtis - o (M)
 Neureclipsis bimaculata L. - o-b (M)
 Notidobia ciliaris L. - o-b (M)
 Odontocerus abvicorne Scop. - x (M)
 Philopotamus ludificatus McLachnan - o-x (M)
 Philopotamus montanus Donovan - x (M)

Phryganea grandis L. - o (M)
 Phryganea minor Curtis - o (M)
 Phryganea striata L. - o (M)
 Polycentropus flavomaculatus Pict. - b-o (M)
 Rhyacophila nubila Zett. - o-b (M), o (Ж)
 Rhyacophila septentrionalis McLachnan - o-b (M)
 Rhyacophila vulgaris Pict. - o (M)
 Sericostoma pedemontanum McLachnan - o-x (M)
 Setodes tineiformis Curtis - o (M)
 Silo nigricornis Pict. - x (M)
 Silo pallipes Fabr. - o (M)
DIPTERA
 Atherix idis Mg. - o (M)
 Chaoborus crystallinus De Geer - b-a (M)
 Culex annulatus Fabr. - b (Ж)
 Eristalis tenax L. - p (M)
 Psychoda sp. - a (Ж)
 Ptychoptera [Liriope] sp. - a (Ж)
 Simulium hirtepes Fries - x (M)
 Simulium ornatum Meig. - b-a (Ж)
 Simulium reptans L. - b-a (Ж)
 Simulium sp. div. - o-b (M)
 Stratiomyia chameleon L. - a (M)
 f. Chironomidae
 Ablabesmyia sp. - b-a (И)
 Apsectrotanypus trifascipennis Zet. - o-b (T)
 Brillia longifurca Kief. - o-b (T), b (И)
 Brillia modesta Meig. - o-b (T), b (И)
 Chironomus acutiventris Wulker et al. - a (B)
 Chironomus anthracinus Zett. - a (И)
 Chironomus cingulatus Meig. - p-a (B)
 Chironomus gr. plumosus - p (T)
 Chironomus gr. semireductus - b-a (T)
 Chironomus gr. thummi - p (T)
 Chironomus piger Str. - p (И)
 Cladotanytarsus gr. mancus - o-b (T)
 Clinotanytarsus nervosus Meig. - b-a (H)
 Conchapelopia melanops Meig. - o-b (T)

Cricotopus algarum Kief. - b-o (Г)
 Cricotopus bicinctus Meig. - b-o (Г)
 Cricotopus bififormis Edw. - x (T)
 Cricotopus latidentatus Tschern. - b-o (Г)
 Cricotopus silvestris Fabr. - o-b (T)
 Cryptochironomus gr. defectus - b (T)
 Diamesa insignipes Kief. - b (T)
 Diamesa thienemanni Kief. - o-b (T)
 Eukiefferiella alpestris Goet. - o (T)
 Eukiefferiella bavarica Goet. - b-o (Г)
 Eukiefferiella brevicar Kief. - b-o (Г)
 Eukiefferiella clypeata Kief. - x (T)
 Eukiefferiella coerulescens Kief. - b-o (Г)
 Eukiefferiella hospita Edw. - x (T)
 Eukiefferiella longicalcar Kief. - b-o (Г)
 Eukiefferiella longipes Tschern. - b-o (Г)
 Eukiefferiella similis Zavr. - b (T)
 Glyptotendipes barbipes Staeger - p (B)
 Glyptotendipes glaucus Meig. - b (Г)
 Glyptotendipes gripekoveni Edw. - b (Г)
 Macropelopia nebulosa Meig. - b (T)
 Metriocnemus sp. - x-o (T)
 Micro[Lepto]-chironomus tener Kief. - b (T)
 Orthocladiinae gen.?1 Tshernovskiiella - o (И)
 Orthocladus rivulorum Kief. - x-o (T)
 Orthocladus thienemanni Kief. - b (T)
 Paratrachocladus inaequalis Kief. - o-b (И, H)
 Pypedilum bicrenatum Kief. - b (T)
 Pypedilum nubeculosum Meig. - b (T)
 Pypedilum scalaenum Schrank - b (T)
 Potthastia gaedii Meig. - x (T)
 Procladius choreus Meig. - b-a (И)
 Procladius sp. - b-a (T)
 Prodiamesa olivacea Meig. - b-a (T)
 Prodiamesa praecox Kieff. - b-a (M)
 Psectrotanypus varius Fabr. - b-a (T)

Rheocricotopus brunensis Goet. – b (T) Tanypus punctipennis Meig. – b-a(T)
Rheotanytarsus gr. exiguus – o-b (T) Tanytarsus gr. gregarius – o (T)
Synorthocladus semivirens Kief. – o
(T) Thienemanniella clavicornis Kief.– o
(T)

Научное издание

**Мисейко Галина Николаевна
Безматерных Дмитрий Михайлович
Тушкова Галина Иосифовна**

Биологический анализ качества пресных вод

Монография

Редактор – Н.Я. Тырышкина
Подготовка оригинал-макета – Е.В. Карпов

Изд. лиц. ЛР 020261 от 14.01.1997г.
Подписано к печати 10.07.2001. Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 11,5.
Тираж 100 экз. Заказ 262.

Примечания: х – ксеносапроб, о – олигосапроб, в – в-мезосапроб, а – а-мезосапроб, р – полисапроб. В скобках: Б – (Безматерных, Мисейко, 1997), Г – (Голубева, 1985), Ж – (Жадин, Родина, 1950), И – (Извекова, Кузьминых, Николаев, 1996), М – (Макруллин, 1974), Н – (Недоступ, 1988), П – (Попченко, 1994), Т – (Толераш, 1984).

Типография Алтайского государственного университета,
656099, Барнаул, ул. Димитрова, 66