

Министерство образования и науки Российской Федерации
Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова
Факультет биологии и экологии
Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН

Г. М. Чуйко
И. И. Томилина
Н. В. Холмогорова

**Комплексная оценка
биоэкологических
и химических систем**

Учебное пособие

Ярославль
ЯрГУ
2018

УДК 574(075)
ББК Е08я73
Ч-87

*Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2018 года*

Рецензенты:

О. Ф. Филенко, доктор биологических наук, профессор;
Лаборатория биоэлектронных методов
геоэкологического мониторинга,
Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр
экологической безопасности РАН

Чуйко, Григорий Михайлович.

Ч-87 Комплексная оценка биоэкологических и химиче-
ских систем : учебное пособие / Г. М. Чуйко,
И. И. Томилина, Н. В. Холмогорова ; Яросл. гос. ун-т
им. П. Г. Демидова. — Ярославль : ЯрГУ, 2018. — 140 с.

ISBN 978-5-8397-1163-1

Пособие содержит сведения о современных методах и подходах в комплексной оценке биоэкологических и химических систем, в основе которых лежат принципы биодиагностики, включающей ответы биоты на разных уровнях биологической организации.

Предназначено для студентов, изучающих дисциплины «Комплексная оценка биоэкологических и химических систем», «Методы биодиагностики» и «Методы исследования живых систем».

УДК 574(075)
ББК Е08я73

ISBN 978-5-8397-1163-1

© ЯрГУ, 2018

1. ВВЕДЕНИЕ

Мы, люди — не единственный вид, наносящий ущерб окружающему миру, но в наше оправдание можно сказать, что мы — единственные, кто осознает последствия своего поведения и пытается хоть как-то поправить дело.

Дуглас Адамс, английский писатель, драматург и сценарист (1952–2001)

Среда обитания живых существ на Земле едина и неделима. Однако условно можно выделить водную, воздушную и наземную среды, хотя все происходящие в них процессы взаимосвязаны. Любое масштабное изменение в одной из них приводит к глобальному изменению всей окружающей среды. Джеральд Даррелл, английский писатель, натуралист и ученый-зоолог написал по этому поводу: «Наш мир так же сложен и уязвим, как паутина. Коснитесь одной паутинки, и дрогнут все остальные. А мы не просто касаемся паутины, — мы оставляем в ней зияющие дыры».

Центральное место среди компонентов окружающей среды занимает вода. Она играет ключевую роль в существовании жизни на Земле. Вода покрывает большую часть поверхности нашей планеты, образуя Мировой океан и водные объекты суши. От качества водной среды зависит судьба не только водных, но во многом и наземных живых организмов. По этому поводу вспоминаются слова Антуана де Сент-Экзюпери, французского писателя, поэта и профессионального летчика:

«Вода!... Ты не просто необходима для жизни, ты и есть жизнь... Ты не терпишь примесей, ты не выносишь ничего чужеродного, ты — божество, которое так легко испугнуть...».

Влияние человека на окружающую среду — неизбежный результат его жизнедеятельности как одного из элементов биосферы. Преследуя цель создать для своего существования более благоприятные условия жизни, человечество сознательно и целена-

правленно изменяет среду своего обитания. По мере развития цивилизации её влияние на природу постоянно усиливается.

Человек — прогрессивно развивающийся биологический вид, о чем свидетельствует постоянно продолжающийся рост численности населения на планете (рис. 1.1).

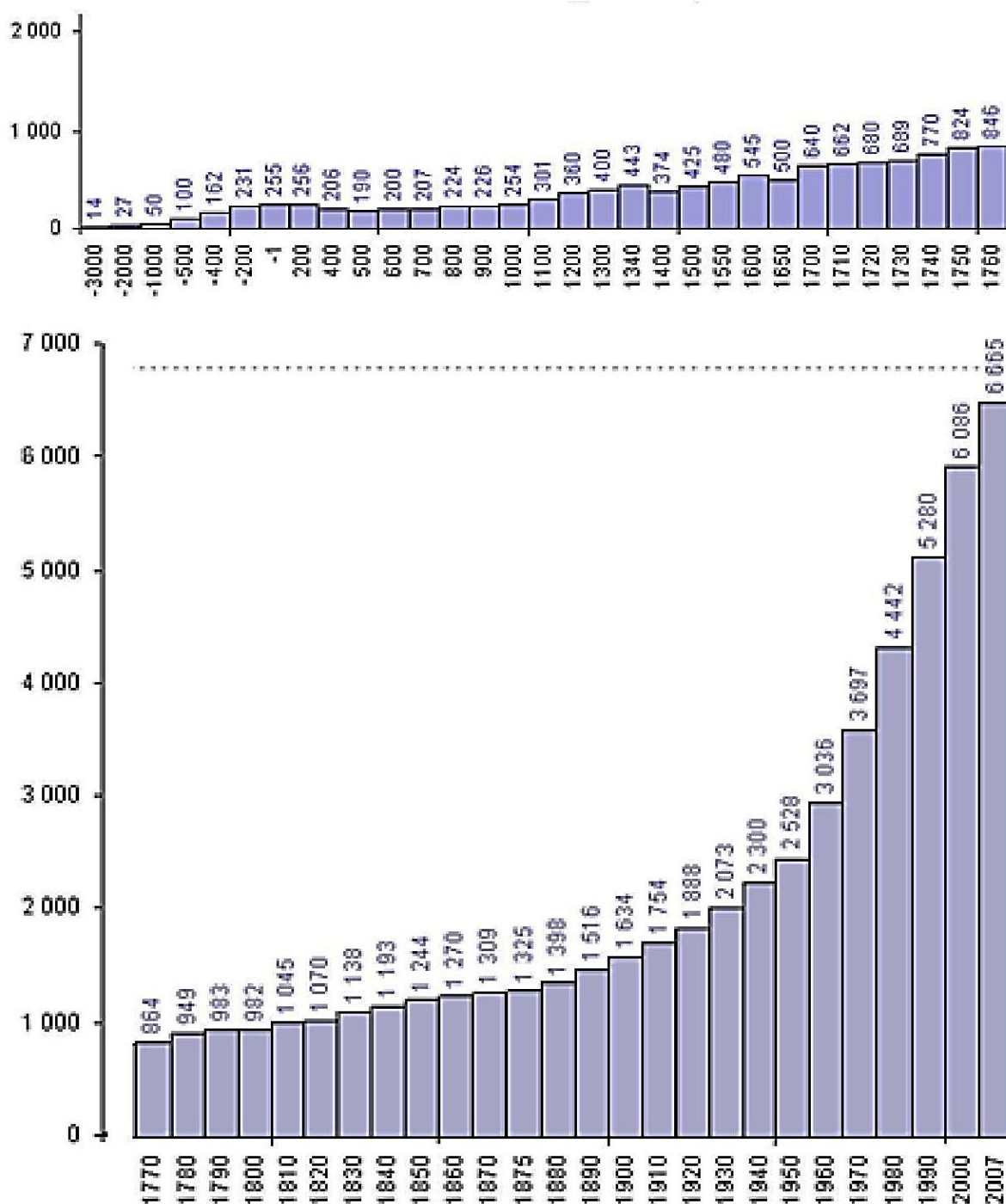


Рис. 1.1. Историческая динамика численности человека на Земле

Возрастающие в связи с этим потребности человечества требуют вовлечения в эксплуатацию все новых и новых минерально-энергетических сырьевых и пищевых ресурсов, создания и активного использования новых химических соединений, материалов и технологий, наращивания промышленного и сельскохозяйственного производства (рис. 1.2).



Рис. 1.2. Социально-экологические потребности человечества

Все это влечет за собой масштабное поступление в природную среду веществ антропогенного происхождения, отсутствующих в естественных условиях или встречающихся в природе в незначительных, безопасных для живых организмов количествах. Накопление этих веществ в природной среде ведет к её загрязнению и ухудшению качества, что приводит к гибели организмов, деградации сообществ и целых экосистем.

На ранних этапах истории человечества, когда его численность была незначительной, влияние человека на природу но-

сило локальный, ограниченный характер, изменения в окружающей среде развивались достаточно медленно, в течение жизни нескольких поколений. В последнее столетие это влияние все больше и больше приобретает глобальные черты и заметные изменения происходят уже за период жизни одного — двух поколений (рис. 1.3).

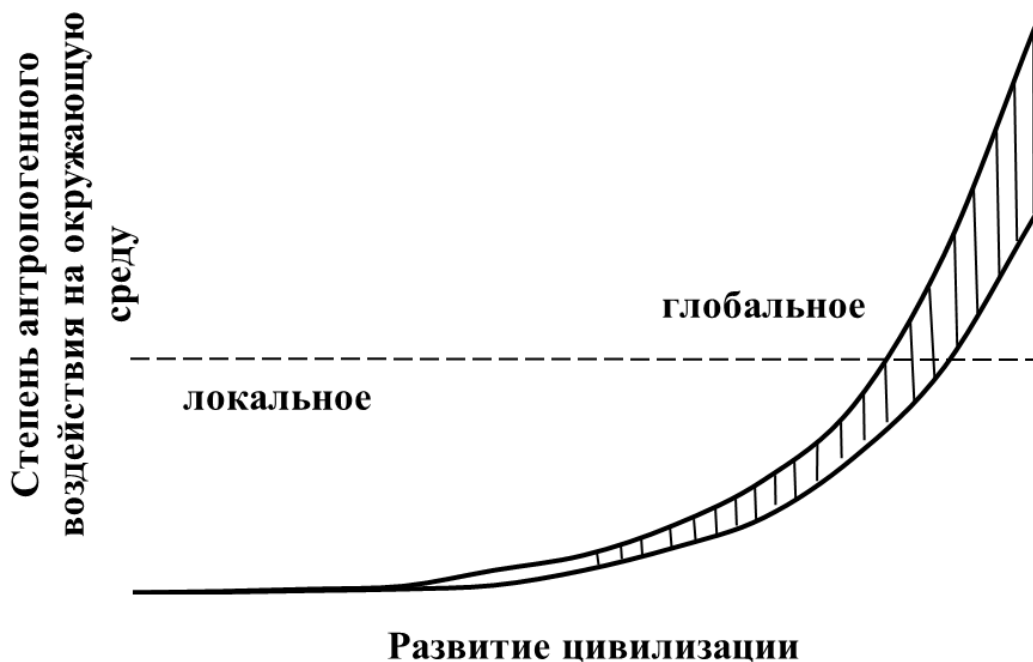


Рис. 1.3. Схема исторического изменения масштаба антропогенного влияния на окружающую среду

Вот лишь некоторые из большого числа происходящих в последние десятилетия событий и процессов, вызванных деятельностью человека и имеющих последствия планетарного масштаба: 1) активно проводившиеся во второй половине XX — начале XXI в. полевые испытания ядерного оружия и аварии на атомных электростанциях в Чернобыле и Фукусиме, повлекшие за собой поступление большого количества радиоактивных веществ в окружающую среду; 2) авария на буровой платформе в Мексиканском заливе, приведшая к утечке нефти и масштабному загрязнению ею шельфовой зоны океана; 3) постоянно возрастающий выброс углекислого газа в атмосферу в результате сжигания углеводородов, который вызывает потепление климата; 4) трансграничный атмосферный перенос персистентных антропогенных химических веществ, способ-

ствующий их повсеместному распространению и долгосрочному циркулированию в окружающей среде; 5) разрушение озонового слоя в результате выброса в атмосферу фреонов.

Теоретически можно выделить три возможные стратегии взаимоотношения человека с окружающей средой:

- Потребительское отношение к окружающей среде и её глобальное изменение.

- Полное исключение антропогенного влияния на окружающую среду.

- Минимизация влияния человека на окружающую среду и на этой основе оптимизация взаимоотношений с ней.

Если отойти от антропоцентрической точки зрения и подойти к проблеме с эколого-биологической позиции, то можно говорить, что влияние человека на окружающую среду — это неизбежный результат его жизнедеятельности, как и любого другого живого существа на Земле.

Совершенно очевидно, что первая стратегия, основанная на бесконтрольном и экстенсивном использовании природных ресурсов и изменении окружающей среды, является для человечества тупиковой, т. к. ведет к необратимым последствиям, результатом которых будет гибель цивилизации.

Вместе с тем второй вариант стратегии является идеалистичным. Ошибочно считать, что в обозримом будущем человечеству удастся полностью исключить свое негативное влияние на окружающую среду. Какие бы совершенные технологии малоотходного производства и способы очистки выбросов и стоков ни внедрялись, прямо или косвенно человек своей деятельностью будет воздействовать на воды суши и океанов. Это следует из основополагающего закона сохранения массы и энергии и является принципиальным моментом в определении стратегии взаимодействия человека и природы.

Если принять это положение, то усилия человечества должны быть направлены не на полное устранение своего влияния на окружающую среду, что принципиально недостижимо, а на то, чтобы понимать механизмы и пути своего воздействия на неё, научиться прогнозировать его негативные последствия,

минимизировать их и на основе этого оптимизировать свои взаимоотношения со средой обитания.

Это диктует необходимость проведения исследований судьбы загрязняющих веществ в окружающей среде, их биодоступности, биотрансформации, биоаккумуляции, передачи по трофическим сетям, влияния на организмы и структурно-функциональные характеристики отдельных популяций живых организмов, их сообществ и целых экосистем, нормирования допустимого уровня содержания этих веществ в водных объектах и прогнозирования последствий антропогенного загрязнения водной среды. Одним из главных современных подходов в решении названных задач является комплексная оценка биоэкологических и химических систем. В её основе, наряду с методами физико-химического количественного и качественного анализа антропогенных и экзогенных природных факторов, лежат методы биодиагностики, позволяющие оценить последствия действия этих факторов на организмы и экосистемы.

Данное пособие посвящено современным подходам, положениям и методам биодиагностики, используемым в системе комплексной оценки биоэкологических и химических систем.

2. БИОДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПРИ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Антропогенное загрязнение окружающей среды продолжает оставаться одной из актуальных экологических проблем современного общества (Моисеенко, 2009). Для оценки степени и минимизации негативных последствий его воздействия на живые организмы и экосистемы, нормирования содержания загрязняющих веществ в окружающей среде, осуществления экологического мониторинга и прогнозирования экологических рисков необходима система комплексной оценки экологического состояния, включающая анализ абиотических факторов и эффектов их действия на биоту.

В настоящее время такая система состоит из двух основных компонентов: инструментально-аналитического физико-химического анализа и биодиагностического (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Компоненты комплексной системы оценки эколого-токсикологического состояния водных объектов

В основе системы комплексной оценки экологического состояния водных объектов лежит концепция связи дозы (концентрации) воздействующего стресс-фактора со степенью выраженности ответной биологической реакции биоты, с одной стороны, и причинно-следственных связей биологических ответов на разных уровнях биологической организации — с другой (рис. 2.2).

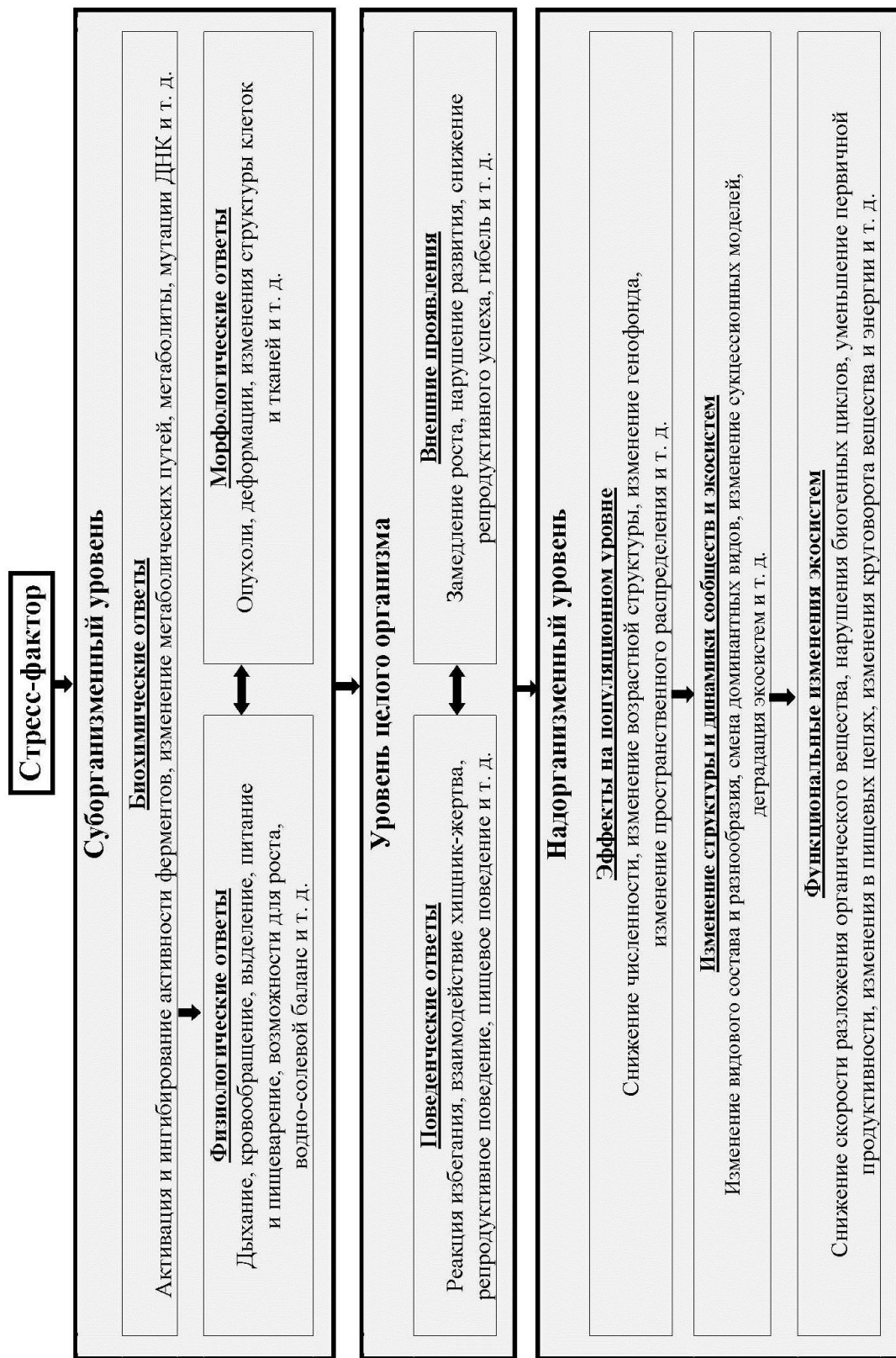


Рис. 2.2. Блок-схема эффектов, вызываемых на разных уровнях биологической организации при воздействии стресс-факторов

Аналитические физико-химические методы используются для качественной и количественной оценки антропогенных и природных факторов окружающей среды методами физико-химического анализа, а биодиагностические методы — для оценки степени их воздействия на окружающую среду и биоту.

Под **биодиагностикой** подразумевают использование ответных реакций биологических систем на разных уровнях их организации на действие природных и антропогенных факторов для оценки состояния биоты и качества среды её обитания.

Биодиагностические методы, в зависимости от уровня биологической организации ответов, в свою очередь, включают биомаркирование, биотестирование и биоиндикацию.

Биомаркирование служит для оценки степени воздействия этих факторов на состояние здоровья гидробионтов с использованием биомаркеров — морфофункциональных показателей, регистрируемых на суборганизменном и организменном уровнях биологической организации, таких как молекулярно-генетический, биохимический, физиологический и гистологический (Adams, 2002; Лукьянова, 2001; Чуйко, 2014).

Биотестирование позволяет оценить токсичность воды и донных отложений по общим биологическим реакциям организма (выживаемость, размножение, рост, двигательная активность и т. п.) с использованием лабораторных культур тест-организмов разных экологических уровней (микроорганизмы, простейшие, одноклеточные водоросли, беспозвоночные, икра, мальки и взрослые рыбы) (Флеров, 1983).

Биоиндикация — это обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик различных биоценозов гидробионтов (Никаноров, Иваник, 2014). Еще одно определение **биоиндикации** — оценка качества среды обитания и её отдельных характеристик по состоянию её биоты в природных условиях (Снакин, 2008), но оно носит менее конкретный характер.

При этом разные методы оценки не конкурируют, а взаимно дополняют друг друга. Каждый из них имеет свои преимущества и только их использование в комплексе может дать полную картину экотоксикологического состояния водного объекта.

Количественный и качественный анализ физико-химическими методами позволяет оценить природу действующего фактора и дать его количественные характеристики, но не дает ответа на вопрос о степени его влияния на биоту. Главное преимущество биодиагностики перед физико-химическими методами анализа — способность выявить биологические последствия действия отдельно взятого стресс-фактора или их совокупности. Биодиагностические методы позволяют фиксировать аддитивность, антагонизм и синергичность их совместного действия.

Биомаркирование от других биодиагностических методов (биотестирования и биоиндикации) отличается оперативностью ответа от нескольких минут до нескольких дней, высокая чувствительность и достаточная специфичность, т. е. возможность зарегистрировать происходящие в биологической системе изменения на ранних этапах действия факторов при их низкой интенсивности и при этом идентифицировать природу стресс-фактора. В отношении ксенобиотиков (соединений, имеющих чужеродное для организма происхождение) это выявление их действия на организм или уровня их биоаккумуляции при хронических экспозициях в сублетальных дозах (концентрациях), когда еще другими методами это воздействие зарегистрировать не представляется возможным, и установление природы действующего вещества (тяжелые металлы, фосфорорганические пестициды, хлорорганические соединения, полициклические ароматические углеводороды и т. д.). Однако экологическая значимость ответа биомаркеров не столь очевидна (Чуйко, 2014; Triebskorn et al., 2003).

Биотестирование обладает меньшей оперативностью ответа, чем биомаркирование (от нескольких часов до нескольких недель), но экологическая значимость на уровне основных биологических функций отдельной особи более очевидна: гибель организма, снижение репродуктивной способности вплоть до прекращения воспроизводства, нарушение роста, развития и различных типов поведения и т. д.

Биоиндикация характеризуется достаточно большим временем запаздывания ответных реакций надорганизменных биосистем (популяция, сообщество, экосистема) на действие стресс-фактора: от нескольких недель до нескольких лет. В то же время она дает возможность более адекватно и надежно оценить изменения в экосистемах, произошедших за длительный промежуток времени действия негативного фактора, прогнозировать варианты дальнейшего развития экосистем, т. е. биоиндикация имеет высокую экологическую значимость.

Схема соотношения чувствительности и оперативности биологического ответа с его экологической значимостью для разных компонентов биодиагностики представлена на рис. 2.3.

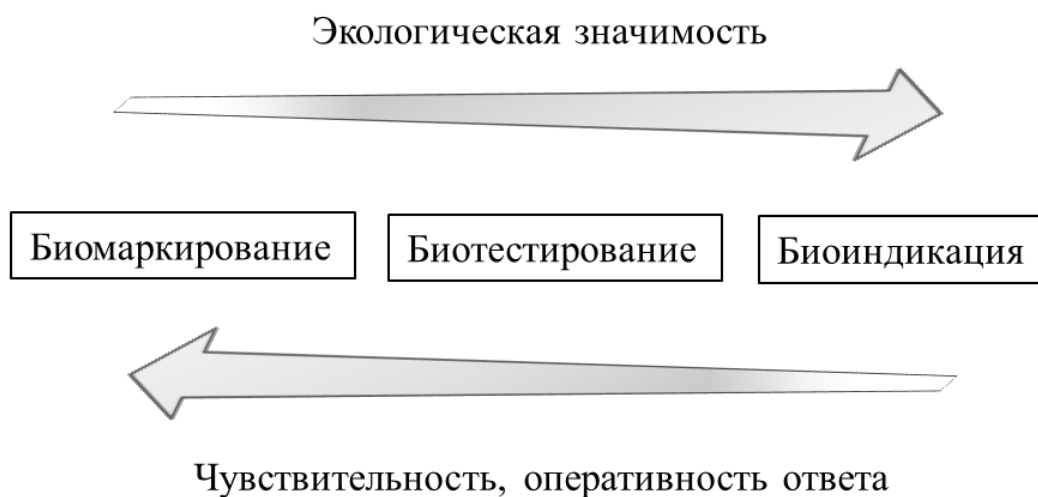


Рис. 2.3. Соотношение чувствительности и оперативности биологического ответа с его экологической значимостью для разных компонентов биодиагностики

На современном этапе развития системы биодиагностики и её полноценного практического использования одной из важных задач является выявление причинно-следственных связей между ответами, полученными на разных уровнях биологической организации: суборганизменном для биомаркеров, целого организма при биотестировании (выживаемость, рост, размножение) и надорганизменном при биоиндикации, характеризующем состояния популяции, сообщества, экосистемы. Вторая важная задача — установить зависимости «доза (концентрация) — биологический эффект» на всех уровнях биологической организации.

В связи с особенностями ответных реакций на разных уровнях биологической организации биомаркирование и биотестирование чаще используется в **оперативном**, а биоиндикация — в **долгосрочном биомониторинге** экологического состояния пресноводных объектов и антропогенного влияния на них. При этом применяются как активные, так и пассивные приемы биомониторинга.

В случае **активного экологического биомониторинга** тест-организмы из лабораторных культур, природных популяций или искусственные тест-системы (биосенсоры и биочипы) в лабораторных условиях подвергают дозированным воздействиям природного (природные и сточные воды, донные отложения) или экспериментального (растворы химических веществ, физические воздействия) фактора или заселяют (помещают) их в тестируемую внешнюю среду *in situ*. У этих тест-организмов или тест-систем регистрируют биологические ответы и их динамику. При активном биомониторинге применяют такие методы биодиагностики, как биомаркирование и биотестирование.

В случае **пассивного экологического биомониторинга** используются только тест-организмы из природных популяций, отловленные в естественных условиях при их постоянном контакте с факторами внешней среды, и у них регистрируют биологические ответы и их динамику. При этом наиболее подходящими биодиагностическими методами являются биомаркирование и биоиндикация.

Используя биомаркеры, следует иметь в виду, что их ответы при пассивном и активном экологическом биомониторинге могут несколько отличаться, т. к. в первом случае тест-организмы адаптированы к конкретным природным условиям, в том числе и к наличию в среде их обитания загрязняющих веществ, в то время как во втором случае они адаптированы к лабораторным условиям, характеризующимся стабильностью и отсутствием негативных факторов в среде обитания.

Таким образом, биодиагностический подход (биомаркирование, биотестирование и биоиндикация) играет важную роль в современной комплексной системе оценки экологического состояния водных объектов и антропогенного влияния на них.

3. БИОМАРКИРОВАНИЕ

3.1. История введения в практику и использования биомаркеров

в гидротоксикологических исследованиях

Идея разработки и использования *биомаркеров* сформировалась в 50-е — 70-е гг. XX столетия по мере осознания того, что регистрация токсичности только по показателю смертности является недостаточной для правильной оценки влияния антропогенного загрязнения и других неблагоприятных факторов окружающей среды на водные организмы и экосистемы. Кроме того, стало очевидным, что определение качества водной среды только посредством химического анализа содержания и состава загрязняющих веществ не может дать ответ на главный вопрос о её пригодности для нормального существования гидробионтов и безопасного использования человеком. Для понимания механизмов действия и выявления влияния токсических веществ на гидробионтов начали использовать различные физиологические, биохимические, гистологические и морфологические параметры организма. Сами показатели и методы для их определения первоначально были заимствованы, главным образом из клинической медицины, экологической физиологии и биохимии и ихтиопатологии. В результате было установлено, что многие из этих параметров позволяют оценить состояние организма и обнаружить токсическое воздействие на самых ранних стадиях развития токсического стресса, когда другими методами определить это еще невозможно. Работы в этом направлении были начаты одновременно во многих развитых странах, включая и СССР. У нас в стране необходимость развития этого направления водной экотоксикологии была сформулирована Н. С. Строгановым (МГУ) в конце 1960-х гг. На первой Всесоюзной научной конференции по вопросам водной токсикологии (Москва, МГУ, 1968) им были обозначены следующие перспективные задачи: «1) изучение связи токсических веществ с их химической природой (строением) и определение мест (процессов) поражения в организме, с целью прогнозирования на основе этих зако-

номерностей биологических эффектов токсикантов, попадающих в водоем; 2) выявление изменений (пределы колебаний) в организмах нормальных и патологических, установление критериев нормы и патологии; 3) разработка диагностики отравления по морфологическим (патологоанатомическим, гистологическим) и биохимическим, химическим показателям». Эти направления получили развитие в исследованиях самого Н. С. Строганова и его школы, а также таких отечественных ученых, как Б. А. Флеров и его школа, В. И. Лукьяненко (ИБВВ РАН), А. Я. Маляревская (Институт гидробиологии), Л. П. Рыжков (Петрозаводский ГУ), В. С. Сидоров и его школа, Н. Н. Немова и её школа (ИБ КарНЦ РАН), О. Н. Лукьянова (ТИНРО-Центр), С. В. Котелевцев (МГУ) и многие другие.

Какие конкретно показатели функционального состояния и время, когда впервые их начали применять в водной экотоксикологии, установить трудно. Одним из первых примеров *биомаркера* служит такой биохимический показатель, как активность фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в мозге, который успешно используется с начала 1960-х гг. для установления факта отравления рыб фосфорорганическими (ФОП) и карбаматными пестицидами. В основе применения данного *биомаркера* лежит способность этих групп соединений ингибировать активность фермента АХЭ.

Формулирование и начало использования термина «*биомаркер*» и связанных с ним основных понятий в гидроэкологической токсикологии относится к середине 1980-х гг. Более точно определить, кто, где и когда впервые сформулировал и употребил этот термин, не представляется возможным. Одними из первых официально ввели его в практику Национальные советы по научно-исследовательской работе Канады (National Research Council of Canada, 1985) и США (National Research Council of USA, 1987), выпустившие соответствующие нормативные документы. В Россию этот термин пришел из-за рубежа в 1990-е гг. и с тех пор активно используется в экотоксикологии в целом и в водной — в частности. Первоначально среди отечественных исследователей вместо него использовались такие понятия, как «эколого-физиологические реакции», «физиоло-

го-биохимические показатели», «морфофункциональные параметры», «индексы стресса» и др. В развитых странах именно с использованием *биомаркеров* проводится существенная доля оценки промышленных загрязнений или оценка степени токсичности тех или иных веществ. Большую роль биомаркеры играют и при проведении экологического мониторинга. У нас в стране биомаркеры пока не получили такого широкого практического применения и используются в основном в научно-исследовательских целях.

3.2. Определение понятия «биомаркер»

Биомаркер, сокращенное от *биологический маркер*, — термин, обозначающий измеряемый параметр или событие (процесс, явление), происходящее в биологической системе или биологическом образце на суборганизменном и организменном уровне биологической организации (молекула, клетка, ткань, физиологическая система, организм).

В гидроэкотоксикологии *биомаркеры* обычно используется как индикаторы состояния здоровья или риска проявления патологии (нарушения функции) гидробионтов либо как индикаторы воздействия на организм химических загрязняющих веществ или *ксенобиотиков* (соединений, имеющих чужеродное для организма происхождение).

Затем результаты, полученные на уровне организма, интерпретируются как отражение более общего состояния организма (выживаемость, рост, размножение) или состояния популяции, сообщества, экосистемы. Взаимосвязь эффектов на разных уровнях биологической организации, вызываемых действием загрязняющих веществ, представлена на схеме (рис. 3.2.1).

В настоящее время в качестве *биомаркеров* применяются показатели, отражающие молекулярно-генетические, биохимические, физиологические и гистологические изменения или отклонения от нормы в живых организмах. На блок-схеме (рис. 3.2.2) показаны последовательность изменений в организме и их возможные последствия для него при антропогенном воздействии на окружающую среду.

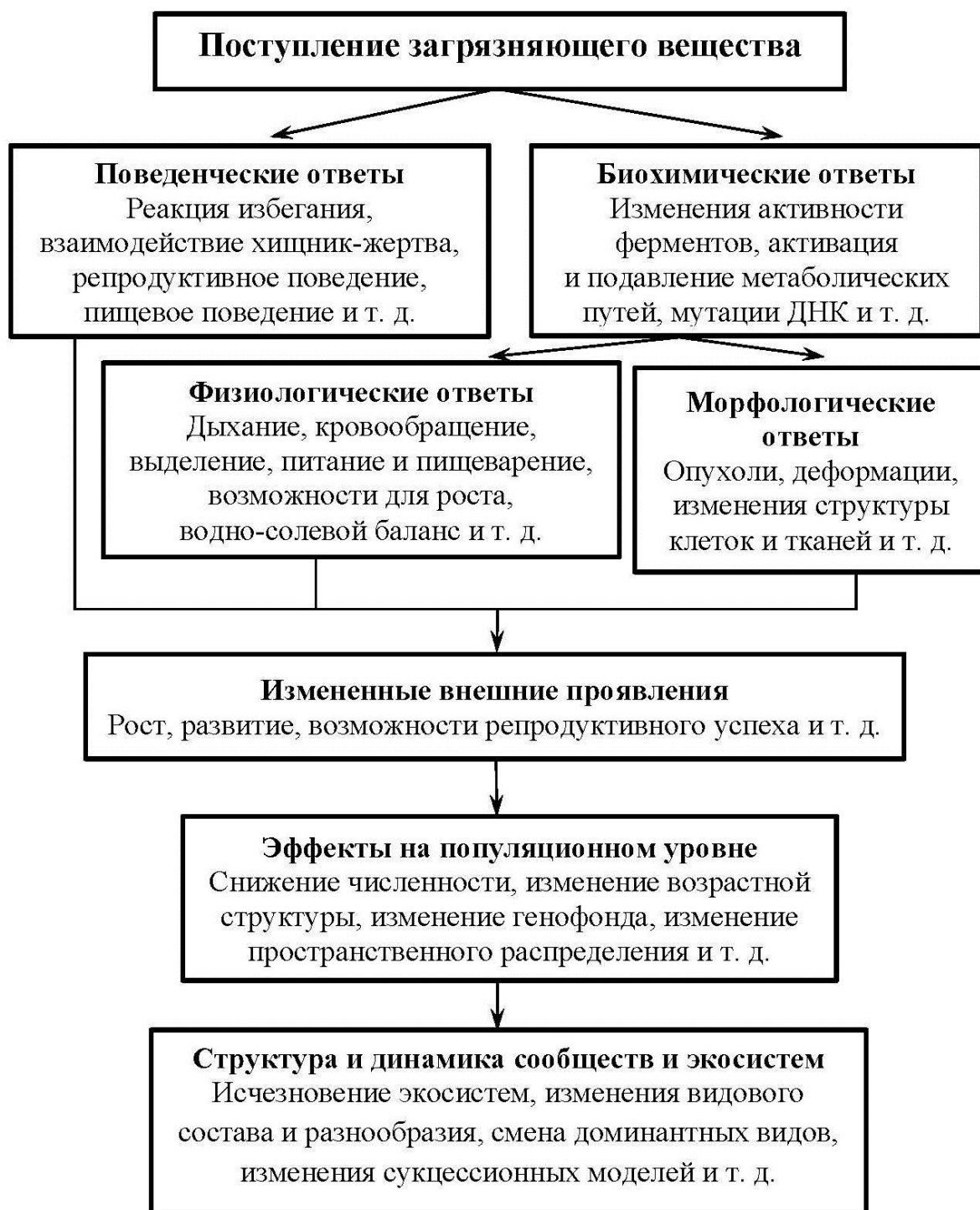


Рис. 3.2.1. Блок-схема эффектов, которые может вызывать на разных уровнях биологической организации воздействие загрязняющих веществ (по: Sheehan, 1984)



Рис. 3.2.2. Блок-схема двух вариантов интегрированного биохимического, морфофункционального и целостного ответа организма на действие токсиканта (модифицировано по: Hinton and Lauren, 1990).

Некоторые исследователи понимают термин «биомаркер» в более широком смысле и используют его для обозначения изменений на всех биологических уровнях организации: суборганизменном, организменном, популяционном, уровне сообществ и экосистемы.

Но абсолютное большинство ученых-экотоксикологов придерживается первоначального, более узкого понимания термина «биомаркер». Для показателей событий, явлений и процессов, происходящих под действием загрязняющих веществ в биологических системах более высокого уровня (популяция, сообщество, экосистема), чаще применяется термин «биоиндикатор», а применение биоиндикаторов с этой целью называется биоиндикацией. Используются биомаркеры в условиях *in vivo*, *in vitro* и *in situ* как в лабораторных экспериментах, так и в полевых исследованиях. А их использование по аналогии с биоиндикацией называется биомаркированием.

3.3. Общие требования (критерии), предъявляемые к кандидатам в биомаркеры

В настоящее время в качестве биомаркеров используют следующие параметры организма:

- 1) изменения на уровне ДНК;
- 2) функциональные белки, включая ферменты;
- 3) метаболиты;
- 4) неспецифические иммунологические, гистопатологические и физиологические ответы.

Однако не каждый показатель, отражающий молекулярно-генетические, биохимические, физиологические и гистологические изменения или отклонения от нормы в организме гидробионтов, может претендовать на роль *биомаркера*. При выборе показателей — потенциальных кандидатов в *биомаркеры* — необходимо руководствоваться рядом важных критериев.

1. Химическая специфичность. Некоторые *биомаркеры* отвечают на действие любого фактора или экспозицию, в то время как другие выявляют специфические химические вещества или их классы. Если *биомаркер* реагирует на действие широкого ряда

химических веществ и внешних факторов, он может быть полезным как общий неспецифический индикатор оценки состояния организма или воздействия на него смесей загрязняющих веществ и неблагоприятных факторов. Если индикатор указывает на отдельные химические вещества или их классы, он может использоваться при выполнении экологической экспертизы для идентификации типа воздействия на организм и диагностики причин нарушений функционального состояния животных.

2. *Относительная чувствительность.* Две концепции положены в основу этого критерия: 1) насколько более чувствителен *биомаркер* по сравнению с такими традиционными показателями токсичности или неблагоприятного воздействия на организм, как смертность, нарушения воспроизводства или роста, 2) насколько более чувствителен *биомаркер* по сравнению с другими кандидатами в *биомаркеры*. *Биомаркер* должен быть чувствительным к токсическому воздействию, но при этом применяться соответствующим образом. Например, нет необходимости разрабатывать *биомаркеры* для остролетальных токсических концентраций химических соединений. Кроме того, в хронических исследованиях *биомаркеры* должны превосходить по чувствительности такие традиционные общепаразитологические показатели, как выживаемость, рост и размножение.

3. *Биологическая специфичность.* Некоторые *биомаркеры* могут быть более применимы для определенных групп организмов в силу особенностей их метаболизма. Например, метаболизм полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) у двустворчатых моллюсков отличается от такового у рыб и млекопитающих. Поэтому такие специфические метаболиты ПАУ могут использоваться в качестве *биомаркеров* только у этой группы организмов.

4. *Ясность интерпретации.* Вызванные ксенобиотиками изменения на суборганизменном уровне организации не являются биологически надежными, если они полностью компенсируются организмом и не вызывают неблагоприятного воздействия. По этой причине важным аспектом использования *биомаркеров* является отделение адаптивных (гомеостатических) ответов от токсических эффектов. Определенные специ-

фические изменения в физиолого-биохимическом статусе организма происходят:

а) после стимуляции природными (экологическими) факторами внешней среды;

б) под действием нетоксических (т. е. непродолжительных по времени экспозиции или при низких концентрациях) доз химических веществ;

в) при действии токсических доз.

В первых двух случаях изменения в организме не являются столь серьезными, чтобы вызвать патологические нарушения функций или повреждения клеток и тканей в организме и привести к его болезни или гибели, а носят адаптивный (приспособительный) характер. В последнем случае под действием токсической дозы в организме происходят морфофункциональные нарушения, не компенсируемые его адаптивными возможностями и приводящие к патологическому состоянию, которое в тяжелых случаях заканчивается гибелью.

5. Латентный период ответа. Время до начала проявления ответа для разных *биомаркеров* может широко варьировать в пределах от мгновенного, например содержание глюкозы в крови, до нескольких лет, как необходимо для проявления некоторых повреждений, связанных с онкологией. В зависимости от цели конкретного исследования может требоваться быстрый или медленный ответ и соответствующий *биомаркер*.

6. Устойчивость и обратимость ответа. Продолжительность проявления ответа может значительно варьировать среди *биомаркеров*. Например, повышенный уровень глюкозы в крови рыб после токсического воздействия может сохраняться от нескольких десятков минут до нескольких дней, в то время как стабильное содержание и состав полихлорированных бифенилов (ПХБ) в биологических тканях может оставаться неизменным в течение нескольких лет после поступления в организм. В зависимости от масштаба временной интеграции, требуемой в мониторинговом исследовании, устойчивость и обратимость ответа может быть важным критерием, который необходимо принимать во внимание.

7. *Биологическая изменчивость (вариабельность)*. Большое значение для любого кандидата в *биомаркеры* имеет диапазон изменчивости данного показателя. Вариабельность любого биологического ответа имеет три основные составляющие: 1) изменчивость процессов внутри организма; 2) изменчивость, связанная с внешними факторами окружающей среды, включая эффекты токсикантов; 3) методологическая или манипуляционная изменчивость, связанная с процедурой измерения показателя. Первая и вторая причины изменчивости обусловлены влиянием нехимических стрессоров на «нормальный» диапазон значений ответа *биомаркеров*. Внутри одного вида это такие факторы, как характер питания, генетические особенности, пол, размерно-возрастные характеристики и стадии онтогенеза, функциональное состояние организма, органо-тканевая специфичность, окружающая температура и другие факторы среды обитания. Третья причина связана с методикой взятия образцов и самой процедурой анализа. Существуют и видовые особенности ответа *биомаркеров*. Учитывая это, следует выбирать виды организмов, у которых используемый показатель в наибольшей степени соответствует критериям, предъявляемым к *биомаркерам*. Возможность учета влияния перечисленных факторов на вариабельность *биомаркеров* зависит от развития фундаментальных знаний по этому вопросу.

8. *Взаимосвязь с эффектами более высокого уровня биологической организации*. Биомаркеры более низкого уровня биологической организации (генетические, молекулярные и биохимические ответы) становятся намного больше биологически и экологически значимыми, когда может быть ясно прослежена их связь с такими биологическими функциями, как выживаемость, рост или размножение, а также гибелью организма. Отсутствие связи не всегда означает, что ее нет. Это может быть результатом малой изученности *биомаркера* или текущего непонимания его вовлеченности в процессы, проходящие на более высоких уровнях биологической организации. Нечеткая выраженность взаимозависимостей не отменяет применимость *биомаркера*, но это может существенно снизить его прогности-

ческий потенциал и таким образом ограничивать его практическое использование.

9. Применимость в лабораторных и/или полевых условиях. Некоторые *биомаркеры* могут быть измерены только в лабораторных условиях, т. к. для этого требуется сложное оборудование и участие высококвалифицированного персонала. В то же время для других имеется оборудование, позволяющее быстро и легко определять их в полевых условиях.

10. Практические ограничения. Когда предполагается активное и массовое применение *биомаркеров* в биомониторинге, важными свойствами являются их *точность*, *простота* и *стоимость*. *Точность* зависит от аналитической воспроизводимости метода. *Стоимость* определяется общими финансовыми затратами, необходимыми для проведения работ, а *простота* — легкостью процедуры отбора проб, их подготовки и анализа, отсутствием особых требований к квалификации персонала.

11. Степень изученности и практическая полезность биомаркера. Необходимо принимать во внимание, является ли надежность, обоснованность и значимость *биомаркера* достаточно установленными, чтобы законодательным образом утвердить его практическое использование.

В табл. 3.1 обобщены основные критерии некоторых *биомаркеров*, относящихся к группе функциональных протеинов, включая ферменты, и с позиции использования дается их сравнительная характеристика.

Таблица 3.1

Сравнительная характеристика пользовательских свойств биомаркеров, относящихся к группе функциональных протеинов, включая ферменты

Свойство	Биомаркер					
	Цитохром P450A1 (ЭРОД, АГТ)	Ферменты II фазы БТК	МТ	БТПШ	Показатели СОС	АХЭ
Биомаркер воздействия	да	да	да	нет	нет	да
Биомаркер эффекта	да	да	нет	да	да	да
Биологическая специфичность	позвоночные	позвоночные	эукариоты	прокариоты, эукариоты	широкая	позвоночные, беспозвоночные
Химическая специфичность	ПАУ, планарные ПХБ, ПХД/ДФ	ПАУ, ПХБ	некоторые металлы	металлы, органические и неорганические соединения	оксиданты, соединения окислительно-восстановительного ряда	ФОС, карбаматы
Чувствительность	высокая	низкая	высокая	высокая	высокая у растений, недостаточно исследовано у животных	высокая
Латентный период ответа	6–24 ч	дни	часы — дни	минуты — часы	широко варьирует	минуты — часы
Надежность ответа	высокая	высокая	высокая	высокая	не установлено	высокая
Связь с эффектами более высокого биологического уровня	есть	есть	есть	есть	есть	есть

Окончание таблицы

Результаты испытания в полевых условиях	положительные	нет данных	положитель- ные	мало данных	положительные (для тех, что испытаны)	положительные
Стоимость анализа	средняя	средняя	высокая	средняя	низкая/средняя	низкая
Сложность анализа	высокая	высокая	высокая	высокая	высокая	низкая
Необходимость дополнительных исследований	да	да	да	да	да	да

3.4. Особенности полевого использования биомаркеров в гидроэкотоксикологии

Многие *биомаркеры* были разработаны и успешно применялись с целью количественной оценки токсических эффектов в лабораторных условиях, прежде всего в медицине и ветеринарии для человека и животных в диагностических целях. На решение важных экологических проблем, в частности гидроэкотоксикологических, эти методы направлены не были. Чтобы иметь применение в гидроэкотоксикологии, физиологические и биохимические показатели токсического действия или токсических эффектов должны включать разные группы гидробионтов, быть применимы не только в лабораторных, но и в полевых условиях и отвечать ряду требований. Для этого должно быть решено несколько общих задач:

1. Накопить базовые знания о норме реакции биохимического и физиологического показателя, претендующего на роль *биомаркера*.

Использование *биомаркеров* в гидроэкотоксикологии сильно ограничивается недостатком базовых данных по биохимии и физиологии гидробионтов в «нормальных» физиологических диапазонах (норма реакции). Поэтому развитие таких знаний для конкретного *биомаркера* наряду с установлением статистической достоверности его определения является существенным для внедрения в практику. Последнее зависит как от вариабельности измеряемого параметра, так и от размера выборки.

Рекомендуется определять стандартное отклонение параметра и использовать статистические методы анализа, чтобы установить необходимый размер выборки, достаточный для надежного определения среднего значения параметра.

2. Определить вариабельность (диапазон варьирования) значений *биомаркера* в природных условиях.

Об основных причинах вариабельности *биомаркеров* уже было сказано. Кроме этого, особое значение для гидроэкотоксикологических исследований приобретают и экологические факторы, такие как физико-химический состав водной среды (минеральный состав, pH, содержание растворенного кислорода, со-

держание органических и биогенных элементов и т. д.), сезонная цикличность биологических и абиотических процессов и климатогеографические особенности мест обитания гидробионтов. В итоге изменчивость измеряемого показателя (*биомаркера*) должна быть понятна и находиться внутри допустимых пределов.

3. Разработать *биомаркеры*, которые позволяют различать адаптивные ответы организма от токсических эффектов.

Об основных трудностях и особенностях интерпретации данных, полученных с помощью *биомаркеров*, написано ранее. В отличие от млекопитающих и птиц, которые по отношению к основным экологическим факторам являются *регуляторами* в том смысле, что состояние внутренней среды их организма поддерживается на постоянном уровне независимо от изменения состояния внешней среды, гидробионты в своей массе относятся к *конформерам*, т. е. состояние их внутренней среды следует за изменениями внешней среды. Эти различия не позволяют механически использовать данные, полученные на млекопитающих и человеке, и требуют отдельного и тщательного изучения адаптивных реакций и токсических эффектов у гидробионтов. Решение проблемы четкого разделения адаптивных ответов и токсических эффектов у водных организмов позволит проводить правильный выбор *биомаркеров* для выполнения гидроэкотоксикологических исследований и задач. На рис. 3.2.3 показаны результаты сравнения ответов гидробионтов на биохимическом/морфофункциональном и организменном/популяционном уровнях в зависимости от интенсивности действия внешнего фактора, включая и антропогенное загрязнение.

В гомеостатическом и адаптивных диапазонах воздействия фактора организм или популяция функционирует нормально. При этом биохимические и морфофункциональные параметры организма меняются в пределах нормы реакции или его адаптивных возможностей. При более сильных воздействиях, соответствующих токсическому диапазону, когда превышены адаптивные возможности организма или популяции на биохимическом и морфофункциональном уровнях, в биологической системе развиваются патологические изменения. Еще более сильные воздействия приводят к гибели организма или популяции.

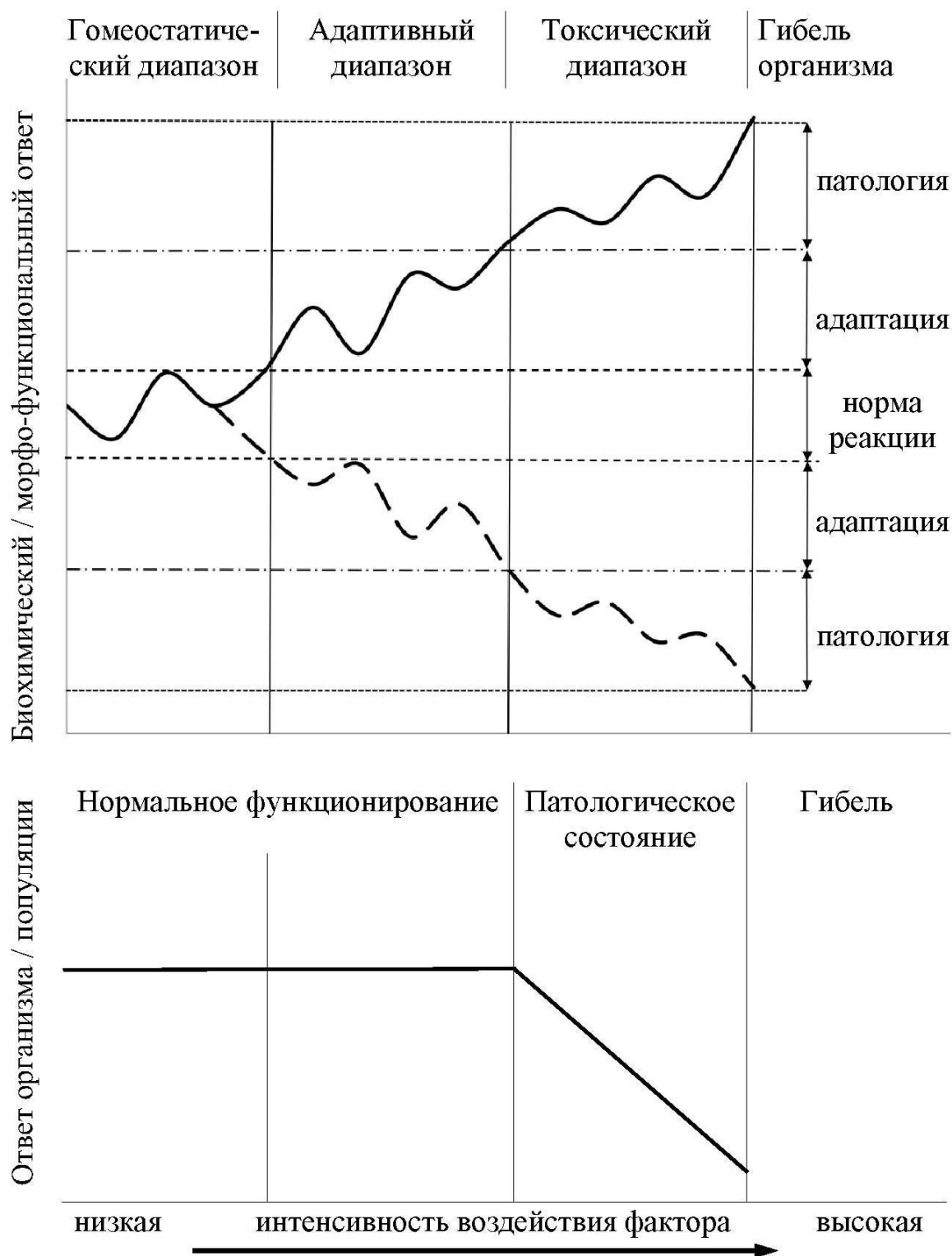


Рис. 3.2.3. Сравнение биохимических и морфофункциональных ответов с ответами целого организма и популяции гидробионтов при действии разных по интенсивности факторов внешней среды (модифицировано по: Versteeg et al., 1988)

4. Провести оценку *биомаркера* на экологическую значимость в полевых условиях.

Экологическая полезность и информативность многих *биомаркеров* у гидробионтов до сих пор не установлена, т. к. их проверка и всесторонняя оценка в полевых условиях еще не выполнена. Поэтому, хотя полевые исследования и более сложны для проведения, чем лабораторные эксперименты, выяснение экологической значимости *биомаркеров* должно быть приоритетным для исследователей.

5. Выявить связь между ответом *биомаркера* и важными и надежными экологическими эффектами на уровне популяции, сообщества и экосистемы.

В идеальном случае ответ *биомаркера* должен позволять прогнозировать эффекты в биологической системе на более высоком уровне биологической организации. Как было отмечено, для каждого *биомаркера*, чтобы он был эффективно применим в полевых условиях, должна быть установлена связь с такими биологически значимыми показателями, как выживаемость, рост или размножение и т. п. Значимым может считаться любой эффект, который обуславливает изменения в размере, структуре или состоянии популяции, сообщества или экосистемы.

В медицине клинические измерения успешно используются для выявления патологических эффектов у человека, т. к. накоплен большой объем фактических данных о корреляции клинических *биомаркеров* с патологическими процессами. Поскольку для многих гидробионтов такой информации недостаточно или она отсутствует, использование *биомаркеров* для оценки токсического воздействия или эффектов остается пока ограниченным. *Биомаркеры* у гидробионтов имеют особенности, поскольку для анализа можно брать любые органы и ткани, а не ограничиваться только клиническими прижизненными обследованиями. Однако в последнее время большое внимание в гидроэкотоксикологии уделяется разработке *биомаркеров*, использование которых возможно без умерщвления животных.

6. *Биомаркер* должен быть относительно легко измеряем и позволять проводить его массовое определение у достаточного числа индивидуумов.

Показатели, которые являются дорогостоящими в измерении, затратными по времени и требующими высокой квалификации персонала, проводящего измерение, не могут быть эффективно используемыми и полезными в полевых исследованиях при количественной оценке эффектов в организмах и природных популяциях.

7. Зависимость ответа от дозы и времени воздействия.

Биомаркер должен отвечать в дозо- или время-зависимой манере на действие токсического фактора таким образом, чтобы величина (амплитуда) воздействия или эффекта могла быть определена.

Следует иметь в виду, что не все из перечисленных критериев должны выполняться для того, чтобы *биомаркер* мог быть полезным и использоваться. Однако эти критерии помогут в выборе *биомаркера*, планировании исследования, анализе и интерпретации данных.

3.5. Классификация биомаркеров

Хотя отдельные *биомаркеры* трудно поддаются классификации, их можно условно разбить на три большие группы: *биомаркеры воздействия*, *биомаркеры эффекта* и *биомаркеры чувствительности*. Однако четкого разграничения между различными типами *биомаркеров* не существует. Поэтому одни и те же *биомаркеры* могут быть одновременно отнесены к разным группам.

Биомаркером воздействия может выступать экзогенное соединение (или его метаболит) внутри организма (биологической системы), продукт взаимодействия между соединением (или метаболитом) и эндогенным компонентом либо другое событие, связанное с воздействием конкретного химического или физического экзогенного фактора. *Биомаркеры воздействия* являются *специфическими* и позволяют выявить воздействие конкретного фактора на организм или его наличие в окружающей среде. Примером *биомаркера* этого типа может быть содержание метаболитов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в желчи, полихлорированных бифе-

нилов (ПХБ), хлорорганических пестицидов (ХОП) и металлоидов в тканях, активность АХЭ в мозге или крови, индукция ферментов биотрансформации ксенобиотиков в печени рыб и др. Оценка *биомаркеров воздействия* должна проводиться с учетом временных особенностей экспозиции и применительно к различным составным частям (компартаментам) организма. Наибольшую прогностическую ценность имеют те *биомаркеры воздействия*, для которых установлена функциональная или потенциальная корреляция с нарушениями здоровья организма или гидробионтов.

Биомаркером эффекта может выступать эндогенный компонент или параметр функциональной способности либо другой показатель состояния равновесия организма или системы органов, на которые оказано воздействие, признаваемый как морфофункциональное нарушение или заболевание. Примером *биомаркера* этого типа могут служить показатели состояния окислительного стресса, белки теплового шока (БТШ), или стресс-белки, активность АХЭ в мозге, содержание глюкозы в крови, индукция ферментов биотрансформации ксенобиотиков в печени и др. *Биомаркеры эффекта*, как правило, являются индикаторами отклонений от нормального состояния организма. Обычно они указывают на изменения функции клеток, тканей, отдельных органов и организма в целом. Эти биомаркеры могут быть *специфическими* и *неспецифическими*. *Специфические биомаркеры* указывают на биологический эффект конкретного типа воздействия. Примером такого *биомаркера* служит активность АХЭ в мозге рыб. В результате ее снижения под действием ФОП и карбаматов нарушается проведение нервного импульса в холинергических синапсах и развиваются симптомокомплексы отравления организма нейропаралитического типа. *Неспецифические биомаркеры* не указывают на конкретную причину эффекта, но отражают общий, комплексный характер комбинированного воздействия. К такому типу *биомаркеров* относят набор показателей, указывающий на развитие в клетке состояния *окислительного стресса*: продукты перекисного окисления липидов ПОЛ (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты) и содержание карбонильных

групп в белках, изменение активности ферментов (каталаза (КАТ), супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза, глутатион-S-трансфераза (GST) и др.) и содержания низкомолекулярных компонентов (восстановленный и окисленный глутатион, каротиноиды, витамин С (аскорбат), витамин Е (токоферол) и другие антиоксиданты) системы антиоксидантной защиты (АОЗ) в различных тканях организма. К этому же типу относятся белки теплового шока (БТШ).

Биомаркерами чувствительности являются показатели, связанные с природными особенностями функционирования организма гидробионтов (стадии онтогенеза, периоды годового цикла и т. д.), которые делают его более восприимчивым к воздействию ксенобиотиков. Примером могут служить биомаркеры, регистрируемые у рыб на ранних стадиях онтогенеза — эмбрионального развития и личиночной стадии, — когда их организм наименее устойчив к токсическому воздействию.

3.6. Частные примеры биомаркеров, используемых в гидроэкотоксикологии

В настоящее время в качестве кандидатов в *биомаркеры* исследуются многие показатели метаболизма гидробионтов и их морфофункциональные параметры. Степень их изученности различна. Некоторые *биомаркеры* изучены достаточно хорошо, по ним имеется обширная базовая информация, они успешно используются в научной и экологической практике, в то время как другие требуют дальнейшего изучения. Ниже приведены лишь некоторые примеры *биомаркеров*, применяемых в гидроэкотоксикологических исследованиях.

3.6.1. Активность холинэстераз

Холинэстеразы (ХЭ) — ферменты, широко распространенные в живой природе от микроорганизмов и простейших одноклеточных организмов до позвоночных, включая человека. Выделяют два основных типа ХЭ: ацетилхолинэстераза (ацетилхолин ацетилгидролаза, АХЭ; К.Ф. 3.1.1.7) и холинэстераза (ацилхолинацилгидролаза; К.Ф. 3.1.1.8), представленная рядом

ферментов. К последнему типу относится наиболее известная и часто встречаемая среди животных бутирилхолинэстераза (БуХЭ). Оба типа эволюционно связаны, но кодируются разными генами и имеют специфические черты, на основании которых их различают. АХЭ — специализированный фермент, его основная биологическая функция — гидролиз ацетилхолина (АХ), медиатора передачи нервного импульса, а физиологическая роль — участие в нейротрансдукции в холинергических синапсах в центральных и периферических отделах нервной системы. БуХЭ менее специфична в отношении субстратов, и ее роль окончательно не ясна, хотя высокая активность фермента в крови и печени высших позвоночных указывает на его функциональную значимость. В основе применения активности ХЭ как *биомаркера* лежит свойство ферментов необратимо или обратимо ингибироваться в дозозависимой манере фосфорорганическими (ФОС) и карбаматными соединениями. Причем после прекращения контакта животных с этими ксенобиотиками активность ХЭ остается пониженной по сравнению с нормальным уровнем в течение периода от нескольких суток до нескольких недель в зависимости от того, обратимое или необратимое ингибирование имело место.

В гидроэкотоксикологии активность ХЭ используется как *специфический биомаркер воздействия* ФОП и карбаматных пестицидов на водных животных. Методология использования этого показателя была заимствована из биомедицинской практики, где он применяется в качестве диагностического инструмента при отравлении животных и человека ФОС и карбаматами, включая пестициды и нервнопаралитические газы. Ингибирование АХЭ напрямую связано с механизмом токсического действия этих групп ксенобиотиков на организм. Среди гидробионтов наиболее изученной и часто используемой в качестве *биомаркера* является активность АХЭ мозга и БуХЭ крови и тканей рыб. В отношении этих ферментов имеется обширная базовая информация о нормальном уровне их активности и пределах ее биологической вариабельности у широкого ряда морских и пресноводных видов. При этом установлена зависимость от степени ингибирования АХЭ мозга рыб таких биоло-

гически важных функций организма, как дыхание, плавательная способность, питание, пищевое и социальное поведение, репродуктивная способность. Например, если леща (*Abramis brama* L) помещать в условия, приближенные к естественным, и побуждать к поиску и добыванию пищи, то снижение до 32 % от нормального уровня активности АХЭ в мозге при действии сублетальных концентраций ФОП приводит к нарушению пищевого поведения и снижению рациона питания на 35 % за счет подавления способности к пищедобыванию. Однако в условиях лабораторного эксперимента при хроническом действии сублетальных концентраций пестицидов и питании *ad libitum* активность АХЭ мозга может быть снижена до 11 % нормального уровня и находиться в его пределах в течение 60 суток без проявления видимых внешних признаков отравления и даже заметном росте рыб.

3.6.2. Показатели состояния окислительного стресса в клетке

Особенность метаболизма аэробных организмов, использующих молекулярный кислород для дыхания, — образование активных форм кислорода (АФК): супероксид анион-радикала (O_2^-), пероксида водорода (H_2O_2), гидроксильного радикала (OH^\bullet) и синглетного кислорода (1O_2). В обычных условиях АФК образуются в небольших количествах как промежуточные или побочные продукты нормального метаболизма. АФК являются сильными окислителями и крайне реакционноспособными соединениями, которые взаимодействуют с основными группами биологических молекул: белками, нуклеиновыми кислотами, липидами и углеводами. В результате этого взаимодействия разрушаются функциональные молекулы и субмолекулярные клеточные структуры, что приводит к нарушению метаболизма и физиологических функций организма. Для нейтрализации АФК в ходе эволюции в клетке возникла система антиоксидантной защиты (АОЗ), включающая низкомолекулярные (глутатион, каротиноиды, витамины С, Е, Q и др.) и высокомолекулярные компоненты (ферменты каталаза (КАТ), супе-

роксиддисмутаза (СОД), глутатионредуктаза (ГТР), глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионтрансферазы (GST) и др.).

При действии на организм различных природных и антропогенных стресс-факторов, включая ксенобиотики, в клетках наблюдается избыточное образование АФК, которое приводит к нарастанию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификация белков и окислительному повреждению ДНК на фоне одновременного снижения эффективности работы системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Состояние клетки, характеризующееся комплексом этих симптомов, получило название *окислительного стресса* (ОС). Индикаторами образования АФК и развития состояния ОС в клетке служит накопление продуктов ПОЛ, в частности малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК), и окислительная модификация белков, выражающаяся в увеличении содержания карбонильных производных аминокислот в белках, а также изменения по сравнению с базовым уровнем содержания низкомолекулярных компонентов и активности ферментов АОЗ. Основные положения теории окислительного стресса были сформулированы в 50–60 гг. XX в.

В гидроэкотоксикологии показатели состояния *окислительного стресса* используются как *неспецифические биомаркеры эффекта*. Они позволяют оценить физиологическое состояние гидробионтов, подвергнутых воздействию отдельных ксенобиотиков и их смесей, как в лабораторных, так и в полевых условиях. У бентосоядных рыб — лещей, выловленных на участках Рыбинского водохранилища вблизи г. Череповца, загрязненных полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ), полихлорированными бифенилами (ПХБ), нефтепродуктами (НП) и тяжелыми металлами (ТМ), отмечен повышенный уровень МДА и пониженная активность КАТ, GST и СОД в печени по сравнению с рыбами из относительно чистых участков. В другом исследовании у камбалы, содержащейся в экспериментальных условиях в аквариумах с донными отложениями, загрязненными ПХБ и ПАУ, состояние *окислительного стресса*, выражающееся в повышении уровня содержания МДА и активности КАТ и СОД, развивалось в печени

к 80 сут. К концу эксперимента к 140 сут. физиологическое состояние рыб возвращалось к норме. При сравнении результатов этих двух исследований обращает на себя внимание, что в обоих случаях в условиях повышенной нагрузки ксенобиотиков интенсивность процессов ПОЛ повышалась, а изменения активности антиоксидантных ферментов носили противоположный характер. Однако в этом нет противоречия. В природных условиях рыбы достаточно долго подвергались антропогенной нагрузке, поэтому их система АОЗ была подавлена, что и выразилось в устойчиво высоком уровне МДА и пониженной активности антиоксидантных ферментов. В экспериментальных условиях продолжительность и сила воздействия были меньше, поэтому организм смог к концу эксперимента адаптироваться и система АОЗ стабилизировала содержание продуктов ПОЛ. Приведенные примеры указывают на то, что при использовании *биомаркеров эффекта* более надежным и информативным показателем является анализ временной динамики, а не величин показателя в статичных точках процесса.

3.6.3. Белки теплового шока (БТШ), или стресс-белки

Белки теплового шока (БТШ), или стресс-белки, — это группа внутриклеточных белков, содержание которых резко возрастает в ответ на воздействие на клетку и организм в целом любых стресс-факторов. Впервые они обнаружены в 1962 г., когда было показано, что в ответ на повышение температуры среды у личинок дрозофилы происходит активация синтеза специфической группы белков. Поэтому изначально они и получили название белков теплового шока (*heat shock proteins, Hsp*). Позже было установлено, что синтез этих белков индуцируется не только при повышении температуры, но и при многих других неблагоприятных воздействиях, таких как добавление к клеткам органических растворителей, тяжелых металлов, органических ксенобиотиков, сильных оксидантов, аноксии, изменении солености среды и др., а также под влиянием некоторых гормонов и ростовых факторов. В связи с этим их стали называть еще и стресс-белками. Однако некоторые авторы считают этот термин не совсем удачным, поскольку и в нормальных условиях

клетки синтезируют большое количество таких белков. Это обусловлено тем, что БТШ играют важную роль в процессах сворачивания полипептидной цепи вновь синтезированных белков, а также участвуют в процессах репарации или элиминации неправильно свернутых или денатурированных белков.

Согласно современной классификации, в основу которой положены различия в молекулярных массах, выделяют пять основных классов Hsp: Hsp100, 90, 70, 60 и малые Hsp (smallHsp, sHsp). Каждый из этих классов БТШ выполняет характерные функции. Так, белки класса Hsp100 выполняют защитную функцию, предохраняя организм в условиях стресса. Белки семейства Hsp90 образуют сложный комплекс с несколькими вспомогательными белками (так называемыми кошаперонами). Такой комплекс взаимодействует с рецепторами стероидных гормонов, обеспечивает эффективное связывание гормона с рецепторами и последующий перенос гормон-рецепторного комплекса в ядро. Помимо этого, белки класса Hsp90 участвуют в направленном переносе нескольких типов протеинкиназ к участкам их функционирования. Белки семейства Hsp70 являются близкими родственниками БТШ с молекулярной массой 100 кДа и взаимодействуют с вновь синтезируемой на рибосомах полипептидной цепью, предотвращают преждевременное неправильное сворачивание незрелой полипептидной цепи и участвуют в транспорте белка к определенным органеллам (митохондриям, эндоплазматическому ретикулуму и т. д.). Белки семейства Hsp60 могут участвовать в фолдинге (образовании вторичной и третичной структуры) сложно устроенных многодоменных белков (таких, как актин или тубулин), а также в АТФ-зависимом исправлении ошибок в структуре частично денатурированных белков. К последней группе БТШ относятся Hsp с малыми молекулярными массами (sHsp). Они усиленно экспрессируются при тепловом шоке и увеличивают резистентность клеток к повреждающим факторам. Считается, что малые БТШ выполняют функции молекулярных шаперонов и предотвращают агрегацию частично денатурированных белков в клетке.

Стресс-белки — идеальные кандидаты в *биомаркеры* загрязнения окружающей среды, т. к. они являются:

- 1) частью клеточного защитного ответа;
- 2) индуцируются широким рядом разнообразных внешних стресс-факторов;
- 3) высоко консервативны, т. к. их структура и функции одинаковы у всех организмов от бактерий до человека.

В гидроэкотоксикологии БТШ используются как *неспецифические биомаркеры эффекта*. Увеличение их содержания по сравнению с базовым или конститутивным уровнем указывает на то, что клетка и организм в целом под действием неблагоприятных условий находятся в состоянии стресса.

В качестве примера можно привести использование БТШ амфипод в качестве *биомаркеров* неблагоприятного воздействия. Установлено, что показатели термоустойчивости, устойчивости к гипоксии и токсикантам у байкальских и палеарктических амфипод взаимосвязаны с конститутивным (базовым) содержанием БТШ. Для наиболее резистентных литоральных видов характерны и наибольшие конститутивные уровни БТШ, у менее резистентных глубоководных видов их уровни ниже. У наиболее резистентных видов также наблюдается способность к более выраженному увеличению количества БТШ в условиях стрессового воздействия. Так, при токсическом стрессе, вызванном сублетальным действием на рачков раствора хлорида кадмия, о защитном предназначении синтеза дополнительного количества БТШ, включая в равной степени Hsp70 и sHsp, свидетельствует характерная зависимость «доза — эффект». При увеличении концентрации хлорида кадмия в растворах, в которых экспонировали рачков, наблюдали увеличение количества синтезируемых БТШ. В пределах использованных концентраций хлорида кадмия у амфипод отмечена прямая зависимость между уровнем индукции синтеза БТШ и концентрацией токсиканта.

3.6.4. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков

Ферменты биотрансформации ксенобиотиков относятся к биохимической системе детоксикации и выведения из организма экзогенных токсичных органических веществ. Кроме того, они участвуют в метаболизме таких гидрофобных органических соединений эндогенного происхождения, как желчные пигменты,

стероиды, простагландины и др. Эта группа ферментов широко представлена в живой природе от простейших до высокоорганизованных организмов. Механизм биотрансформации экзогенных и эндогенных соединений един. Его сущность заключается в последовательных, поэтапных биохимических превращениях исходной молекулы, направленных на снижение ее гидрофобности, и подготовки к выведению из организма. Процесс биотрансформации состоит из двух этапов или фаз, суть которых различна и в которых принимают участие разные группы ферментов. На первом этапе (фаза I, модификация) исходное соединение подвергается одной из следующих реакций: окисления (ксенобиотики), гидролитического расщепления (эферы и пептиды), восстановления (карбонильные группы, азо- и нитросоединения, дегалогенирование), метилирования и десульфирования с участием соответствующих ферментов, за счет чего образуются менее гидрофобные метаболиты. Реакции этой фазы осуществляются на гладком эндоплазматическом ретикулуме и наиболее интенсивно протекают в клетках печени (гепатоцитах) или аналогичных органах (гепатопанкреис, пищеварительная железа). На втором этапе (фаза II, конъюгация) происходит дальнейшее понижение гидрофобности в результате связывания образовавшегося на первом этапе метаболита с высокополярным соединением, несущим отрицательный заряд. Эти реакции протекают исключительно с участием трансфераз — глюкуронозил-, глутатион- и сульфотрансфераз, а в качестве конъюгирующих агентов выступают соответственно глюкуроновая кислота, глутатион и фосфоаденозинфосфосульфат (так называемый «активированный сульфат»). Образовавшиеся в результате этих процессов продукты хорошо растворимы в воде и легко выводятся из организма через выделительную систему.

Среди ферментов фазы I наиболее изучены и представляют наибольший интерес как потенциальные *биомаркеры* ферменты, участвующие в реакции окисления ксенобиотиков, — цитохром-P450-зависимые монооксигеназы (или оксидазы смешанных функций) и эпоксид гидролазы. Их открытие и начало изучения относится к 50–60 гг. XX в. Уровень этих ферментов в норме не высок, но при попадании в организм

ксенобиотиков происходит индукция их синтеза и возрастание активности. Данные ферменты можно отнести к *специфическим биомаркерам воздействия*. Одна из монооксигеназ, которая сейчас активно изучается у гидробионтов как перспективный кандидат в *биомаркеры*, — это ксирезорифин-О-диэтилаза (ЭРОД, КФ 1.14.14.1), относится к подсемейству CYP1A-содержащих оксигеназ (цитохром P450, семейство 1, подсемейство A). Среди загрязняющих веществ антропогенного происхождения, которые вызывают повышение ЭРОД-активности, находятся полихлорированные диоксины и фураны (ПХДД/ПХДФ), полихлорированные бифенилы (ПХБ), полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), хлор- (ХОС) и фосфорорганические (ФОС) соединения, включая пестициды, и некоторые другие ксенобиотики. В ряде случаев повышенная ЭРОД-активность может быть единственным свидетельством воздействия быстро метаболизируемых соединений, наличие которых методы аналитической химии не в состоянии выявить в тканях. Примерами успешного использования ЭРОД-активности в качестве *биомаркера* служат исследования, выполненные разными группами ученых на леще (*Abramis brama*) из Рыбинского водохранилища (Россия) и р. Эльбы (Германия). Показано, что в обоих водных объектах в зонах с повышенным уровнем загрязнения ПХБ и ПАУ активность ЭРОД в печени рыб значительно выше, чем у леща из относительно чистых районов.

Наиболее изученным и часто используемым в качестве *биомаркера* ферментом фазы II является глутатион-S-трансфераза (GST), одновременно входящая и в пул антиоксидантных ферментов. Как было отмечено, он тоже может быть классифицирован как *неспецифический биомаркер воздействия*. В приведенном примере активность GST в печени леща из Рыбинского водохранилища была увеличена у рыб из зон с относительно низкой антропогенной нагрузкой по сравнению с особями из загрязненных районов. Вместе с тем лещ из р. Эльбы демонстрировал более сложный ответ: активность GST возрастала по мере увеличения в рыбе содержания ПХБ, но при наиболее высоком их уровне, сопостави-

мом с тем, что наблюдался у леща из загрязненных районов Рыбинского водохранилища, активность фермента снижалась.

3.6.5. Металлотионеины

Металлотионеины (МТ) представляют собой семейство низкомолекулярных, богатых цистеином, металлсвязывающих белков и олигопептидов. Впервые МТ были обнаружены в 1957 г. в почках лошади. Впоследствии было показано, что МТ широко встречаются среди животных, растений, эукариотических микроорганизмов и некоторых прокариот. В норме в тканях взрослых организмов МТ присутствуют в небольших количествах, однако их синтез индуцируется в ответ на действие широкого ряда ионов металлов, таких как Cd, Zn, Hg, Co, Ni, Bi и Ag. Сульфгидрильные группировки цистеиновых остатков МТ служат в качестве лигандов для образования органо-минеральных комплексов (хелатирования) с металлами и связывания последних. С учетом имеющейся научной базовой информации, полученной на млекопитающих, и доступных методов для определения изменений как в синтезе МТ, так и в составе связанных с ними металлов это семейство белков и пептидов является потенциальным кандидатом в *специфические биомаркеры воздействия* токсичных металлов на гидробионтов. В настоящее время возможность анализа состава и содержания металлов в металлпротеиновом комплексе позволяет оценить степень химической специфичности МТ в отношении вероятного индуктивного агента. Вместе с тем биологическая функция МТ сегодня далеко не полностью ясна. Кроме того, остается малоизученным вопрос о видовых, органо-тканевых, сезонных и других особенностях МТ у гидробионтов. Не удалось пока четко связать изменения в уровне МТ с нарушениями на клеточном или организменном уровне. Все это еще не позволяет активно и широко применять МТ как биомаркеры в гидротоксикологии. Однако отдельные примеры их использования имеются. Так, на морских дальневосточных двусторча-

тых моллюсках — приморском гребешке (*Mizuhopecten yessoensis*) из залива Петра Великого в условиях эксперимента показано, что при хроническом (25–60 сут) экспонировании животных в растворах сублетальных концентраций кадмия (0,5 и 500 мкг/л) у них наблюдалась индукция синтеза и появление новых фракций в общем спектре МТ. Канадскими исследователями установлено, что степень индукции МТ у радужной форели (*Salmo gairdnerii*), обитающей в реках Канады, коррелировала с увеличением концентрации металлов (Zn, Cu, Cd) в воде. Аналогичные результаты были получены другими исследователями на угре (*Anguilla anguilla*), чукучане (*Catostomus commersonii*) и форели при экспозиции рыб к кадмию в лабораторных условиях.

3.6.6. Метаболиты полициклических ароматических соединений (ПАУ) в желчи

Среди ксенобиотиков ПАУ являются одними из наиболее распространенных групп соединений, загрязняющих водные объекты. Они представляют собой органические соединения, для которых характерно наличие в химической структуре трех и более конденсированных бензольных колец. Основными источниками эмиссии техногенных ПАУ в окружающую природную среду, в частности в водные объекты, являются предприятия энергетического комплекса, автомобильный транспорт, химическая и нефтеперерабатывающая промышленность. В основе практически всех техногенных источников ПАУ лежат термические процессы, связанные со сжиганием и переработкой органического сырья: нефтепродуктов, угля, древесины, мусора, пищи, табака и др. Тип воздействия ПАУ на живые организмы ключевым образом зависит от структуры самого углеводорода и может изменяться в очень широких пределах. Многие ПАУ являются сильными химическими канцерогенами. Такие соединения, как бенз(а)антрацен, бенз(а)пирен и овален, обладают ярко выраженными канцерогенными, мутагенными и тератогенными свойствами. В организме животных, включая гидробионтов,

ПАУ довольно быстро подвергаются биотрансформации с участием описанных в предыдущем разделе ферментных систем. В результате этого в организме накапливаются различные метаболиты ПАУ с разным числом циклических структур в молекуле. Их содержание и соотношение наиболее удобно измерять в желчи рыб. Наличие метаболитов ПАУ свидетельствует о том, что животное подвергалось экспозиции к этой группе ксенобиотиков. Поэтому данный показатель является *специфическим биомаркером воздействия*. Примером использования этого *биомаркера* служит исследование, проведенное на Рыбинском водохранилище. Было показано, что желчь леща (*Abramis brama*) из загрязненного района, расположенного вблизи коммунально-индустриального комплекса г. Череповца, содержала достоверно выше метаболитов ПАУ, чем у рыб из относительно чистых зон. При этом различия для наименее токсичных ПАУ, содержащих 2–3 кольца (нафталин, антрацен, фенантрен), были минимальными, а для наиболее токсичных, имеющих 4–6 колец (бензпирен, бензантрацен, трифенилен, тетрацен, пентацен, пирен и др.), различия выражены в большей степени.

В табл. 3.2 приведены потенциальные сферы применения некоторых перечисленных *биомаркеров*, относящихся к функциональным белкам, включая ферменты.

Таким образом, *биомаркеры* в настоящее время являются в гидроэкотоксикологии важным инструментом, который используется при изучении антропогенного влияния на водные организмы и экосистемы, помогает понять механизмы этого влияния и оценить его последствия. Разработка новых *биомаркеров* и совершенствование уже имеющихся является одной из важных задач ученых-экологов. Подобно другим инструментам, *биомаркеры* имеют свои преимущества и недостатки, которые должны быть учтены при их выборе, применении и интерпретации полученной с их помощью информации. Необходимы дополнительные развернутые исследования нормы реакции базовых уровней всех показателей, используемых в настоящее время и претендующих на использование в качестве *биомаркеров* у широкого ряда видов гидробионтов.

Таблица 3.2

**Потенциальные сферы использования биомаркеров,
относящихся к группе функциональных протеинов, включая ферменты**

Сфера потенциального применения	Биомаркер					
	Цитохром P450A1 (ЭРОД, АГТ)	Ферменты II фазы БТК	МТ	БТП	Показатели СОС	АХЭ
Количественная оценка влияния или воздействия	+	?	–	+	+	+
Мониторинг состояния «здоровья» гидробионтов и экосистем	+	++	?	+	+	+
Выявление слабых, ранних эффектов	++	?	?	++	+	+
Оценка экологического риска	+	?	?	?	+	?
Экологическое нормирование (сигнал для принятия нормативных решений)	+	–	–?	++	?	+
Выявление воздействия специфических соединений	++	?	+	?	?	++
Токсикологический скрининг	+	+	–	+	–	+
Исследование механизмов токсического действия	+	++	++	++	++	++

Примечание: «+» и «++» указывают на степень полезности применения в данной сфере, «–» указывает на бесполезность применения, «?» указывает на недостаточную изученность вопроса: остальные обозначения как в табл.3.1 (модифицировано по: Stegeman et al., 1992)

Наряду с этим на основе научных знаний требуется более широкое внедрение *биомаркеров* в природоохранную деятельность и сферу практической экологии. Понимание их значимости и активное использование специалистами и руководителями, работающими в сфере промышленной экологии и управления природными ресурсами, поможет им принимать правильные административные решения при прогнозировании последствий влияния на окружающую водную среду хозяйственной деятельности человека и оценки состояния водных ресурсов и экосистем. При этом нужно понимать, что *биомаркеры* не являются альтернативой существующих методов химического контроля содержания загрязняющих веществ в водной среде. Они их удачно дополняют и в комплексе эти методы представляют собой целостную систему мониторинга, позволяющую дать полную количественную и качественную оценку антропогенного загрязнения, выявить эффекты его влияния на биоту и прогнозировать влияние на экосистему водного объекта.

Заключительным этапом должно быть нормативно-правовое и законодательное подтверждение применения *биомаркеров* в различных областях человеческой деятельности.

4. БИОТЕСТИРОВАНИЕ

4.1. Биотестирование как метод научного исследования

Длительное время химический анализ был единственным методом оценки качества окружающей природной среды. Однако химический анализ — это лишь констатация факта существования или отсутствия каких-либо химических элементов в пробе. Он не отражает «поведения» химических веществ, влияния на живые объекты, как прямого, так и косвенного. Токсические вещества должны быть доступными для гидробионтов, т. к. даже при возможности определения содержания всех загрязняющих веществ в объекте исследования такая информация была бы недостаточна для каких-либо прогнозов. Кроме того, результат комбинированного действия двух и более токсических веществ, имеющихся в исследуемом образце в небольших количествах, предсказать достаточно сложно. Нетоксичные соединения при изолированном действии могут вызывать значительный негативный эффект при комбинированном. Поэтому для оценки токсичности природных вод, донных отложений, почвы, промышленных сбросов, кормов и прочих объектов окружающей среды, а также новых химических веществ и внутренних сред организма человека и животных используют тесты на различных живых организмах. Предоставляя мало информации о природе загрязняющих веществ, биотестирование дает возможность с большой степенью достоверности определить степень интегральной токсичности объекта исследования.

Биотестирование в этом смысле по сравнению с гидрохимическими анализами методологически более верно. Кроме того, аналитическая химия водной среды далека от совершенства и очень дорогостояща. Бесспорно, что биотестирование может существенным образом ограничить объем громоздких гидрохимических работ и занять надлежащее место в системе контроля природных и сточных вод.

Биотестирование как метод исследования используют специалисты различных областей науки: в экологической токсикологии для анализа вод и почв, в гуманитарной и ветеринарной ме-

дицине — для исследования свойств внутренних сред высших организмов, в сельском хозяйстве — экспресс-тестирования кормов на общую токсичность, в химии — для первичной оценки свойств новых веществ и т. д. При этом само понятие «биотестирование» зачастую истолковывают по-разному, приспособлявая этот термин к тому или иному узкому кругу задач и объектов.

Что же такое биотестирование, как его можно определить? Слово «тест» означает «опыт, исследование, испытание». У американских и западноевропейских токсикологов существуют термины *bioassay* и *biotest*, которые означают оценку действия токсических веществ на живые организмы в стандартных условиях. Такое же определение дано в докладе Временной научно-технической комиссии «О современном состоянии и перспективах развития научно-исследовательских работ по биотестированию природных и сточных вод»: «под "биотестом" понимается оценка (испытание) в строго определенных условиях действия вещества или комплекса веществ на подопытные организмы путем регистрации изменений того или иного биологического (или физиолого-биохимического) показателя исследуемого объекта по сравнению с контролем» (Флеров, 1983).

Широта данного определения позволяет подвести под задачи биотестирования почти все вопросы экспериментальной токсикологии и многие направления ряда других дисциплин (Черкашин, 2001).

Более короткое определение: биотестирование — это оценка токсических свойств окружающей среды по их воздействию на биологические объекты или процессы в стандартных условиях. Данная формулировка включает в сферу рассмотрения любые методы, в которых используются биологические объекты. Это позволяет анализировать и сопоставлять биологические тесты, применяемые в разных областях, с единой точки зрения.

Цель биотестирования — выявление на гидробионтах степени и характера токсичности сред (вода, водная вытяжка, донные отложения, почва и т. д.), загрязненных биологически опасными веществами, и оценка потенциальной опасности этой среды для водных и других организмов в контролируемых (лабораторных) условиях. В этом отличие биотестирова-

ния от биоиндикации и биомаркирования состояния водной среды. Под индикацией понимаются полевые наблюдения за гидробионтами, а под мониторингом — полевые наблюдения по жестко осуществляемой программе (в пространстве и во времени). В обоих последних случаях о качестве водной среды судят по присутствию или отсутствию тех или иных видов гидробионтов, а также изменению их биологических параметров: численности, биомассы, наличию патологии. В отличие от физических и химических подходов к оценке загрязнения биотестирование имеет прогностическое значение. По состоянию организмов можно предсказать изменения, ожидающие биоту при данном уровне загрязнения.

В процедуре биологического тестирования различают:

1) острые тесты продолжительностью от нескольких минут до 96 ч по показателям выживаемости различных тест-объектов;

2) краткосрочные хронические тесты длительностью 7 сут, которые заканчиваются, как правило, после получения первого поколения тест-объектов;

3) хронические тесты, охватывающие полный жизненный цикл или несколько поколений организмов, в которых оцениваются нарушения жизненных функций организмов (плодовитость, продуктивность, стадии развития и морфо-анатомические изменения, сокращение продолжительности жизни).

Основные общие методические положения биотестирования представлены на рис. 4.1 (Бакаева, 2015).

Характеристика и качество выполнения биотестирования зависят от выбора трех показателей: 1) тест-организмов; 2) условий проведения испытаний и 3) выбором тест-реакции и тест-критерия организмов. Выбор тест-организмов определяется их распространенность, простотой содержания и культивирования в лабораторных условиях, чувствительностью к загрязняющим веществам. Наиболее распространенными биологическими тест-объектами являются микроорганизмы, водоросли, простейшие, планктонные рачки, насекомые и другие группы беспозвоночных, позвоночные животные, растения, клеточные культуры. Рекомендуемые для целей биотестирования группы гидробионтов и методы учета представлены в табл. 4.1.

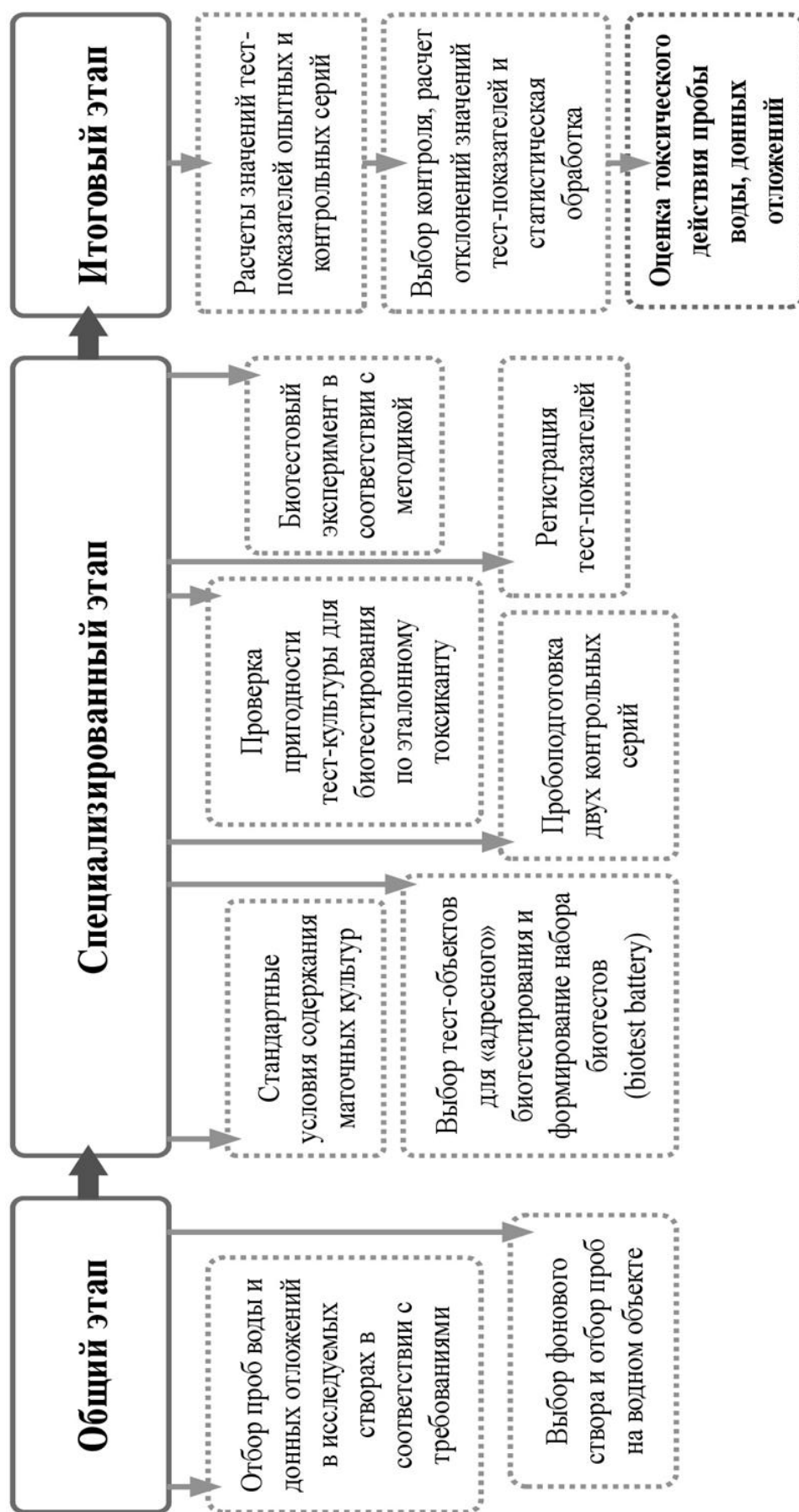


Рис. 4.1. Основные общие методические положения биотестового анализа

Таблица 4.1

**Используемые в биотестировании группы гидробионтов
и методы учета (РД 52.24.690-2006)**

Тест-объект	Метод учета	
	Молодь (ювенильные особи)	Гибель (отмершие особи)
PROTOZOA (Простейшие) родов <i>Paramecium</i> , <i>Tetrahymena</i> , <i>Colpidium</i> , <i>Stylonicchia</i>	Микроскопирование: - индивидуальные линии - подсчет численности	Микроскопирование: - подсчет количества погибших особей
ALGAE (Одноклеточные водоросли) <i>Clorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i>	—	Визуально: - подсчет количества живых и погибших особей - внешний вид
ROTATORIA (Коловратки) <i>Brachionus calyciflorus</i> , <i>B. rubens</i> , <i>B. plicatilis</i> , <i>Philodina roseola</i> , <i>P. acuticornis</i>	Микроскопирование: - индивидуальные линии - подсчет молоди	Микроскопирование: - подсчет количества погибших особей
CRUSTACEA (Ракообразные) <i>Daphnia magna</i> , <i>Moina macroscopa</i> , <i>Ceriodaphnia recticulata</i> , <i>Artemia salina</i>	Визуально: - поведение - подсчет молоди	Визуально: - подсчет количества погибших особей
OLIGOCHAETA (Малощетинковые черви) <i>Aeolosoma hemprichi</i> , <i>Hirudo medicinalis</i>	Визуально: - поведение - наличие кладок - симптомокомплекс	Визуально: - подсчет количества погибших особей
Insecta (Насекомые) <i>Chironomus plumosus</i> , <i>Ch. riparius</i> (личинки)	Визуально: - рост, время развития до куколки	Визуально: - подсчет количества погибших особей
MOLLUSCA (Моллюски) <i>Lymnaea stagnalis</i> , <i>Anadonta</i> sp., <i>p. Mytilis</i> , <i>p. Dreissena</i>	Визуально: - количество кладок - количество молоди - частота сердечных сокращений	Визуально: - подсчет количества погибших особей
PISCES (Рыбы) <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Danio rerio</i>	Визуально: - количество молоди - эмбриональное развитие - частота «кашля»	Визуально: - подсчет количества погибших особей

4.2. Термины и определения

При использовании методов биотестирования оперируют рядом понятий и определений.

Токсичность (от греч. *toxikon* — яд) — способность химических соединений вызывать патологию (заболевание) или гибель организмов. Токсичность можно охарактеризовать как степень химического воздействия, нарушающего биологические системы на различных уровнях организации. Различают острую и хроническую токсичность. Под острой токсичностью понимается гибель или глубокая патология организмов, развивающаяся за короткий промежуток времени. Как правило, токсикологические острые опыты имеют экспозицию 24, 48 и 96 часов. Хроническая токсичность выявляется при длительном воздействии токсикантов (недели, месяцы, годы или полный жизненный цикл).

Критерии токсичности определяются уровнем организации биологических систем. Критерий токсичности на организменном уровне (по Н. С. Строгонову) — снижение выживаемости, воспроизводства (плодовитости) и качества потомства. Это основные критерии сохранности вида. На популяционном уровне приняты следующие критерии: сохранение баланса между рождаемостью и смертностью, снижение продуктивности, сдвиги в соотношении полов в сторону преобладания самцов, переход от партеногенеза к половому размножению, появление карликовых форм. На биоценотическом — критерием токсичности является сохранение устойчивой структуры биоценоза (видовой состав, доминантные формы, численность биомассы, соотношение основных систематических групп в биоценозе). Критерий токсичности на экосистемном уровне — сдвиг равновесия в экосистеме в сторону снижения соотношения первичной продукции и деструкции, поскольку в основе функционирования экосистем лежит биотический круговорот, включающий два противоположных процесса: первичное продуцирование, базирующееся на фотосинтезе, и расход органического вещества в сети потребления — деструкция. В норме соотношение продукции к деструкции равно единице. Чем дальше от 1 и ближе к 0, тем более глубоко нарушена экосистема.

Тест-объект — организм, используемый при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др. По определению Л. П. Брагинского, тест-объект — «датчик» сигнальной информации о токсичности среды и заменитель сложных химических анализов, позволяющие оперативно констатировать факт токсичности (ядовитости, вредности) водной среды («да» или «нет»), независимо от того, обусловлена она наличием одного точно определяемого аналитически вещества или целого комплекса аналитически не определяемых веществ, какой обычно представляют собой сточные воды.

Тест-реакция (функция) — изменение (ответ) какого-либо морфологического, биохимического, поведенческого или функционального показателя тест-организма под воздействием токсических веществ, содержащихся в окружающей среде или тестируемом объекте. Тест-функции в биотестировании носят общий, неспецифический характер. Однако количество загрязняющих веществ, попадающих в окружающую среду, неуклонно возрастает и не исключено, что какое-либо вещество или смесь веществ может привести к возникновению специфических реакций у тест-объектов, особенно на клеточном или тканевом уровнях организации.

Тест-параметр — количественное выражение тест-реакции.

Чувствительность — способность организмов реагировать на различные раздражители, это проявление первой реакции на химические вещества.

Устойчивость — способность переносить внешние воздействия, т. е. выживать в условиях загрязнения среды обитания. Оценка устойчивости организма проводится по концентрации загрязняющих веществ, вызывающих определенный процент гибели тест-объектов. Обычно устанавливается 50 %-я гибель организмов за 24, 48 или 96 часов. Это основная токсикологическая характеристика.

Измерительная система (прибор) дает количественную характеристику ответной реакции тест-объекта на воздействие внешних факторов.

Воспроизводимость результатов — характеристика качества биотестирования, отражающая близость результатов, полученных по данной методике, на одном и том же эталонном веществе, но в различных условиях (разные операторы, разные лаборатории, разное время).

Сходимость результатов — характеристика качества биотестирования, отражающая близость результатов, полученных по одной методике, на одном и том же эталонном веществе, в одних условиях (один оператор, одна лаборатория, одно и то же время).

4.3. История развития биотестирования

Поиск исторических корней применения биотестирования уводит нас в период Античности, когда в Древнем Риме при дворе императоров существовала особая должность — отведывателя кушаний, который должен был пробовать каждое блюдо, подаваемое императору, чтобы, если в нем окажется яд, своей смертью предупредить об опасности.

В Средние века для обнаружения скопления рудничных газов (метана, углекислого и угарного газов) в забоях при разработке угля шахтерами использовались канарейки.

Безусловно, к числу методов биотестирования следует отнести определение биологического потребления кислорода (БПК), поскольку этот анализ основан на оценке окислительной активности микроорганизмов. Впервые информация об использовании этого метода была опубликована в Англии в 1912 г. Дж. Мак-Гоуэном (J. McGouen), М. Фри и Г. Б. Кершау (G. B. Kershaw) в восьмом докладе «Королевской комиссии по ликвидации загрязнений» (Флеров, 2007).

В конце XIX в. отечественными исследователями-ихтиологами О. А. Гриммом, Н. К. Чермаком и И. Р. Арнольдом была предложена идея оценки в экспериментальных условиях действия загрязняющих веществ на гидробионтов путем регистрации биологических показателей. Был применен так называемый метод «рыбной пробы», который впоследствии стал основным методом ихтиотоксикологических исследований. Метод полу-

чил широкое распространение и за рубежом; благодаря простоте и удобству его применяют до сих пор. Недостаток метода заключается в необходимости длительного периода адаптации рыб (15–20 сут) к лабораторному содержанию, которое само по себе является стрессом. Дальнейшее развитие метод «рыбной пробы» получил в США после разработки систем для бесконтактной регистрации двигательной активности и некоторых поведенческих реакций рыб, по изменению которых определяли наличие токсикантов в среде.

Первые биотесты на планктонных ракообразных — дафниях и циклопах — были выполнены в 1918 г. Ранние исследования касались биологии и экологии дафний (Brown, 1929). Первые *Daphnia magna* как тест-объект была использована в классической работе Э. Наумана «*D. magna* Straus als Versuchstiere» в 1933 году (Naumann, 1933). Рачок *D. magna* как стандартный тест-организм входит и в большинство национальных и международных стандартов исследования качества воды.

С учетом достоинств культуры *D. magna* были разработаны десятки методик биотестирования, в разной степени востребованных в оценке состояния водных сред.

В России (СССР) биотестирование начало разрабатываться в 1930-х гг. Однако только к 1980-м гг. научной общественностью и ведомствами, призванными контролировать состояние водной среды, была осознана необходимость его применения как показателя оперативной интегральной диагностики качества вод. До этого времени для оценки качества водной среды использовались в основном гидрохимические показатели. В СССР начало подобных работ связано с исследованиями Н. С. Строгонова и его школы (Строганов, 1971; Строганов и др., 1983). основополагающими в рассматриваемой области науки являются работы отечественных токсикологов: Л. П. Брагинского (Брагинский, 1971; Брагинский, 1981), Е. А. Веселова, Л. А. Лесникова (Лесников, 1983; Лесников, Мосиенко, 1992), В. И. Лукьяненко (Лукьяненко, 1983), С. А. Патина (Патин, 1981), О. Ф. Филенко (Филенко, 1988; Филенко, 1989) и Б. А. Флерова (Флеров, 1983). В 1981–1986 гг. были апробированы и рекомендованы методики для определения токсично-

сти сточных и природных вод. В 1990 г. было подготовлено и утверждено Государственным комитетом СССР по охране природы «Методическое руководство по биотестированию воды» (РД 118-02-90) (Методическое руководство..., 1991). В этот документ вошли методики с использованием в качестве тест-организмов представителей основных трофических звеньев водной экосистемы: водорослей, ракообразных и рыб. С 1995 по 2000 г. в РФ действовал эколого-экономический эксперимент по внедрению методов биотестирования для оценки качества возвратных вод и взиманию платы с учетом их токсичности (приказ Минприроды от 27.12.1995). С 2001 г. в соответствии с приказом МПР России от 15.06.2001 № 511 и «Критериями отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды» методы биологического тестирования стали использоваться как инструмент анализа при оценке класса опасности отходов (Гелашвили и др., 2016).

В настоящее время в мировой практике для исследовательских целей используется более сотни различных тест-организмов для биотестирования. Каждый из них имеет специфические преимущества, однако ни один не может быть универсальным, чувствительным ко всем веществам в равной степени.

4.4. Области применения методов биотестирования и требования, предъявляемые к методикам

Биотестирование как метод оценки токсичности водной среды используется:

- при проведении токсикологической оценки промышленных, сточных бытовых, сельскохозяйственных, дренажных, загрязненных природных и прочих вод с целью выявления потенциальных источников загрязнения,
- в контроле аварийных сбросов высокотоксичных сточных вод,
- при проведении оценки степени токсичности сточных вод на разных стадиях формирования при проектировании локальных очистных сооружений,
- для оценки состояния водных экосистем (токсичность природной воды и донных отложений),

- для определения ПДК новых химических соединений и экологической экспертизы новых материалов,
- оценки токсичности почвы,
- оценки токсичности воздуха,
- оценки токсичности лекарственных препаратов и продуктов питания,
- при скрининге токсичности вновь синтезируемых химических веществ,
- для установления класса опасности твердых бытовых отходов.

Развиваются два основных направления работ по биотестированию: 1) подбор методик с использованием гидробионтов, охватывающих основные иерархические структуры водной экосистемы и звенья трофической цепи; 2) поиск наиболее чувствительных тест-организмов, которые позволили бы уловить низкий уровень токсичности при обеспеченной гарантии надежности информации.

Требования, предъявляемые к методикам биотестирования:

- чувствительность тест-организмов к достаточно малым концентрациям загрязняющих веществ;
- доступность тест-организмов для сбора, простота культивирования и содержания в условиях лаборатории;
- возможность получать надежные результаты, метрологическая обеспеченность методик;
- простота выполнения процедуры и технических приемов биотеста;
- низкая себестоимость работ по биотестированию.

Факторы, влияющие на биотестирование: 1) факторы, влияющие на тест-организмы (в лабораторных условиях — экспозиция, условия культивирования; в природе — условия жизни растений и животных; возраст, сезон года, обеспечение тест-организмов пищей, температура, освещенность); 2) факторы, определяющие физико-химические свойства тестируемой среды, от которых зависит ее токсичность для тест-организмов (свежесть пробы, наличие в ней взвешенных частиц, гранулометрический состав и т. д.).

В результате биотестирования проб на основе регистрации показателей токсичности делают оценку токсичности по критериям, установленным для каждого тест-объекта. Результаты биотестирования опытной пробы с исследуемого участка сравнивают с контрольной, заведомо нетоксичной пробой и по разнице в контроле и опыте судят о наличии токсичности. При этом эффекты воздействия разделяют на острые и хронические. Их обозначают как острое и хроническое токсическое действие (ОТД и ХТД) или как острую и хроническую токсичность (ОТ и ХТ). Эти термины и используют для выражения результатов биотестирования.

- Острое токсическое действие — действие, проявляющееся за период экспозиции к токсическому фактору не более 96 ч и заканчивающееся гибелью организма. Токсикометрический критерий: ЛК₅₀ (LC₅₀) — летальная (смертельная) концентрация (lethal concentration), вызывающая гибель 50 % и более тест-организмов по сравнению с контролем за 96 ч экспозиции или ЛД₅₀ (LD₅₀) — летальная (смертельная) доза (lethal dose), вызывающая гибель 50 % и более тест-организмов за 96 ч экспозиции.

- Хроническое токсическое действие — действие, проявляющееся за период экспозиции к токсическому фактору более 96 ч и проявляющееся в специфическом симптомокомплексе отравления, который включает изменение внешнего вида, нарушение поведения и внешнего проявления физиологических функций организма. Измеряют по тест-реакциям: выживаемость, плодовитость, изменение роста, изменение массы, поведенческие реакции (двигательная активность, реакция избегания, интенсивность питания) и т. п. Токсикометрический критерий: ЭК₂₀ (EC₂₀) — эффективная концентрация (effect concentration), вызывающая изменения в регистрируемых параметрах у 50 % тест-организмов более чем за 96 ч экспозиции или ЭД₂₀ (ED₂₀) — эффективная доза (effect dose), вызывающая изменения в регистрируемых параметрах у 20 % тест-организмов за более чем 96 ч экспозиции.

4.5. Основные группы тест-организмов, применяемые для целей биотестирования

4.5.1. Низшие ветвистоусые ракообразные

Низшие ракообразные широко используются в биотестировании с начала XX в. Сегодня многие из них закреплены в качестве стандартных тест-культур в международных и российских документах по оценке качества водных сред. Самым распространенным тест-организмом, несомненно, является *Daphnia magna* (рис. 4.2).

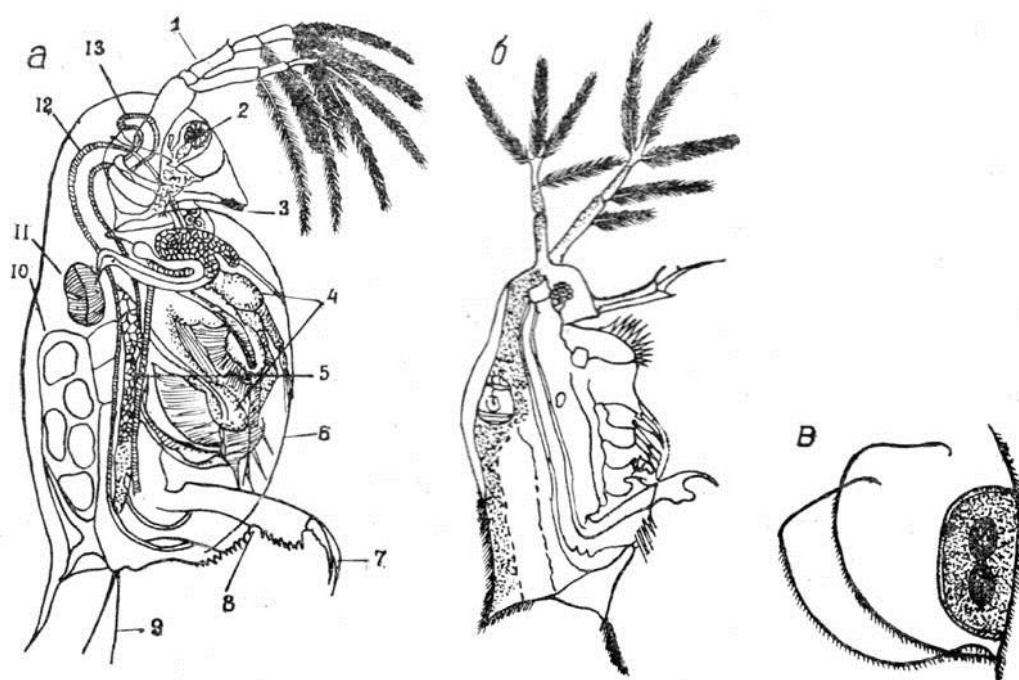


Рис. 4.2. Строение *Daphnia magna* Straus: а — самка (по РД 118-02-90): 1 — антенна, 2 — сложный глаз, 3 — антеннула, 4 — грудные ножки, 5 — яичник, 6 — створки панциря, 7 — каудальные когти, 8 — постабдомен, 9 — хвостовые щетинки, 10 — выводковая камера, 11 — сердце, 12 — кишечник, 13 — печеночные выросты; б — самец; в — внешний вид эфиппиума

Биологические особенности *D. magna* делают этих рачков ценными тест-организмами с явными преимуществами перед другими видами (Олькова, Фокина, 2015):

- удобство и относительная простота культивирования;
- использование генетически однородной молодежи в биотестировании, что обеспечивается партеногенетическим размноже-

нием и поддержанием синхронизированной культуры, которой считается группа особей, находящихся на одной стадии развития;

- быстрое созревание рачков: при оптимальной температуре ($+20 \pm 2$ °C) и хорошем питании — 5–8 суток, длительность эмбрионального развития 3–4 дня;

- регулярное (каждые 3–4 дня) и многочисленное появление молоди (количество молоди у молодых самок — 10–15, у зрелых — до 40 особей);

- достаточно высокий уровень организации (что особенно важно — наличие кровеносной и нервной систем), позволяющий экстраполировать токсикологические результаты на других многоклеточных представителей экосистем и даже человека;

- крупные размеры особей, дающие возможность проводить визуальные наблюдения за многими ответными реакциями без использования специальных средств измерения;

- чувствительность дафний к широкому спектру загрязняющих веществ;

- сравнительная простота выполнения эксперимента, не требующая высокой квалификации исполнителя.

В 1984 г. представители американской школы Д. Маунт и Т. Норберг предложили для целей биотестирования наряду с *D. magna* и *D. pulex* использовать вид *Ceriodaphnia affinis* (рис. 4.3).

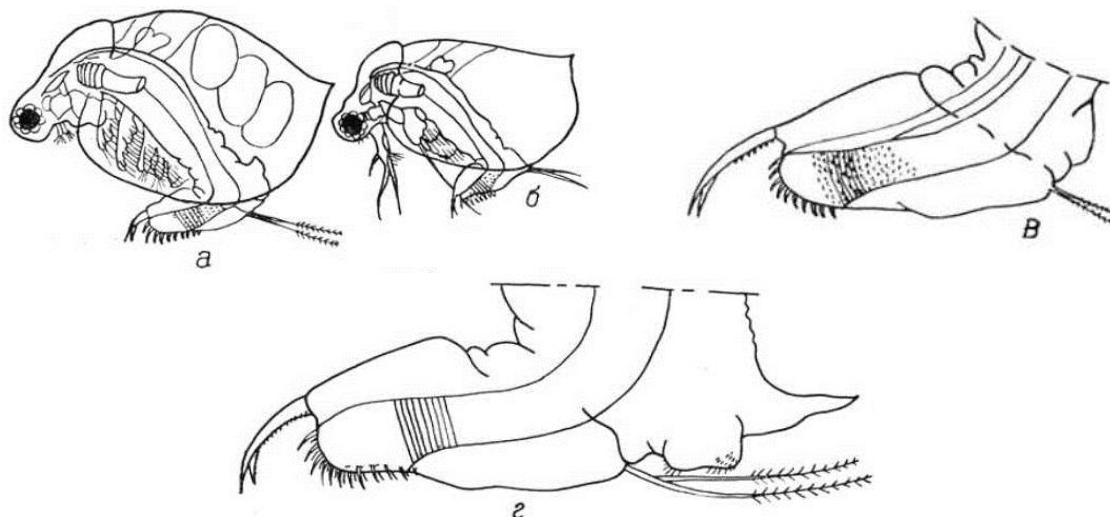


Рис. 4.3. Строение *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (по РД 118-02-90):
а — самка, б — самец, в — постабдомен самца,
г — постабдомен самки

По сравнению с тестом на дафниях он позволяет за более короткий срок дать заключение о наличии хронической токсичности водной среды.

4.5.2. Одноклеточные водоросли

Одноклеточные водоросли — следующая популярная группа тест-организмов, в основном это *Scenedesmus quadricaudata*, *S. capricornutum* и *Chlorella vulgaris* (рис. 4.4). Основные факторы, определяющие выбор одноклеточных водорослей в качестве тест-объектов, — это высокий темп деления клеток, способность водорослей развиваться в условиях клональной, моно- и смешанной культуры, приспособленность к регулярному пересеву. В качестве тест-параметра используют рост водоросли за 96 ч — интенсивность фотосинтеза, основанную на ассимиляции меченой углекислоты за 24 ч. В опытах с хлореллой учитывают видимые изменения, происходящие с колониями: изменение количества, размеров, цвета и структуры поверхности.

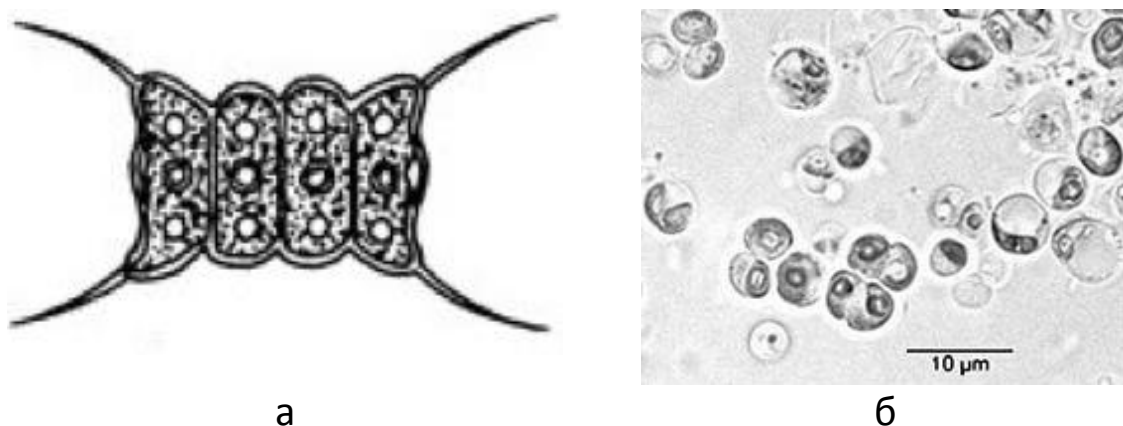
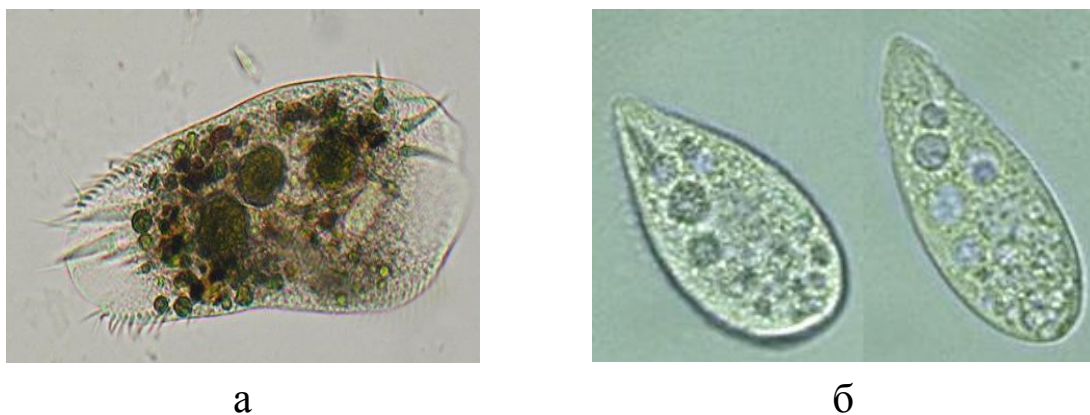


Рис. 4.4. Водоросли, используемые при биотестировании воды: *Scenedesmus quadricaudata* (а) и *Chlorella vulgaris* (б)

На современном этапе развития биотестирования чаще используются «приборные» методы по определению уровня флуоресценции хлорофилла клеток и прироста биомассы. Основным недостатком определения токсичности с использованием водорослей является высокая восприимчивость к биогенным элементам, что проявляется в стимуляции роста даже на фоне наличия в пробе токсических веществ.

4.5.3. Простейшие

Широкое распространение получили методы биотестирования, основанные на изучении роста особей простейших, чаще всего инфузорий. Эти тест-объекты имеют короткий жизненный цикл развития, технически легко выращиваются в больших количествах в лабораторных условиях и позволяют получать экспресс-информацию об интегральном качестве окружающей среды. Наиболее известные тест-организмы — инфузории *Tetrachymena pyriformis*, *Stylonichia mytilus*, *Paramecium caudatum* (рис. 4.5). Наряду с выживаемостью самой распространенной тест-реакцией является положительный или отрицательный хемотаксис. Кроме того, о токсичности среды можно судить и по некоторым физиологическим реакциям: образованию пищеварительных вакуолей и работе сократительных.



а
б
Рис. 4.5. Инфузории *Stylonichia mytilus* (а)
и *Tetrachymena pyriformis* (б)

Используется в качестве тест-объекта и инфузория *Spirostoma ambiguum* (рис. 4.6). (Сарапульцева, Тушмалова, 2011). Спиростомы широко распространены в природных водоемах и хорошо размножаются в лабораторных условиях. Относительно большие размеры (длина до 1 мм, ширина до 50 мкм) позволяют анализировать многие морфо-функциональные характеристики этих простейших, наблюдая за ними в микроскоп типа МБС-10 с увеличением $\times 2$. Регистрируемые параметры: двигательная активность, форма тела, темпы деления, выживаемость.

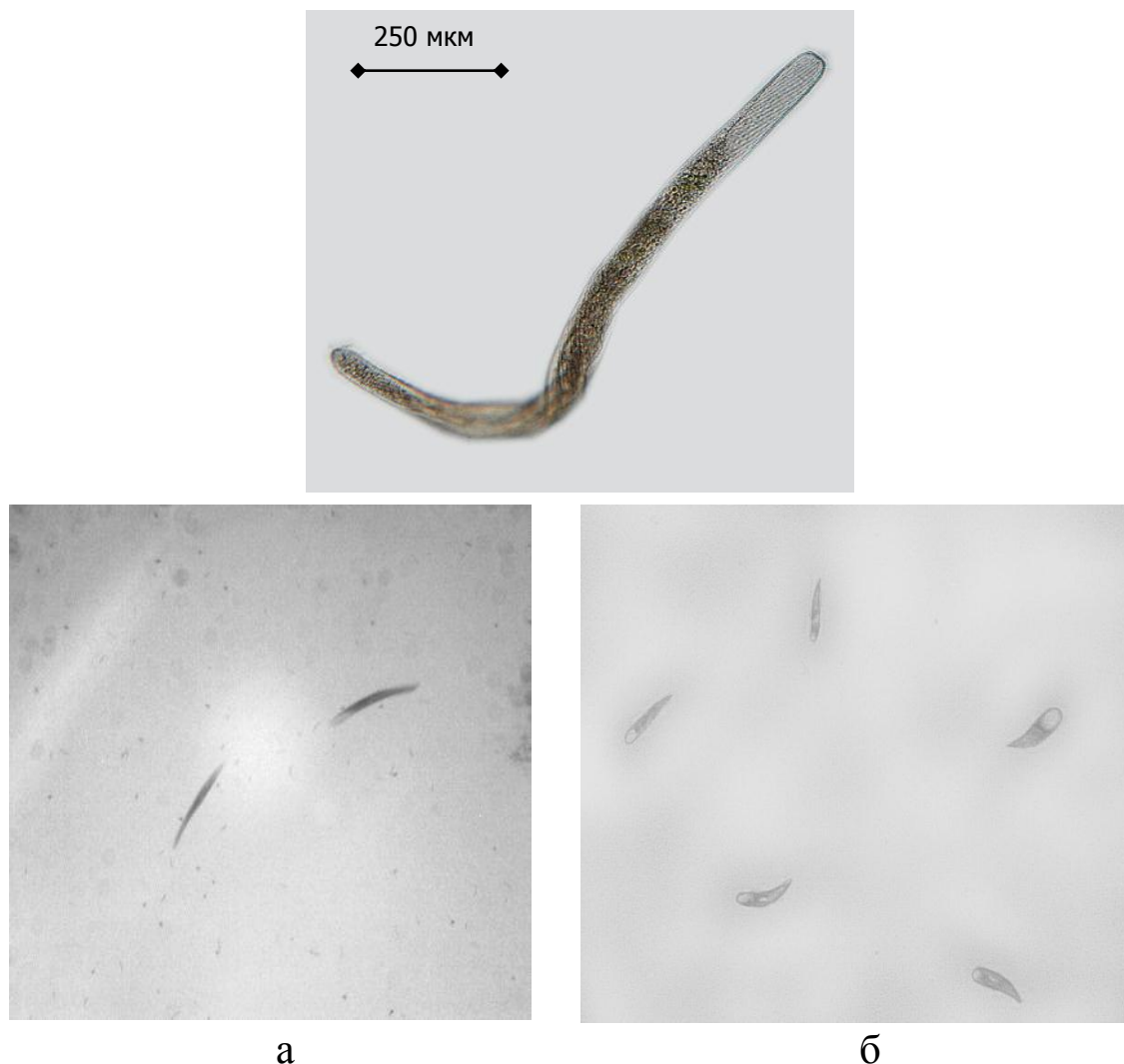


Рис. 4.6. Инфузория *Spirostoma ambiguum*. Изменение формы тела инфузории *S. ambiguum*: физиологическая норма (а) и сжатия в «каплю» (б) при облучении культуры γ -квантами (^{60}Co) в дозе 0.1 Грей при ЛД₅₀ 1000 Грей (увеличение $\times 7$)

4.5.4. РЫБЫ

Опыт токсикологических исследований свидетельствует, что и *рыбы* и дафнии являются лимитирующим объектом в 77 % случаев (Филенко, 1989). Для биотестирования используют аквариумных живородящих рыбок гуппи *Poecilla reticulata* Peters или данио *Danio rerio* (рис. 4.7). Регистрируемые параметры: выживаемость, продолжительность эмбрионального развития, количество выклюнувшихся свободных предличинок и число уродливых особей (рис. 4.8).

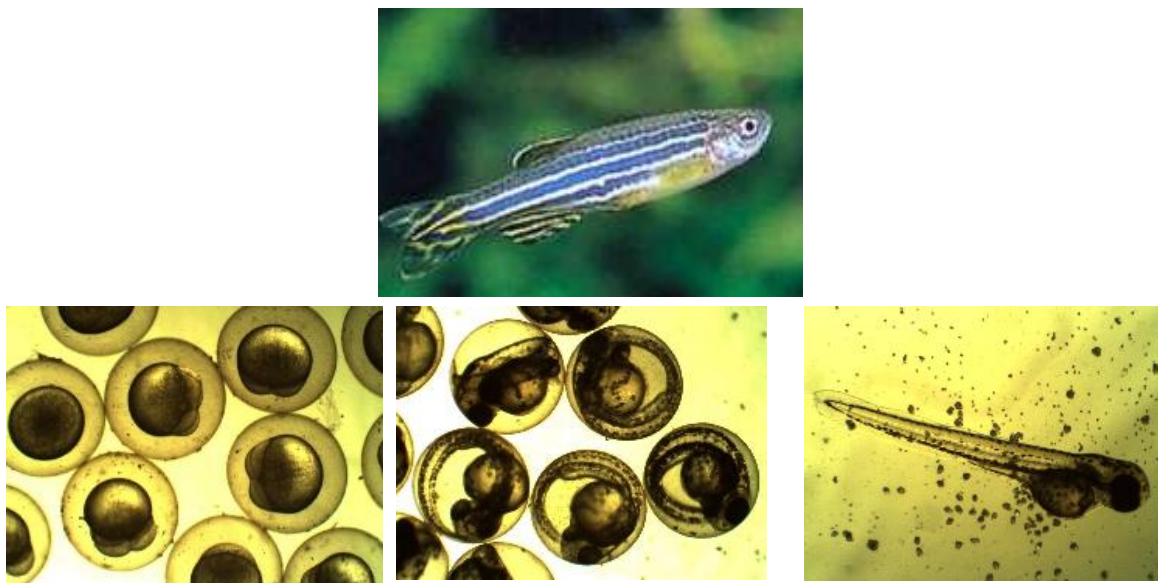


Рис. 4.7. Аквариумная рыбка *Danio rerio*
на разных стадиях развития

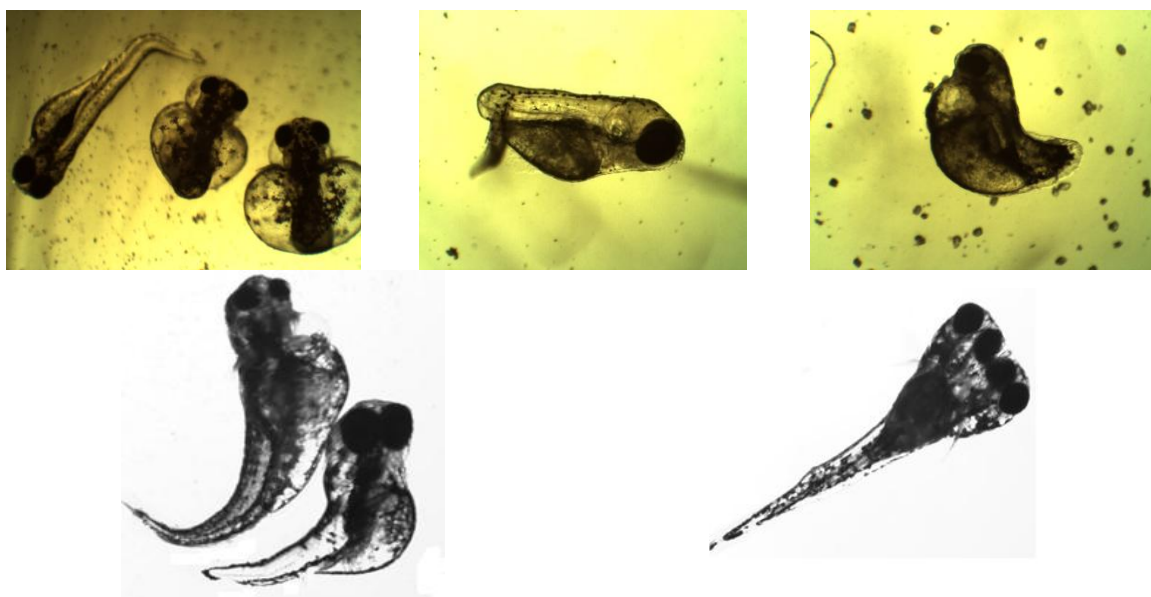


Рис. 4.8. Патоморфологические изменения личинок *Danio rerio*
при действии низких температур и токсических веществ
(наночастицы золота)

Некоторые из методов биотестирования используются только в научных исследованиях, другие аттестованы и допущены для экологического и государственного контроля. Специалистами Госкомэкологии РФ в 1997 г. рекомендовано использовать для государственного экологического контроля 8 тест-организмов (табл. 4.2).

Таблица 4.2

**Методы биотестирования, рекомендованные
для государственного экологического контроля (Жмур, 1997)**

Методы биотестирования	Тест-организмы	Критерии токсичности
Определение токсичности воды, почв и донных отложений по ферментативной активности бактерий	Лиофилизированные мутантные бактерии <i>Escherichia coli</i>	Изменение интенсивности окрашивания исследуемой среды
Определение токсичности воды по ингибированию темпа роста водорослей	Зеленые водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedecmus quadricauda</i>	Изменение численности клеток водорослей за 96 час экспозиции (острая токсичность). Изменение численности водорослей за 14 сут (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий	Инфузории <i>Paramecium caudatum</i>	Хемотаксическая реакция (хемотаксис)
Определение токсичности воды по жизнедеятельности дафний	Ветвистоусые рачки <i>Daphnia magna</i>	Смертность 50 % за 96 час (острая токсичность). Достоверное снижение плодовитости за 30 сут в сравнении с контролем (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды	Ветвистоусые рачки	Смертность 50 % за 48 час (острая

Методы биотестирования	Тест-организмы	Критерии токсичности
по жизнедеятельности цериодафний	<i>Ceriodaphnia dubia (affinis)</i>	токсичность). Достоверное снижение плодовитости за 7 сут в сравнении с контролем (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды по жизнедеятельности рыб	Рыбы <i>Poecilia reticulata</i> <i>Brachydanio (Danio) rerio</i>	Смертность 50 % за 96 час. Достоверное снижение плодовитости за 30 сут экспозиции

По мнению многих специалистов, универсальными тест-объектами по чувствительности, адекватности реагирования на содержание в воде различных загрязняющих веществ являются дафнии и цериодафнии. Однако при содержании тест-культуры возникают трудности, т. к. эти ветвистоусые рачки могут реагировать на присутствие в лаборатории паров различных химических веществ и фоновое загрязнение (например, железа) в культивационной воде.

Культивирование водорослей при тщательном соблюдении условий культивирования менее сложная процедура. Но при наличии в исследуемой воде повышенного содержания биогенных веществ сложно интерпретировать результаты из-за регистрируемого стимулирующего эффекта.

Использование в качестве тест-организма инфузорий упрощает процедуру биотестирования, но имеет свои трудности в интерпретации результатов. Так, *Paramecium caudatum* обладает низкой чувствительностью к содержанию тяжелых металлов, а к действию органических соединений может иметь положительный хемотаксис.

Использование аквариумных рыб в качестве тест-объекта характеризуется относительно низкой чувствительностью к действию токсических веществ и сложностью культивирования.

4.6. Контактные методы биотестирования

В последнее время активно развиваются *контактные методы биотестирования*, востребованные для оценки качества таких субстратов, как почва, донные отложения, твердые бытовые отходы. Особенно это касается донных отложений, т. к. использование донных отложений в качестве индикатора состояния водной среды имеет ряд преимуществ: во-первых, они имеют более длительную «память» на внешнее воздействие, чем такая динамичная среда, как вода. Во-вторых, уровни содержания химических элементов в донных отложениях на несколько порядков превышают их концентрацию в толще воды. В-третьих, относительно простая процедура отбора, хранения и подготовки проб делает такие работы доступными для сравнительно скромно оборудованных лабораторий.

Цель биотестирования донных отложений — определение опасности для бентосных организмов всего комплекса содержащихся в их составе загрязняющих веществ. Выбор тест-организмов для биотестирования донных отложений должен базироваться на соответствии природным реалиям и сообщениям практического характера. Так, для биотестирования твердой фазы должны использоваться организмы бентоса, для водной вытяжки — представители планктона. При этом необходимо соблюдать следующие условия:

- чувствительность тест-объектов к изучаемым веществам,
- возможность стандартизации используемых методик,
- обязательность прямого контакта тест-организмов с донными отложениями,
- возможность культивирования тест-организмов в лабораторных условиях или доступность при полевом сборе,
- возможность легкой идентификации и экологическая значимость используемых организмов.

В качестве тест-организмов при оценке токсичности нативных донных отложений используются поденки *Hexagenia limbata* (рис. 4.9). Регистрируемые показатели: смертность, сроки линьки и реакции избегания. Изменения в поведении поденки при строительстве норки могут также служить признаком загрязнения донных отложений токсикантами.



Рис. 4.9. Поденка *Hexagenia limbata*



Рис. 4.10. Разные стадии развития комара-звонца *Chironomus riparius*

Виды рода *Chironomus* широко применяются при тестировании цельного грунта, который служит одновременно и местом обитания, и питательным субстратом. Личинки комаров считаются относительно нечувствительными тест-организмами. В качестве тест-объектов используются такие виды, как *Chironomus riparius* Meigen, 1804 (рис. 4.10); *Ch. plumosus* Linnaeus, 1758; *Ch. dorsalis*, Meigen, 1818, *Ch. decorus* Kosalwat, Knight, 1987, *Paratanytarsus parthenogeneticus*. Регистрируемые параметры: выживаемость, продолжительность развития до окукливания, линейный рост, процент вылета имаго.

В качестве дополнительного показателя используют частоту встречаемости морфологических нарушений хирономид, в том числе деформаций ротового аппарата (рис. 4.11, 4.12).

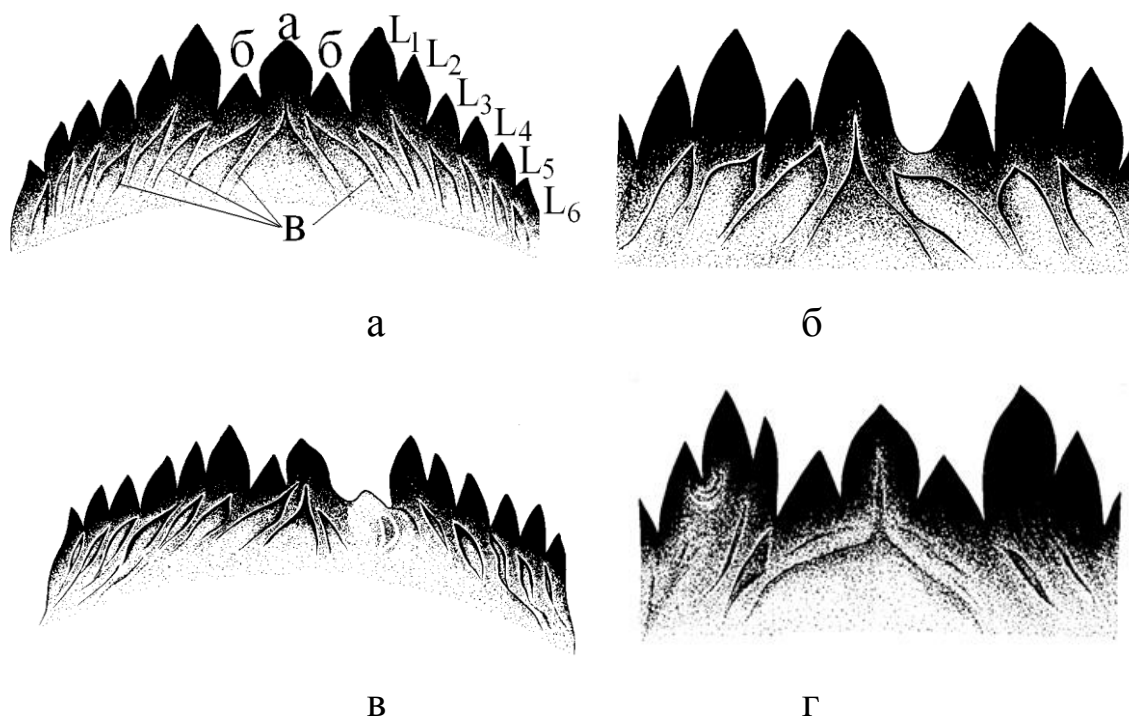


Рис. 4.11. Тератогенное действие наночастиц ZnO на строение ментума личинок *Chironomus riparius*: а — нормальное строение, б, в — срединные деформации, г — латеральная деформация

Для адекватной оценки качества донных отложений тесты по определению токсичности донных отложений желательно проводить в комбинации с другими методами, такими как оценка состояния бентосных сообществ. Видовой состав и количественные характеристики бентосных организмов служат хорошим, а в ряде случаев и единственным гидробиологическим показателем загрязнения грунта. В достаточно чистых водоемах донные сообщества в хорошо аэрируемых участках дна характеризуется высоким видовым разнообразием, что свидетельствует о нормальном их состоянии. В загрязненных водоемах выпадают группы организмов, наиболее чувствительных к отдельным загрязнителям, происходит видоизменение состава биоценоза, иногда катастрофическое. Однако изменение структуры бентосного сообщества или отсутствие тех или иных видов бентосных организмов не обязательно является следствием токсического эффекта.

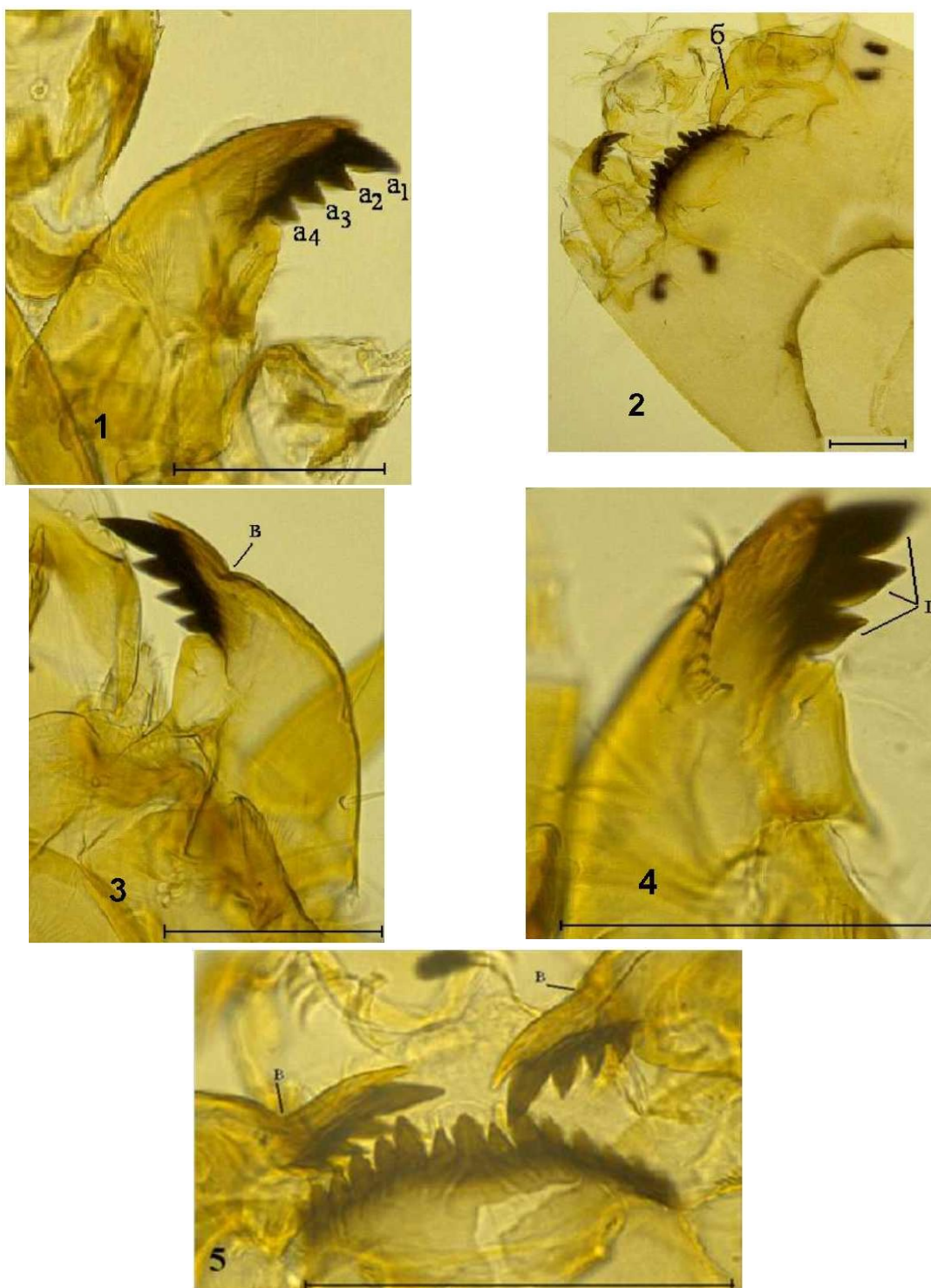


Рис. 4.12. Мандибулы личинок *Chironomus riparius*, экспонированных к различным наночастицам: 1 — контроль; 2, 3 — диоксид титана, рутил, 2 мг/л, 4 — диоксид титана, анатаз, 2 мг/л, 5 — оксид цинка, 20 мг/л; а — норма, б — полная трансформация мандибулы, в — прогиб дорзальной части мандибул, г — сокращение числа пигментированных зубцов до трех

4.7. Специализированные методы биотестирования

Заслуживают внимания *специализированные методы биотестирования*: интенсивно развиваются *биосенсорные* методы выявления токсичности вод. Биосенсорами, т. е. чувствительными элементами в них, служат ферменты, антитела, нуклеиновые кислоты, микробные клетки. К числу явных преимуществ биосенсорных методов анализа можно отнести их направленность на определение конкретных загрязняющих веществ. При разработке новых биосенсорных методик биотестирования токсичности водной среды особое внимание в ряду тест-объектов занимают светящиеся бактерии. Природные штаммы этих бактерий, а также генно-инженерные конструкции используют в качестве биологической основы биосенсоров — биоэлектронных систем, позволяющих в режиме *on line* регистрировать гибель или изменение параметров метаболизма живых систем.

Самый известный пример коммерческого биосенсора — это биосенсор для измерения уровня глюкозы в крови, в котором используется фермент глюкозооксидаза для расщепления содержащейся в крови глюкозы.

В основе механизма действия *биочипов* лежит молекулярное распознавание анализируемых молекул молекулами-биополимерами, нанесенными на чип. Распознавание построено либо на взаимодействии рецепторов с лигандами (например, антител с антигенами), либо на гибридизации комплементарных цепей ДНК. Устройство представляет собой обычно стеклянную или пластиковую пластину с микротестами на основе ДНК или белков, чаще ферментативных, которые при облучении светом могут излучать люминесценцию разного цвета. На поверхности ДНК-чипа иммобилизованы олигонуклеотиды. При добавлении анализируемого образца комплементарная таргетная ДНК в образце формирует дуплекс с олигонуклеотидом на чипе. В результате генерируется сигнал, свидетельствующий о наличии в пробе соответствующего объекта (инфекции, онкомаркера и т. п.).

Технология микрочипов нашла широкое применение в связи с высокой чувствительностью, специфичностью, простотой

выполнения, широким спектром анализа и, конечно, низкой стоимостью проведения процедуры.

4.8. «Приборные» методы биотестирования

4.8.1. *Microtox, Toxcontrol Biomonitor, «Биотокс»*

Предназначен для быстрого количественного контроля на основе биолюминесцентного анализа степени интегральной токсичности проб воды и водных вытяжек из различных объектов окружающей среды в лабораторных условиях для медицинских, санитарно-гигиенических, экологических целей. Регистрируемые параметры: интенсивность биолюминесценции лиофилизированных морских люминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum*.

В РФ на основе генно-инженерной технологии разработан биосенсор «Эколюм», который был положен в основу прибора «Биотокс-10». Основные области применения: 1) исследование питьевой воды, природных водоемов, почвы и воздуха на содержание вредных веществ; 2) контроль возможной токсичности материалов и лекарственных средств; 3) контроль безопасности продуктов питания.

4.8.2. *Algae Toximeter*

Образец тестируемой воды постоянно накачивается в тестовую камеру *Algae Toximeter*, где концентрация и активность живущих в природе водорослей, т. е. смеси разных видов, определяется с помощью фотосинтетической активности хлорофилла в зеленых водорослях. Затем точно определенное количество водорослей из ферментера добавляется в тестовую камеру. Активность добавленных водорослей остается постоянной до тех пор, пока в воде не появятся вредные вещества. В случае наличия химического соединения его взаимодействие с центрами фотосинтеза приводит к подавлению активности водорослей (и продукции кислорода). Это подавление измеряется количественно, и после превышения заранее выбранного порога срабатывает сигнал тревоги. Применяется для системы водоснабжения, мониторинга поверхностных вод, мониторинга очищенных сточных вод.

4.8.3. Daphnia Toximeter

Система раннего оповещения, включающая плавательное поведение планктонных рачков дафний, использовалась многие годы для биомониторинга поверхностных вод. В последние годы была разработана улучшенная система, использующая анализ видеоизображения рачков. Тестируемая вода постоянно проходит через камеру с дафниями. Фотоснимки, записанные вэб-камерой, обрабатываются в реальном времени. Проводится анализ следующих изменений в поведении тест-организмов: статистически значимые изменения скорости движения (средней скорости, распределения по скоростям, высоты плавания), пространственное расположение рачков в колонке воды, фрактальные показатели размерности (измерения поворотов и круговых движений, закручиваний), определение количества и размера дафний (рост).

4.8.4. Fish Toximeter

Разработана система биомониторинга на основе использования рыб в качестве тест-организмов. Первоначально хемотаксис и эффект избегания были теми изменениями в поведении, которые использовались как индикаторы наличия токсиантов в воде. Рыбам позволялось выбирать между водой из чистого источника и тестируемой водой (дихотомические каналы). Параллельно положительный реотаксис (свойство плыть против течения) и способность сопротивляться потоку (стамина) были использованы как биологические ответы, которые нашли применение в системе Aqua-Tox-Control.

В настоящее время в качестве модельного тест-объекта используется *Danio rerio*. Регистрируемые параметры: скорость движения, местоположение в пространстве, повороты, вращательные движения, живые/мертвые особи, ростовые показатели.

4.8.5. MosselMonitor®, Dreissena Monitor®

Биологическая система, разработанная в Нидерландах и производимая под торговой маркой «Musselmonitor», применяемая во многих странах мира в основном для контроля пресных, иногда прибрежных морских вод, а также в водопроводе Будапешта

(Венгрия) для контроля качества хлорированной питьевой воды путем мониторинга степени раскрытия раковин двустворчатых моллюсков. Принцип работы этой системы, впервые примененной в 1980-е гг. (Kramer et al., 1989), заключается в том, что при дыхании и питании створки раковин моллюсков открыты. При стрессе они закрывают створки, и это рассматривается как поведение избегания. При стрессе, вызванном химическим загрязнением воды, моллюски могут значительно изменять частоту открытий-закрываний. При измерении текущее поведение створок сравнивается с поведением створок того же моллюска примерно за 1 час до этого. Значительные изменения, когда, например, 5 из 8 моллюсков закрыты в течение 5 минут, приводят к выработке сигнала тревоги (de Zwart et al., 1995).

Перечисленные методы не исчерпывают области применения биотестов для оценки загрязнения окружающей среды и прогноза влияния токсикантов на живую природу. На современном этапе основной принцип практического лабораторного биотестирования водных сред — применение одновременно 3–4 методов с использованием тест-организмов, представляющих разные трофические группы: бактерии (сапрофиты и нитрофикаторы), осуществляющие процессы самоочищения; водоросли и высшие растения — первичные продуценты, дающие начало большинству пищевых цепей в водоеме; дафнии, один из основных фильтраторов и седиментаторов в пресных водоемах (Гелашвили и др., 2016). Все условия проведения биотестирования (световой и температурный режимы, газообмен и состав культивационных сред) должны быть максимально стандартизированы. Это важно для получения воспроизводимых результатов, выполняемых в разных лабораториях.

Методы биотестирования прочно закрепились в природоохранной практике, хотя перечень используемых аттестованных методик и тест-функций ограничен. Наблюдается большой разрыв между научными разработками и их внедрением. Необходима разработка новых методик биотестирования, ориентированных на оценку тест-функций ранней диагностики, предусматривающих использование современного оборудования, облегчающего анализ и повышающего его точность (Олькова, 2014).

5. БИОИНДИКАЦИЯ

5.1. Понятие о биоиндикаторах

Индикаты, или **объекты индикации**, — это различные природные тела (горные породы, полезные ископаемые, почва, содержание гумуса и биогенных элементов в почве) или нарушение природной среды (загрязнение почвы, атмосферы, воды, донных отложений) (Булохов, 2004).

Индикаторы — показатели, которые используются для обнаружения индиката или его изменения.

Биоиндикация — оценка качества среды обитания и ее отдельных характеристик по состоянию ее биоты в природных условиях (Снакин, 2008). В гидробиологии **биоиндикация** — это обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик различных биоценозов гидробионтов (Никаноров, Иваник, 2014).

При биоиндикации изменения биологических систем всегда зависят как от антропогенных, так и от природных факторов среды. Эти системы реагируют на воздействие среды в целом в соответствии со своей предрасположенностью, т. е. такими внутренними факторами, как условия питания, возраст, генетически контролируемая устойчивость и уже имеющиеся нарушения.

Если различные антропогенные факторы вызывают одинаковые реакции, то говорят о **неспецифической биоиндикации**. Если же те или иные происходящие изменения можно связать только с одним фактором, речь идет о **специфической биоиндикации** (Биологический контроль..., 2007).

Биоиндикаторы (от гр. *bios* — жизнь и лат. *indico* — указываю, определяю) — организмы, присутствие, количество или особенности развития которых служат показателями естественных процессов, условий или антропогенных изменений среды (Снакин, 2008). Среди индикаторов выделяют две группы: **экзоиндикаторы** (непосредственно видимые) и **эндоиндикаторы** (скрытые, в какой-то мере замаскированные).

Индикаторы по характеру связи с индикатами делят на **прямые** и **косвенные**. К прямым относят те, которые имеют непосредственную связь с индикатами, а к косвенным — те, которые связаны с индикатами через промежуточное звено.

По степени связи с индикатами индикаторы разделяют на **панареальные, региональные** и **локальные**. **Панареальные** сохраняют свою индикаторную ценность и тесную связь с индикатом на всей территории ареала вида или сообщества. **Региональные** индикаторы сохраняют свое значение лишь в пределах данной или нескольких территорий со сходными физико-географическими условиями. **Локальные** индикаторы сохраняют устойчивую связь с индикатами только в узком физико-географическом районе (Булохов, 2004).

В зависимости от типа ответной реакции биоиндикаторы подразделяют на **чувствительные** и **кумулятивные**. Чувствительные биоиндикаторы реагируют на стресс значительным отклонением от жизненных норм, а кумулятивные накапливают антропогенное воздействие, значительно превышающее нормальный уровень в природе, без видимых изменений (Биологический контроль..., 2007).

Индикаторная значимость определяется экологической толерантностью биологической системы. В пределах зоны толерантности организм способен поддерживать свой гомеостаз. Любой фактор, если он выходит за пределы «зоны комфорта» для данного организма, является стрессовым. В этом случае ответная реакция организма различается по интенсивности и длительности, а характер ответа зависит от вида и является показателем его индикаторной ценности (Биологический контроль..., 2007).

В качестве биоиндикаторов могут быть использованы представители всех «царств» живой природы и их сообщества (Биологический контроль..., 2007).

Использование методов биоиндикации имеет ряд ограничений:

1. Необходимость привлечения специалистов-биологов различного, иногда достаточно узкого профиля.

2. В ряде случаев биоиндикаторы не способны обозначить основную причину изменений, происходящих в природных экосистемах при одновременном воздействии многих факторов.

3. До сих пор не разработаны универсальные шкалы измерения силы (уровня) ответных реакций биоиндикаторов, позволяющие определить порог предельно допустимого отклонения значений биологических параметров от нормы (Котегов, 2007).

5.2. Требования, предъявляемые к биоиндикаторам

Требования, предъявляемые к биологическим индикаторам фоновых уровней загрязнения, выработаны эмпирически и в основном сводятся к следующему (Степанов, 1988).

1. Широкий ареал. Эндемичные виды и даже виды с узким ареалом не обеспечивают охвата всего многообразия физико-географических и иных условий достаточно крупных регионов (однако такие виды могут быть использованы при определении регионального фона загрязняющих компонентов и сдвигов в специфических для региона экосистемах).

2. Эвритопность. Виды, приуроченные к определенным стадиям сукцессии, не подходят для биоиндикационных исследований. С другой стороны, при работе с высокоэвритопными видами следует учитывать стадии сукцессии, на которых проводятся наблюдения. В противном случае в трактовке результатов могут быть ошибки.

3. Оседлость. Популяция будет адекватно отражать степень антропогенного воздействия (в том числе уровень загрязнения), если она постоянно находится в данном регионе и на всех стадиях жизненного цикла контактирует с загрязняющими компонентами. Максимально допустимая миграция вида должна ограничиваться рамками одного ботанико-географического района.

4. Антисинантропность. Виды-индикаторы должны принадлежать к естественным сообществам и не быть связанными с человеком. Синантропные виды, питающиеся около населенных пунктов, не могут характеризовать загрязненность обсле-

дуемого региона и, с другой стороны, не отражают степень адаптации естественных сообществ к загрязнению.

5. Индикационная пластичность вида. Наиболее удобен для биоиндикации загрязнений вид, совмещающий чувствительность и толерантность, т. е. способность функционировать при поступлении больших доз загрязняющих компонентов. При прочих равных условиях предпочтение следует отдавать организмам с коротким жизненным циклом, накопление экотоксикантов у которых отражает их содержание в окружающей среде в данный момент.

6. Достаточная масса пробы. Для получения представительных и пригодных для сопоставления с установленными в иных регионах (или в другое время) результатов приходится отбирать довольно большие пробы.

7. Удобство отбора проб. Биоиндикатор должен находиться в условиях, удобных для отбора проб (Исидоров, 1999).

8. Кумулятивные индикаторы должны характеризоваться положительной корреляцией между концентрацией загрязняющих веществ в организме-индикаторе и объекте исследования (Биологический контроль..., 2007).

5.3. Биоиндикация загрязнения атмосферы

Атмосферный воздух представляет собой смесь определенных газов, повсюду на Земле представленных приблизительно в равных объемных долях. Загрязненным считается воздух, если в нем имеются вещества в таких количествах и в течение такого времени, что создают опасность для человека, животных и растений.

Основным источником загрязнения атмосферы можно считать процессы горения, а они неотделимы от современной жизни человечества (Уорк, Уорнер, 1980). В процессах горения выделяются сложные смеси оксидов углерода, серы, азота, сажа, несгоревшие углеводороды и примеси, зависящие от вида топлива, — все они являются загрязнителями атмосферы.

5.3.1. Лихеноиндикация

Лихеноиндикация — процедура определения качества воздуха с помощью лишайников.

Лишайники — симбиотическая ассоциация водорослей (фикобионт) и грибов (микобионт). В роли фикобионта, кроме зеленых и желто-зеленых водорослей, могут выступать сине-зеленые водоросли и фототрофные простейшие. Микобионты лишайников — грибы, принадлежащие к классам сумчатых и реже базидиомицетов. Гриб получает от фикобионта органические вещества, снабжая их водой и растворенными минеральными солями, предоставляя им среду обитания, защищая от пересыхания.

Основные причины низкой устойчивости лишайников к атмосферному загрязнению:

- высокая чувствительность фикобионта, пигменты которого под действием загрязнителей быстро разрушаются;
- отсутствие защитных покровов и связанное с этим беспрепятственное поглощение газов слоевищами лишайников;
- повышенная требовательность к кислотности субстрата, изменение которой сверх определенного предела приводит к гибели лишайников;
- небольшие размеры тела и значительная продолжительность жизни (30–100 лет).

Выделяют 4 основные экологические группы лишайников:

1. *Эпифитные* — растущие на коре деревьев и кустарников.
2. *Эпигейные* — на почве.
3. *Эпиксильные* — на гниющей древесине.
4. *Эпилитные* — на камнях.

Из них наиболее чувствительны к загрязнению воздуха эпифитные виды (Каплин, 2001).

По типу слоевища лишайники делят на накипные, листоватые и кустистые. *Накипные* имеют слоевище в виде тонкой корочки и очень плотно срастаются с субстратом, отделить их без повреждений субстрата нельзя. *Листоватые* имеют вид мелких чешуек или пластинок, прикрепляются пучками грибных гиф и легко отделяются от субстрата. *Кустистые* имеют вид тонких нитей или более ветвящихся кустиков, прикрепляющихся к субстрату своими основаниями.

Наиболее устойчивыми к загрязнениям являются накипные лишайники, среднеустойчивы листоватые, а слабоустойчивы кустистые лишайники.

Первый метод лишеноиндикации основан на использовании соотношения проективного покрытия ствола дерева лишайниками, суммарного количества видов лишайников и доминантного вида (табл. 5.1, 5.2).

Таблица 5.1

***Журнал оценки качества воздуха
по проективному покрытию ствола дерева***

Порядковый номер дерева на схеме	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Проективное покрытие лишайников, %									
Количество видов лишайников									
Количество лишайников доминирующего вида									

Таблица 5.2

***Шкала качества воздуха
по проективному покрытию лишайников
на стволах деревьев***

Степень покрытия, %	Число видов	Число лишайников доминантного вида	Степень загрязнения
Более 50	> 5	> 5	6-я зона. Очень чистый воздух
	3–5	> 5	5-я зона. Чистый воздух
	2–5	< 5	4-я зона. Относительно чистый воздух
20-50	> 5	> 5	4-я зона. Относительно чистый воздух
	> 2	< 5	3-я зона. Умеренное загрязнение
< 20	3–5	< 5	2-я зона. Сильное загрязнение

Степень покрытия, %	Число видов	Число лишайников доминантного вида	Степень загрязнения
	0–2	< 5	1-я зона. Очень сильное загрязнение

Второй метод основан на использовании рабочей шкалы, в которой приведена наиболее часто встречаемая последовательность исчезновения индикаторных лишайников по мере увеличения загрязнения (табл. 5.3, 5.4).

Таблица 5.3

Рабочая шкала для определения биотического индекса

Организмы	Число видов	Общее количество лишайников				
		0–1	2–4	5–7	8–10	> 11
Уснея (<i>Usnea</i> sp.), алектория (<i>Alectoria/Bryoria</i> sp.)	> 1 вида	–	7	8	9	10
	1 вид	–	6	7	8	9
Эверния (<i>Evernia</i> sp.), анаптихия (<i>Anaptychia ciliaris</i>), рамалина (<i>Ramalina farinacea</i>)	> 1 вида	–	6	7	8	9
	1 вид	–	5	6	7	8
Пармелия (<i>Parmelia</i> sp.), гипогимния (<i>Hypogymnia physodes</i>)	> 1 вида	–	5	6	7	8
	1 вид	3	4	5	6	7
Ксантиория (<i>Xantoria parietina</i>), фисция (<i>Physcia pulverulenta</i>)	> 1 вида	3	4	5	6	7
	1 вид	2	3	4	5	6
Леканора (<i>Lecanora</i> sp.), графис (<i>Graphis scripta</i>), другие накипные лишайники	Все виды	1	2	3	–	–

Для проведения исследования в полевых условиях потребуются увеличительные стекла (лупы), определители лишайников, компас. Для оценки проективного покрытия лишайников необходимо изготовить специальное приспособление — палет-

ку из толстого полиэтилена в виде квадратов размером 20х20 см, разделив каждую сторону на 10 частей. В результате получается прозрачная сетка, которой покрывают ствол дерева и оценивают степень покрытия его поверхности лишайником.

Таблица 5.4

Классификация качества воздуха по биотическому индексу

Класс качества	Степень загрязнения	Биотический индекс
6	6-я зона: очень чистый воздух $C_{SO_2} = < 0,005 \text{ мг/м}^3$	10
5	5-я зона: чистый воздух $C_{SO_2} = 0,005–0,009 \text{ мг/м}^3$	7–9
4	4-я зона: относительно чистый воздух $C_{SO_2} = 0,01–0,05 \text{ мг/м}^3$	5–6
3	3-я зона: умеренное загрязнение $C_{SO_2} = 0,05–0,1 \text{ мг/м}^3$	4
2	2-я зона: сильное загрязнение $C_{SO_2} = 0,1–0,3 \text{ мг/м}^3$	2–3
1	1-я зона: очень сильное загрязнение $C_{SO_2} = 0,3–0,5 \text{ мг/м}^3$	0–1

Алгоритм определения площади проективного покрытия лишайниками ствола дерева:

- 1) выбрать место обследования, обозначить его на карте;
- 2) выбрать площадку для исследования, включающую 10 деревьев одного вида (одного размера и возраста, без повреждений) на расстоянии 5–10 м друг от друга;
- 3) приложить прозрачную сетку плотно к стволу дерева на высоте 0,3–1,3 м, подсчитать количество квадратов с лишайниками;
- 4) подсчитать количество всех видов лишайников под прозрачной сеткой;
- 5) подсчитать количество лишайников доминирующего вида (Биологический контроль..., 2007).

5.3.2. Фитоиндикация

Фитоиндикация — это практическое применение различных признаков и свойств отдельных растений или растительных сообществ и их комплексов для получения качественной, а иногда и количественной характеристики среды (Булохов, 2004).

Фитобиоиндикация обладает следующими достоинствами как метод оценки состояния окружающей среды:

- высокая чувствительность — регистрируются уровни загрязнения воздуха в 3–5 раз ниже санитарно-гигиенических ПДК;
- позволяет определять уровни загрязнения воздуха на обширных территориях;
- определять степень и опасность воздействия загрязнителей на экосистемы;
- изучать характер антропогенной регрессии компонентов экосистем.

К индикаторным признакам растений относятся:

- флористические (различия в видовом составе);
- физиолого-биохимические (характеристики химического состава, обмена веществ, их аномалии, особенности состава пигментов, определяющих цвет растений);
- эколого-физиологические, в частности отношение к воде, засолению почв, характеру субстрата и т. д. (выявление керофитов, мезофитов, галофитов, петрофитов и др.);
- морфологические (размеры, особенности внешнего и внутреннего строения растений, в частности ветвления, пролиферации, искривлений и других отклонений, ширина годичных колец и др.);
- эколого-морфологические (особенности жизненных форм);
- онтогенетические признаки (особенности фенологии, длительность развития);
- ассоциированность видов, синузальная, вертикальная и горизонтальная структура сообществ (особенности сложения ярусов, микрогруппировок, микрофитоценозов);
- взаимоотношения и динамика сообществ в пространстве и во времени (сукцессии) и др. (Каплин, 2001).

Чувствительные фитоиндикаторы указывают на наличие загрязняющего вещества в воздухе или в почве ранними мор-

фологическими реакциями — изменением окраски листьев (появлениями хлорозов; желтая, бурая или бронзовая окраска), различной формы некрозами, преждевременными увяданиями и опаданием листы. У многолетних растений загрязняющие вещества вызывают изменение размеров, формы, количества органов, направления роста побегов или изменение плодovitости. Подобные реакции обычно неспецифичны.

Некоторые естественные факторы могут вызывать симптомы, сходные с антропогенными нарушениями. Так, например, хлороз листьев является общим симптомом для растений, обычно вызываемый недостатком какого-либо питательного вещества (например, железа). Поэтому при определении морфологических изменений у растений необходимо учитывать возможность действия других повреждающих факторов.

Индикаторы другого типа представляют собой растения-аккумуляторы. Они накапливают в тканях загрязняющее вещество или вредные продукты метаболизма, образуемые под действием загрязняющих веществ, без видимых изменений. При превышении порога токсичности ядовитого вещества для данного вида проявляются различные ответные реакции, выражающиеся в изменении скорости роста и длительности фенологических фаз, биометрических показателей, в конечном счете снижении продуктивности (Биологический контроль..., 2007).

Таблица 5.5

***Растения-биоиндикаторы компонентов,
загрязняющих воздух***

Растения	Загрязняющие компоненты	Симптомы повреждения
Табак, шпинат, томат, белая сосна	Озон	Некротические пятна, посеребрение листьев
Фасоль, шпинат, салат	Хлор	Побледнение листьев, деформация хлоропластов
Табак, крапива жгучая, мятлик	Пероксиацетил-нитрат (ПАН)	Полосчатые некрозы

Растения	Загрязняющие компоненты	Симптомы повреждения
однолетний, петуния		
Люцерна, гречиха, горох, подорожник большой, шпинат, салат, хлопок, хвоя сосны	Диоксид серы	Межжилковые некрозы и хлорозы, дефолиация
Сельдерей, махор- ка, шпинат	Диоксид азота	Межжилковые некрозы
Смородина	Диоксид серы	Покраснение листьев
Персики, яблоня, слива, вишня, лук, петрушка, тюль- пан, виноград, ландыш, гладио- лусы	Фтористый водород	Некроз верхушек и края листа
Горчица белая, конский каштан, мхи	Pb, Cu, Mn, Cd, Zn	Накопление в сухом веществе

Примером фитобиоиндикации является высаживание индикаторных растений в промышленной зоне вокруг предприятий.

5.3.2.1. Флуктуирующая асимметрия древесных и травянистых форм растений

Флуктуирующая асимметрия — ненаправленные различия между правой и левой сторонами различных морфологических структур, в норме обладающих билатеральной симметрией (Боголюбов, 2002). Такие различия обычно являются результатом ошибок в ходе развития организма. При нормальных условиях их уровень минимален, возрастая при любом стрессирующем воздействии, что и приводит к увеличению асимметрии.

Теоретически исследования флуктуирующей асимметрии можно проводить на любых билатеральных (симметрично ор-

ганизованных) объектах — будь то животные или растения. Однако чем проще устроен организм и чем он крупнее, тем проще проводить измерения. Потому удобным для организации подобных исследований модельным объектом являются листья листопадных деревьев. Это могут быть такие виды деревьев, как клен остролистный, тополь бальзамический, береза повислая или пушистая.

Отбор материала должен проводиться с растений, находящихся в примерно одинаковых экологических условиях по уровню освещенности, влажности, типу биотопа.

Сбор листьев следует проводить после остановки роста листьев (в средней полосе начиная с июля, 1 раз) с 10 близко растущих деревьев — по 10 листьев с каждого дерева, всего — 100 листьев с одной площадки. Следует брать несколько больше листьев с площадки, на случай попадания поврежденных листьев.

Листья с одного растения хранятся отдельно, для того чтобы в дальнейшем можно было проанализировать полученные результаты индивидуально для каждой особи. Листья складывают в полиэтиленовый пакет и вкладывают туда этикетку (номер выборки, место сбора, дата). При выборе деревьев следует учесть четкость определения принадлежности растений к исследуемому виду.

У березы повислой листья собирают из нижней части кроны дерева с максимального количества доступных веток равномерно вокруг дерева. Размеры листьев должны быть сходными, средними для данного дерева. Материал либо хранят в холодильнике, либо гербаризируют, либо фиксируют в 60 %-м растворе этилового спирта. С каждого листа снимают промеры с левой и правой сторон листа и высчитывают показатель асимметрии (Методические рекомендации..., 2003).

Для получения надежных данных следует запланировать сбор материала на различных участках — с заведомо различными уровнями антропогенного воздействия.

Лабораторная обработка материала. Для обработки собранного материала необходимы линейка, циркуль-измеритель и транспортир.

С каждого листа снимают показатели по 5 параметрам с левой и правой стороны листа:

1 — ширина половинки листа. Для измерения лист складывают поперек пополам, прикладывая макушку листа к основанию, потом разгибают и по образовавшейся складке производят измерения;

2 — длина второй жилки второго порядка от основания листа;

3 — расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка;

4 — расстояние между концами этих жилок;

5 — угол между главной жилкой и второй от основания жилкой второго порядка (рис. 5.1).

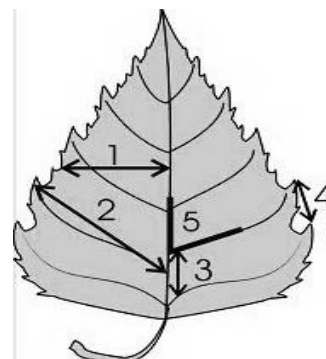


Рис. 5.1. Параметры листа березы

Вычисления

Величина асимметричности оценивается с помощью интегрального показателя величины среднего относительного различия на признак (средняя арифметическая отношения разности к сумме промеров листа слева и справа, отнесенная к числу признаков). При анализе комплекса морфологических признаков лучше использовать интегральные показатели стабильности развития.

Расчет интегрального показателя производят по методике В. М. Захарова (см. табл. 5.6):

1) для каждого промеренного листа вычисляют относительные величины асимметрии для каждого признака, для этого разность между промерами слева (Л) и справа (П) делят на сумму этих же промеров: $(Л - П) / (Л + П)$;

2) вычисляют показатель асимметрии для каждого листа, для этого суммируют значения относительных величин асимметрии по каждому признаку и делят на число признаков;

3) вычисляют интегральный показатель стабильности развития — величину среднего относительного различия между сторонами на признак, для этого вычисляют среднюю арифметическую всех величин асимметрии (для каждого из десяти деревьев);

4) находят значение, являющееся средним арифметическим для всего района.

Таблица 5.6

Таблица измерений листьев березы

Дата:			Исполнитель:							
Место сбора:										
№ листа	Ширина половинок листа, мм		Длина 2-й жилки, мм		Расстояние между основаниями 1-й и 2-й жилок, мм		Расстояние между концами 1-й и 2-й жилок, мм		Угол между центральной и 2-й жилкой, градусы	
	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П
1	21	20								
2										
3										
4										
5										

Для оценки качества среды использовали пятибалльную шкалу степени нарушения стабильности развития березы по-вислой, разработанную В. М. Захаровым и др. (табл. 5.7).

Таблица 5.7

**Балльная шкала оценки качества среды
по величине флуктуирующей асимметрии листа
Betula pendula (по В. М. Захарову, 2000)**

Балл	Качество среды	ФА
I	Условно нормальное	< 0,040
II	Начальные (незначительные) отклонения от нормы	0,040–0,044
III	Средний уровень отклонений от нормы	0,045–0,049
IV	Существенные (значительные) отклонения от нормы	0,050–0,054
V	Критическое состояние	> 0,054

5.3.2.2. Биоиндикация загрязнения атмосферы по хвое сосны обыкновенной

Хвойные породы отличаются высокой чувствительностью к сернистому газу. Устойчивость к нему возрастает в ряду: ель — пихта — сосна обыкновенная — лиственница. Продолжительность жизни хвои сосны в нормальных условиях составляет 3–4 года. За это время она накапливает такое количество сернистого газа, которое существенно превышает пороговое значение. Под влиянием токсиканта хвоя сосны в зонах сильного загрязнения становится темно-красной, окраска распространяется от основания иглы к ее острию, и, просуществовав всего один год, хвоя отмирает и опадает. Поэтому по продолжительности жизни хвои сосны и характеру некрозов можно определить степень поражения сосновых насаждений сернистым газом.

Суть метода экспресс-оценки качества воздуха по состоянию хвои *Pinus sylvestris*:

1. Выбираются сосны высотой 1–1,5 м на открытой местности с 8–15 боковыми побегами. Выборку хвои необходимо делать с нескольких близко растущих деревьев на площади 10х10 м².

Очень важен при выборе деревьев показатель вытоптанности участка произрастания сосны, который оценивается баллами 1–4: 1 — вытаптывания нет; 2 — вытоптаны тропы; 3 — нет ни травы, ни кустарников; 4 — осталось немного травы вокруг деревьев. При вытоптанности территории, оцениваемой баллами 3 и 4, экспресс-оценка воздушного загрязнения невозможна.

2. У каждого дерева осматриваются хвоинки предыдущего года (вторые сверху мутовки). Если деревья очень большие, то обследование проводится на боковом побеге в четвертой сверху мутовке (табл. 5.8). Всего собирается не менее 30 хвоинок с каждой точки наблюдения.

Затем выполняются подсчеты хвоинок с пятнами, некрозами и усыханиями. По степени повреждения и усыхания хвои выделяют несколько классов (табл. 5.9).

Таблица 5.8

Участок побега, на котором проводят обследование хвои

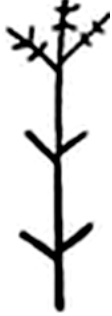












						
0,5 лет	1 год	1,5 года	2 года	2,5 года	3 года	4 года

Таблица 5.9

Классы повреждения и усыхания хвои

Классы повреждения (некрозы)	1	2	3			
Классы усыхания	1	1	1	2	3	4
						

Классы повреждения: 1 — хвоинки без пятен; 2 — хвоинки с небольшим числом мелких пятен; 3 — хвоинки с большим числом черных и желтых пятен.

Классы усыхания: 1 — на хвоинках нет сухих участков; 2 — на хвоинках усох кончик 2–5 мм; 3 — усохла 1/3 хвоинки; 4 — вся или большая часть хвоинки сухая.

Степень загрязненности воздуха определяется в соответствии с табл. 5.10.

Таблица 5.10

**Экспресс-оценка загрязнения воздуха
с использованием сосны обыкновенной**

Максимальный возраст хвои	Класс повреждения хвои на побегах второго года жизни		
4	I	I–II	III
3	I	II	III–IV
2	II	III	IV
2	—	IV	IV–V
1	—	IV	V–IV
1	—	—	VI

Примечания: I — воздух идеально чистый; II — чистый; III — относительно чистый («норма»); IV — загрязненный («тревога»); V — грязный («опасно»); VI — очень грязный («вредно»); «—» — невозможные сочетания.

5.4. Биоиндикация загрязнения наземных экосистем

В основе принципа биологической диагностики почв лежит представление о том, что почва как среда обитания составляет единую систему с населяющими ее организмами.

Лучше других разработаны ботанические методы фитоиндикации и диагностики почв.

Индикаторные растения используются при оценке механического и кислотного состава почв, их плодородия, увлажнения и засоления, степени минерализации грунтовых вод и степени загрязнения атмосферного воздуха газообразными соединениями, а также при выявлении трофических свойств водоемов и степени их загрязнения поллютантами.

Например, на содержание в почве свинца указывают виды овсяницы (*Festuca ovina* и др.), полевицы (*Agrostis tenius* и др.); цинка — виды фиалки (*Viola tricolor* и др.), ярутки (*Traspi apestre* и др.).

Под действием антигололедной соли на листьях липы и других лиственных деревьев сначала появляются ярко-желтые, неравномерно расположенные краевые зоны, затем край

листа отмирает, а желтая зона продвигается к середине и основанию листа.

Для биоиндикационных исследований очень удобным объектом является герпетофауна, т. к. отличается высокой и довольно устойчивой численностью, большим видовым разнообразием, включает группы животных с самыми разными экологическими требованиями. В целях биоиндикации наиболее подходящими являются крупные почвенные беспозвоночные, многие из которых живут в широком диапазоне экологических условий. Среди них предпочтение отдается дождевым червям, щелкунам, крупным хищным насекомым, некоторым видам мокриц (Израэль, 1984).

Реакция каждого входящего в состав почвенно-зоологического комплекса вида на антропогенное изменение среды обитания определяется в первую очередь особенностями их собственной биологии, степенью и характером связи с почвой и подстилкой, а также изменениями в составе, распределении и уровнях плотности других видов животных (Почвенные беспозвоночные..., 1989). Принципиальное значение имеет тип питания. Поэтому для целей диагностики и определения состояния почв особенно важны хищники и сапрофаги, которые тесно не связаны непосредственно с растительным покровом через пищевые цепи (Гиляров, 1965).

5.4.1. Использование жизненных форм жужелиц в биоиндикации

Жужелицы — одна из наиболее многочисленных групп почвенных насекомых, распространенных во всех ландшафтных зонах — от арктических районов до тропиков и пустынь (Шарова, 1981). Для фауны России и сопредельных стран отмечено 3 000 видов, относящихся к 5 подсемействам и 45 трибам (Kryzhanovskij et al., 1995).

Многие виды весьма чутко реагируют на изменения окружающей среды и служат хорошими индикаторами экологических условий биоценозов.

Экологическое и морфо-адаптивное многообразие жужелиц велико и наиболее наглядно может быть продемонстриро-

вано на примере их жизненных форм. Под **жизненной формой** понимается морфо-адаптивное сходство видов со сходными экологическими особенностями.

И. Х. Шарова (1981) разработала подробную классификацию жизненных форм жужелиц. Для выделения классов за основу взят тип питания, для подклассов морфо-адаптивное — обитаемый ярус, для групп — характер передвижения.

Система жизненных форм имаго жужелиц (Carabidae)

Класс Зоофаги

подкласс Фитобионты лазающие

подкласс Эпигеобионты бегающие и ходящие

подкласс Стратобионты бегающие, зарывающиеся

подкласс Геобионты роющие и бегающе-роющие

подкласс Псаммоколимбеты бегающие и передвигающиеся в сыпучем песке

Класс Миксофитофаги

подкласс Стратобионты бегающие

подкласс Стратобионты бегающе-лазающие

подкласс Геохортобионты бегающе-лазающие роющие

Класс Симфилы-мирмекофилы (малоподвижные с частичной редукцией ног)

Класс Афаги с миметизмом (лазающе-ползающие)

Отлов и учет имаго жужелиц проводят по стандартной методике с помощью почвенных ловушек Барбера — стеклянных банок емкостью 0,5 л. Численность жужелиц выражается в единицах динамической плотности — уловистостью экземпляров на 10 ловушко-суток (экз. на 10 л.-с.). Доминантными считаются виды, численность которых выше 5 %, субдоминантными — от 2 до 5 %. Для оценки структуры доминирования населения жужелиц используется индекс Бергера — Паркера (d). По многим показателям индекс Бергера — Паркера не требователен к объему выборки.

$$d = N_{\max} / N,$$

где N_{\max} — число особей самого обильного вида в биотопе;
 N — общее число особей всех видов в биотопе.

Для характеристики состава размерных групп населения жужелиц использовали классификацию М. И. Шишовой (1994),

согласно которой выделены четыре размерные группы имаго. Эти группы экологически тесно связаны со структурой почвенно-растительного покрова.

1 группа — жужелицы мелких размеров: 5–8,5 мм;

2 группа — жужелицы средних размеров: 8,5–16 мм;

3 группа — жужелицы крупных размеров: 16–21 мм;

4 группа — жужелицы очень крупных размеров: свыше 21 мм.

Размерные группы имаго экологически тесно связаны со структурой почвенно-растительного покрова.

Наиболее индикативные характеристики карабидокомплексов: показатели видового разнообразия, структура доминирования, численность, состав размерных групп, экологическая структура и спектр жизненных форм.

К основным тенденциям в изменении состава размерных групп карабидокомплексов по градиенту антропогенной нагрузки относится снижение обилия видов крупного размера и повышение обилия видов среднего и мелкого размеров. К основным закономерностям в изменении состава экологических групп жужелиц относится повышение видового обилия жужелиц открытых пространств. В условиях антропогенного воздействия на экосистемы происходит изменение численности и видового обилия различных жизненных форм жужелиц. Из общего спектра жизненных форм наиболее чутко реагируют на антропогенную нагрузку крупные эпигеобионты, ходящие и подстилочные стратобионты (Романкина, Шаламова, 2013).

5.4.2. Дождевые черви — индикаторы загрязненности почвы

При загрязнении почвы снижается численность дождевых червей, нематод, клещей, ногохвосток. Дождевые черви — сборная группа беспозвоночных, относящихся к кольчатым червям. Черви участвуют во многих процессах, связанных с превращением органического вещества почвы и разложением растительных остатков. Они осуществляют механическое разложение листового опада и древесины, «опускают» растительные остатки в минеральные горизонты почвы, перемешивая ор-

ганические и минеральные компоненты; в их кишечнике образуются глинисто-гуминовые компоненты, составляющие основы почвенной системы. В кишечнике дождевых червей наблюдается частичная минерализация растительных тканей.

Дождевые черви (земляные черви) на территории РФ представлены главным образом видами семейства люмбрицид (*Lumbricidae*). Это преимущественно крупные виды, входящие в состав макрофауны. Дождевые черви — истинные геобионты.

Люмбрициды составляют три экологические группы: поверхностно-живущие (подстилочные), почвенно-подстилочные и норники, прокладывающие глубокие ходы, которые они редко покидают. Виды двух последних групп взаимно заменяют друг друга в зональных почвах: почвенно-подстилочные заходят далеко на север, населяя заболоченные почвы тайги, а норники обитают в районах со средиземноморским климатом.

Подстилочные виды *Dendrobaena octaedra*, *Lumbricus castaneus*, *Allolobophora eiseni* наиболее мелкие, размеры их не превышают 6,5 см. Известны виды длиной 2–3 см и толщиной около 1 мм. Обитатель гумусового горизонта *Lumbricus rubellus* крупнее (до 13 см), а норники, например *L. terrestris*, достигают 25 см и более.

Жизненные формы дождевых червей могут быть использованы при оценке степени воздействия автотранспорта и других загрязнителей на экосистемы.

Распространение дождевых червей связано с климатическими факторами и типом почв. Важным условием является влажность, при засухе черви обычно погибают в массовом количестве. Ранние заморозки тоже вызывают их гибель. Плохо они переносят и высокие температуры. Наименьшая численность дождевых червей отмечается в кислых почвах. Известкование дерново-подзолистых почв приводит к значительному увеличению развития в них червей.

Дождевые черви являются биоиндикаторами, т. е. организмами, присутствие, количество и особенности развития которых служат показателями естественных процессов, условий или антропогенных изменений, а также качества среды обитания. Черви наиболее чувствительны к загрязнению окружаю-

щей среды, т. к. они практически не защищены и дышат через кожу, тем самым наиболее полно ощущая загрязнения. Они достаточно хорошо отражают концентрацию металлов в почве и накапливают металлы в 3–5 раз больше, чем их содержится в почве (Девятова, 2006).

Учет крупных беспозвоночных (мезофауна) производят методом выборки животных из почвы. Простой способ выборки — метод почвенных раскопок, не требующий специального оборудования. Необходимо лишь иметь лопату, совок, рулетку, чашечные весы с разновесами, блокнот, карандаш. Размер выбираемой пробной площадки зависит от степени увлажненности почвы, чаще всего $0,25 \text{ м}^2$ ($0,5 \times 0,5 \text{ м}$). Чем больше заложено почвенных раскопок, тем точнее проводится выявление видового состава и количества животных. Расстояние между раскопками — 5–10 м. Глубина почвенных раскопок — 30–40 см. Пробы берут из разных горизонтов через 10 см.

Из раскопки или почвенного разреза почву выбирают полойно или по генетическим горизонтам. Раскопки проводят следующим образом: отмечают размер площади, забивают по углам колышки, натягивают между ними бечевку. Затем от границ отмеренной площадки отгребают в разные стороны опад или подстилку (если проба берется в лесу) или сухую землю поверхностного слоя (на пару).

Рядом с площадкой помещают клеенку или плотную материю, на которую затем кладут выбранную из раскопки почву. Тщательно вручную перебирают почву, учитывая и собирая всех найденных при этом животных. Выбрасываемые на разложенную рядом с площадкой клеенку небольшие порции почвы тщательно перетирают руками, разбивая крупные комки, разрывая дерновину. Всю почву из разбираемого слоя порцию за порцией перетирают на весу между ладонями, тщательно следя за ссыпающейся на клеенку почвой и собирая падающих животных.

Червей собирают отдельно из каждой пробной площадки и слоя (через 10 см), пересчитывают количество червей на 1 м^2 (умножая на 4), записывают в полевой дневник, затем

составляют таблицу. После подсчета и взвешивания червей отпускают, а ямы закапывают.

Методика почвенных раскопок используется для изучения:

- численности животных на исследуемых участках;
- горизонтального распространения;
- вертикального распределения (горизонты А0, А1, А2, А3).

5.4.3. Млекопитающие-биоиндикаторы

Основное преимущество использования позвоночных животных в качестве биоиндикаторов заключается в их физиологической близости к человеку. Основные недостатки связаны со сложностью их обнаружения в природе, поимки, определения вида, а также с длительностью морфо-анатомических наблюдений. Кроме того, эксперименты с животными зачастую дороги, требуют многократной повторяемости для получения статистически достоверных выводов.

Оценка и прогнозирование состояния природной среды с привлечением позвоночных животных проводятся на всех уровнях их организации. На организменном уровне с помощью сравнительного анализа оцениваются морфо-анатомические, поведенческие и физиолого-биохимические показатели.

Морфо-анатомические показатели описывают особенности внешнего и внутреннего строения животных и их изменение под воздействием определенных факторов (депигментация, изменение покровов, структуры тканей и расположения органов, возникновение уродств, опухолей и других патологических проявлений).

Поведенческие и физиолого-биохимические параметры особенно чувствительны к изменению внешней среды. Токсиканты, проникая в кости или кровь позвоночных животных, сразу воздействуют на функции, обеспечивающие жизнедеятельность. Даже при узко специфичном влиянии токсиканта на определенную функцию ее сдвиги отражаются на состоянии всего организма вследствие взаимосвязанности процессов жизнедеятельности. Достаточно отчетливо наличие токсикантов проявляется в нарушении ритма дыхания, сердечных сокраще-

ний, скорости пищеварения, ритмике выделений, продолжительности циклов размножения.

Среди уже признанных и потенциальных индикаторных видов имеются обитатели почвы и покрывающей ее подстилки, травоядные от грызунов до крупных копытных и, наконец, хищники (Степанов, 1988). В табл. 5.11 перечислены некоторые из этих видов. В их числе можно найти как консументов высших порядков, так и массовые доминантные виды консументов низших порядков со сравнительно коротким жизненным циклом и устойчивой динамикой численности популяций.

Таблица 5.11

***Млекопитающие — биоиндикаторы загрязнения
наземных экосистем***

Индикаторный вид	Среда обитания	Пищевая специализация (пищевой объект)
Европейский крот (<i>Talpa europaea</i>), алтайский крот (<i>Talpa altaica</i>)	Почва	Насекомоядные (почвенная мезофауна)
Землеройка-бурозубка (<i>Sorex areneus</i>)	Лесная подстилка	Насекомоядные (мезофауна подстилки)
Рыжая полевка (<i>Clethrionomys glareolus</i>), красная полевка (<i>C. rubilus</i>)	То же	Зеленоядные
Ондатра (<i>Ondatra zibethica</i>)	Прибрежная зона	То же
Косуля (<i>Capreolus capreolus</i>) и лось (<i>Alces alces</i>)	Лесная зона	То же
Куница (<i>Martes lupus</i>) и соболь (<i>M. ribellina</i>)	То же	Хищники (лесные грызуны)
Лисица (<i>Vulpes vulpes</i>)	То же	Хищник (лесные и полевые грызуны)
Песец (<i>Alopex lagopus</i>)	Тундра и лесотундра	Хищник (мелкие грызуны)
Бурый медведь (<i>Ursus arctos</i>)	Лесная зона	Всеядный

Из насекомоядных большой интерес представляют кроты. Они широко распространены по всей территории лесной зоны, эвритопны, оседлы и антисинантропны. Кроты являются высшим звеном трофической цепи по отношению к почвенной мезофауне.

В подстилке, образованной погибшими травами и листовым опадом, обитает множество видов насекомых. Загрязняющие атмосферу компоненты осаждаются прежде всего на подстилку. Поэтому питающиеся растительными остатками насекомые и различные зоофаги образуют пищевую цепочку, в которой происходит быстрая **биомагнификация**. Высшим хищником этого компонента экосистем являются землеройки рода *Sorex*. Наиболее крупная из них, к тому же с широким ареалом распространения — бурозубка обыкновенная (*Sorex araneus*).

Из числа мелких травоядных наибольший интерес в качестве биоиндикаторов представляют хомякообразные — имеющие сходные черты экологии, охватывающие всю лесную зону Евразии и в этом смысле дополняющие друг друга европейская рыжая и сибирская красная полевки, а также широко распространенные типичные околотовные животные — полевка-экономка и ондатра. Полевки имеют высокую и достаточно устойчивую численность, поэтому использование их в биоиндикации обеспечивает непрерывность наблюдений.

В большинстве европейских стран признание в качестве биоиндикатора нашла косуля. По-видимому, парным (дополняющим и взаимозаменяемым) для нее индикаторным видом может служить лось, ареал которого в последнее время расширяется.

Промысловые хищники, питающиеся мелкими грызунами, — куница и соболь — сходны по экологии. Ареал их распространения перекрывает всю лесную зону Евразии. Для того чтобы использовать эти виды в качестве парных биоиндикаторов, необходимо изучить особенности накопления ими экотоксикантов в районах совместного обитания.

Объектами промысла служат также лисица и песец. Особенностью лисицы является то, что значительная часть пищевого рациона добывается ею на сельскохозяйственных угодьях. Поэтому она может служить индикатором загрязнения полей ядохимикатами сельскохозяйственного назначения (различными пе-

стицидами) и содержащимися в минеральных удобрениях (суперфосфат) тяжелыми металлами (Исидоров, 1999).

5.5. Биоиндикация загрязнения водных экосистем

В качестве биоиндикаторов загрязнения воды выступают отдельные таксоны, экологические группировки (например, в водной среде — фитопланктон, зоопланктон, макрозообентос, перифитон и т. д.), физиологически сходные организмы (например, имеющие одинаковый тип питания), размерные группы.

Обилие видов живых существ, населяющих водоем, сложность их взаимодействия между собой и с окружающей средой послужили причиной создания многочисленных вариантов методов оценки состояния природных вод. Большинство этих методов основано на оценке совокупности показателей: числа видов, численностей и биомасс популяций, населяющих водоем. Показатели можно разделить на следующие группы (Шитиков и др., 2005):

- простые, непосредственно характеризующие какой-либо индивидуальный компонент экосистемы (например, численность, биомасса или число видов в сообществе);
- комбинированные, отражающие компоненты с разных сторон (например, видовое разнообразие учитывает как число видов, так и распределение их обилия);
- комплексные, использующие сразу несколько компонентов экосистемы (например, продукция, самоочищающая способность, устойчивость).

5.5.1. Биоиндикация по планктону

Планктон (от греч. *planktos* — блуждающий) — совокупность организмов толщи воды, не способных противостоять переносу течением.

Для индикации краткосрочных воздействий, вызывающих непродолжительные обратимые изменения среды, удобно ориентироваться по состоянию сообществ фито-, зоо- и бактериопланктона (табл. 5.12).

Таблица 5.12

Представители планктона внутренних водоемов

Группа	Представители
Вириопланктон	Планктонные вирусы, бактериофаги
Бактериопланктон	Аэробные сапрофитные бактерии (гетеротрофы), азотфиксирующие, хемосинтезирующие, споры бактерий
Фитопланктон	Цианобактерии, зеленые водоросли, золотистые, желтозеленые, диатомовые, пиррофитовые, эвгленовые
Зоопланктон	Инфузории, коловратки, ветвистоусые рачки (дафнии, босмины), веслоногие рачки (циклопы)

Бактерии-гетеротрофы чутко реагируют на загрязнение водоемов органическими веществами и используются как индикаторы для оценки степени загрязнения. При оценке качества воды определяется отношение численности бактерий-сапрофитов к их общему количеству (Каплин, 2001).

В последнее время все больше внимания уделяется зоопланктону в индикации трофности, причем существенная роль отводится коловраткам (Макрушин, 1974), которые являются фильтраторами-седиментаторами и питаются бактериями, детритом и водорослями. По мере эвтрофирования в планктоне увеличивается численность и биомасса мелких видов коловраток (Бакаева, Никаноров, 2006).

Видовой состав зоопланктона озер является довольно постоянным и может не изменяться на протяжении многих десятилетий и даже столетия. В то же время при определенном рода воздействиях некоторые виды исчезают, другие же появляются. Признаком эвтрофирования можно считать резкое увеличение численности коловраток из семейств Brachionidae (*Brachionus angularis*, *B. calyciflorus*, *B. diversicornis*, *Keratella cochlearis*) и Trichocercidae, ветвистоусых ракообразных *Bosmina longirostris*, *Chydorus sphaericus*, *Daphnia cucullata* и некоторых других видов, а при устойчивом видовом составе — смену доминант (Кутикова, 1976; Андроникова, 1993).

Соотношение эвтрофных и олиготрофных видов (Е/О) используется для характеристики трофности (Nakkari, 1972). Для гипертрофных озер этот коэффициент более 5,0, для эвтрофных — 1,5–5,0, для мезотрофных — 0,5–1,5, для олиготрофных — менее 0,5. По мере эвтрофирования часто наблюдается изменение процентного соотношения основных групп зоопланктона. Э. Науманн (1923, цит. по: Методы оценки..., 2015) отмечает, что наименьшее количество коловраток содержится в олиготрофных и дистрофных водоемах, что связано с недостатком водорослей наннопланктона и детрита, служащих им пищей. С увеличением уровня трофности в планктоне начинают преобладать виды с простыми жизненными циклами и высокой скоростью размножения (коловратки, мелкие кладоцера), большее развитие получают тонкие фильтраторы и ракообразные с широким спектром питания. Увеличение численности коловраток и ветвистоусых ракообразных при уменьшении веслоногих, в особенности Calanoida, можно считать признаками эвтрофирования.

При эвтрофировании вследствие обогащения водоема биогенными элементами и общего увеличения фито- и бактериопланктона часто наблюдается повышение общей численности зоопланктона. В различных озерах при эвтрофировании средняя численность зоопланктона или отдельных его групп за летний или вегетационный сезон может увеличиться в 2–5 раз. Увеличение биомассы обычно прослеживается не столь четко, т. к. это связано со структурной перестройкой сообщества и увеличением доли мелких форм.

По величине биомассы зоопланктона С. П. Китаев выделяет следующие трофические типы водоемов (Китаев, 1984):

- меньше 0,5 г/м³ — α -олиготрофный;
- 0,5–1,0 — β -олиготрофный;
- 1,0–2,0 — α -мезотрофный;
- 2,0–4,0 — β -мезотрофный;
- 4,0–8,0 — α -эвтрофный;
- 8,0–16,0 — β -эвтрофный;
- $\geq 16,0$ — гиперэвтрофный.

5.5.2. Биоиндикация по зообентосу

Более длительное воздействие поллютанта лучше оценивать по состоянию зообентоса. Зообентос принято делить на микро-, мезо- (или мейо-) и макробентос. К мейобентосу относятся организмы длиной менее 0,1 мм, к мезобентосу — длиной от 0,1 до 2 мм, к макробентосу — более крупные.

Наиболее часто при биоиндикации используется макрозообентос, поскольку он наиболее доступен учету и наиболее подробно изучен. Кроме того, основу пресноводного макрозообентоса чаще всего составляют личинки насекомых, которые по сравнению с другими гидробионтами отличаются повышенной чувствительностью к токсическим воздействиям и другим изменениям среды.

По составу и структуре зообентоса предложено наибольшее количество методов биоиндикации:

- выявление видов-индикаторов сапробности (Pantle, Buck, 1955; Sládeček, 1973);
- индикация по соотношению числа видов, или численности, или биомассе крупных таксонов (типов или классов) — олигохет, ракообразных, моллюсков; отрядов насекомых; подсемейств хирономид (Goodnight, Whitley, 1961; Пареле, 1975; Зиновьев, 1987; Балушкина, 1976);
- расчет биотических индексов (Вудивисс, 1977; Пшеницына, 1986);
- оценка уровня таксономического разнообразия (Мэгаран, 1992; Протасов, Павлюк, 2004);
- индикация по соотношению трофических групп (Яковлев, 2000; Pavluketal, 2000);
- комбинированные индексы (Балушкина, 1995; Баканов, 2000; Зинченко и др., 2000).

Кроме достоинств, имеются и существенные недостатки использования зообентоса как биоиндикатора (Resh, 1995: цит. по: Семенченко, 2004):

1. Требуется большое количество проб для осуществления достаточной выборки, что может оказаться дорогостоящим.
2. Факторы, воздействующие не прямым образом на качество воды, могут влиять на распределение и изобилие организмов.

3. Сезонные колебания могут усложнять интерпретацию и сравнение данных.

4. Явление дрифта может вносить существенный вклад в распределение организмов.

5. Слишком много методов используется для анализа.

6. Для некоторых групп неизвестна таксономия.

7. Макрозообентос не чувствителен к некоторым загрязнениям (болезнетворными организмами и некоторыми загрязняющими веществами).

Все методы биоиндикации существенно различаются по степени подробности учета структуры макрозообентоса. Для расчета различных биоиндикационных индексов требуются разные исходные показатели, характеризующие:

1) тотальный макрозообентос (все сообщество в целом, без учета его структуры);

2) отдельные группы, объединяющие бентонтов различных видов по принципу филогенетического, структурного или функционального сходства;

3) некоторые виды сообщества, обладающие наибольшей биоиндикационной ценностью (без учета всего видового состава макрозообентоса);

4) все виды, входящие в изучаемое сообщество.

В указанной последовательности (1–4) закономерно и взаимосвязанно возрастают степень подробности учета структуры сообществ; трудоемкость работы и требования к квалификации исследователя; точность и надежность результатов биоиндикации.

При этом исходные показатели из категорий 2–4, характеризующие структуру сообществ, могут быть:

- качественными, т. е. фиксировать только наличие или отсутствие особей конкретного вида (или представителей какой-либо группы видов);

- количественными, т. е. учитывать также показатели обилия особей данного вида или представителей данной группы.

Использование количественных исходных показателей, дополняющих качественные, обычно увеличивает диагностическую ценность биоиндикации.

Простейшими количественными характеристиками являются биомасса макрозообентоса и его численность. Как биоиндикационная характеристика используется также соотношение биомассы и численности макрозообентоса — средняя масса особи в сообществе. Уменьшение средней массы особи в сообществе зообентоса считается признаком ухудшения качества среды (Warwick, Clarke, 1994).

Биотический индекс Вудивисса, введенный автором в краткой и в расширенной модификациях (Woodiwiss, 1977), также основан на учете присутствия в бентосе любых представителей крупных, общеизвестных таксонов (табл. 5.13). Индекс был разработан для конкретного водотока (поэтому краткая модификация известна в литературе как «индекс реки Трент»), но широко применяется в России для оценки качества вод любых малых рек (ГОСТ 17.1.3.07-82). Во многих странах Европейского экономического сообщества этот индекс также стандартизирован или в одной из двух авторских версий, или в различных местных вариациях. Основное достоинство индекса Вудивисса заключается в широкой доступности и простоте определения.

Н. М. Гореликова (1984) использовала метод Вудивисса для оценки качества вод Воткинского водохранилища. По ее расчетам, метод не может применяться в водохранилищах в целом, т. к. загрязняемый, но наиболее проточный район всегда имеет более разнообразную фауну, чем нижерасположенные участки с замедленным водообменом и однообразным и илистыми грунтами. Оценить качество воды методом Вудивисса можно только в проточных участках водохранилищ.

Таблица 5.13

Расчет биотического индекса Вудивисса

Группа организмов	Количество видов	Общее число присутствующих групп				
		0–1	2–5	6–10	11–15	≥ 16
Присутствуют нимфы Plecoptera	Больше одного	–	7	8	9	10
	Только один	–	6	7	8	9

Группа организмов	Количество видов	Общее число присутствующих групп				
		0–1	2–5	6–10	11–15	≥ 16
Присутствуют нимфы <i>Ephemeroptera</i>	Больше одного	–	6	7	8	9
	Только один	–	5	6	7	8
Присутствуют личинки <i>Trichoptera</i>	Больше одного	–	5	6	7	8
	Только один	4	4	5	6	7
Присутствуют <i>Gammarus</i>	Все вышеупомянутые виды отсутствуют	3	4	5	6	7
<i>Asellus</i>	То же	2	3	4	5	6
<i>Tubificidae</i>	То же	1	2	3	4	–
Присутствуют личинки <i>Chironomidae</i>	То же	1	2	3	4	–
Все вышеупомянутые организмы отсутствуют	Некоторые вид, такие, как <i>Eristalis tenax</i> , которые не требуют растворенного кислорода, могут присутствовать	0	1	2	–	–

Примечание. Термин «группа», примененный для биотического индекса, означает любой из видов, которые включены в следующий список организмов или комплексов организмов:

- каждое семейство из плоских и кольчатых червей (исключая род *Nais*),
- каждый вид р. *Nais*,
- каждый известный вид моллюсков, пиявок, ракообразных, водных клещей, веснянок,
- каждый известный род поденок (кроме *Baetis rhodani*),
- *Baetis rhodani*,
- каждое семейство из отряда ручейников,
- каждый вид личинок сетчатокрылых
- семейство комаров-звонцов (кроме *Chironomus thummi*),
- *Ch. thummi*,
- семейство мошки,
- каждый известный вид других личинок (жуков).

Индекс дает ненадежные результаты в том случае, когда участок загрязнения находится на небольшом расстоянии от расположенного выше чистого участка реки. Вниз по течению мигрируют организмы, характерные для зон с более высоким биотическим индексом. Фауна зарослей также не дает положительных результатов. Даже на участках с высоким уровнем загрязнения в зарослях присутствует комплекс гидробионтов, включающих группы и виды, указывающие на высокий биотический индекс.

Одной из модификаций биотического индекса Вудивисса является работа В. И. Пшеницыной (1986) (табл. 5.14).

Таблица 5.14

**Биоиндикаторная таблица Вундивисса,
модифицированная для условий средней Волги**

Присутствующие таксоны-индикаторы	Общее число групп		
	0–1	2–5	6–9
Личинки поденок	–	8	9
Личинки ручейников	7	7	8
Гаммариды > 1 вида	–	7	8
Только 1 вид	6	6	7
Хирономиды	5	6	7
Пиявки	5	5	6

Присутствующие таксоны-индикаторы	Общее число групп		
	0–1	2–5	6–9
Тубифициды	3	4	5
Красные личинки хирономид <i>Chironomus</i> и <i>Procladius</i>	1	2	3
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> Clar.	1	2	3

Примечание. Термин «группа», применяемый для биотического индекса, означает любой из видов, которые включены в следующий список организмов:

- семейство Tubificidae;
- каждое семейство Trichoptera;
- каждое семейство Mollusca;
- семейство Ракообразных;
- семейство Поденок;
- семейство Chironomidae;
- *Limnodrilus hoffmeisteri* Clar.

Степень загрязнения водного объекта по величине индекса оценивают по следующей балльной шкале: 0–2 — сильное, 3–5 — среднее, 6–7 — незначительное, 8–10 — загрязнение отсутствует.

Методы оценки качества вод, основанные на применении отдельных крупных таксонов зообентоса

Метод крупных таксонов широко применяется в практике гидробиологического мониторинга благодаря простоте вычислений и отсутствию трудоемких таксономических определений. Теоретическим обоснованием и условием универсальности метода является повсеместное распространение используемых таксонов в водоемах разных типов с разным уровнем загрязнения.

Давно известно, что личинки веснянок, многие оксифильные личинки поденок и ручейников свидетельствуют о чистоте воды и при загрязнении исчезают первыми (Макрушин, 1974). Поэтому в последнее время среди гидробиологов набирает популярность индекс ЕРТ. Он представляет долю представителей отрядов Ephemeroptera (поденки), Plecoptera (веснянки), Trichoptera (ручейники) в общей численности макрозообентоса:

$$EPT = (N_{EPT} / N_{Total}) \times 100,$$

где N_{EPT} численность Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, N_{Total} — общая численность бентоса.

Метод биологической индикации Гуднайта и Уитлея позволяет судить о степени загрязнения водоемов по процентному содержанию олигохет от общего числа всех донных организмов (Goodnight, Whitley, 1961).

$$\% \text{ олигохет} = \frac{\text{Число олигохет} \times 100}{\text{Общее число единиц организмов}}$$

Способность малощетинковых червей обитать на разнообразных субстратах, реагировать на антропогенные воздействия изменением структуры и численности своих популяций исследовал В. И. Попченко (1988). Он предложил информационный индекс сапробности, отражающий отношение массовых видов, устойчивых в разной степени к загрязнению, к общему составу фауны олигохет:

$$I_s = \frac{N_t + N_h + N_f}{N_o},$$

где I_s — индекс сапробности олигохет; N_t — средняя численность *Tubifex tubifex*; N_h — *Limnodrillus hoffmeisteri*; N_f — *Spirasperma ferox*; N_o — численность всех олигохет в биотопе.

Д. Л. Кинг и Р. С. Болл для оценки санитарного состояния водоема предложили индекс загрязнения бытовыми и промышленными стоками, значение которого уменьшается при загрязнении: i = вес насекомых / вес олигохет.

Массовое развитие олигохет даже без точного определения до вида расценивается как показатель органического загрязнения.

Индекс Балушкиной

Е. В. Балушкина (1976) предложила использовать в качестве индикаторов степени загрязнения хирономид. Ее исследования показали, что под влиянием загрязнения происходит закономерное изменение соотношения численности личинок хирономид, относящихся к подсемействам Chironomidae, Ortocladinae, Tanypodinae. В наиболее чистых водах доминируют личинки ортокладиин, а в загрязненных — таниподин.

Для индикации загрязнений был предложен индекс К, который отражает соотношения представителей этих 3 подсемейств:

$$K = (\alpha_t + 0,5\alpha_{ch}) / \alpha_{or},$$

где α_t , α_{ch} , α_{or} — соответственно индикаторные значения представителей каждого из подсемейств. $\alpha = N + 10$, при этом N — относительная численность особей каждого из подсемейств в процентах от общей численности личинок хирономид. Число 10 введено для ограничения пределов значений индекса К. Класс качества вод определяется по табл. 5.15.

Таблица 5.15

**Оценка качества вод
в зависимости от величины индекса Балушкиной**

Индекс Балушкиной	Степень загрязнения
0,136–1,08	чистые воды
1,08–6,5	умеренно загрязненные
6,5–9,0	загрязненные
9,0–11	грязные

Индексы видового разнообразия

Большинство исследователей считают оптимальным индекс видового разнообразия Шеннона. Он предложен еще в 1963 г. для оценки степени структурированности биоценозов как степень упорядоченности (информированности) системы (Shanon, Weaver, 1963):

$$H = k \sum (P_i \log_2 P_i),$$

где $P_i = n_i / N$ — доля особей i -го вида, n_i — показатель обилия i -го вида, N — общий показатель обилия всех k видов в выборке.

Индекс Шеннона отражает как видовое разнообразие, так и выравненность относительной численности видов в сообществе. Чем выше величина индекса, тем благополучнее состояние сообщества. Существует следующее условное разделение значений индекса видового разнообразия (H) в соответствии с трофическим типом водоема (по показателям зоопланктона): 2,6–4 — олиготрофный тип, 2,1–2,5 — мезотрофный, 1,0–2,0 —

эвтрофный, менее 1,0 — показатель экстремальных экологических условий (Андроникова, 1993).

Информационная интерпретация энтропийного индекса Шеннона состоит в том, что разнообразие трактуется как приходящееся на одну особь количество информации, заключенной в распределениях по видам, особям, или энергии по трофическим связям. Этот индекс представляет собой формализацию метода, широко используемого для оценки сложности любых типов систем и отражает важную сущность сообществ организмов. Существенно, что значения индекса не зависят от величины выборки и характеризуются нормальным распределением. Это позволяет использовать обычные статистические методы для проверки значимости различий между средними значениями индекса (Алимов, 2000).

Хотя как мера неоднородности индекс Шеннона учитывает выравненность видовых обилий, показатель выравненности можно вычислить особо. Максимальная величина индекса разнообразия (H_{\max}) соответствует равному обилию всех видов, другими словами,

$$H' = H_{\max} = \ln S.$$

Мерой выравненности, E , можно считать отношение наблюдаемого разнообразия к максимальному (Pielou, 1969).

$$E = H' / H_{\max} = H' / \ln S.$$

E меняется от 0 до 1,0, причем 1,0 соответствует реакции равного обилия всех видов. Как и в случае H' , эта мера выравненности предполагает, что в выборку попали все виды сообщества (Мэгарран, 1992).

Ухудшение качества водной среды приводит к уменьшению количества видов в сообществах (за счет исчезновения стенобионтов) и нарушает выравненность значений их популяционной плотности. Поэтому значения индекса Шеннона — Уивера и прочих индексов разнообразия сообществ макрозообентоса обычно находятся в обратной зависимости от уровня антропогенного воздействия на гидроэкосистему (Алимов, 2000).

5.5.3. Биоиндикация по ихтиофауне

При необходимости получения интегральной оценки состояния экосистемы без уточнения его особенностей в различных участках акватории или биотопах удобно использовать как биоиндикатор ихтиофауну. Отечественной водной токсикологией накоплен большой материал по влиянию отдельных веществ на организм рыб. В качестве индикационного признака можно использовать встречаемость морфологических уродств у молоди рыб (искривление позвоночника, срастание позвонков, недоразвитие жаберной крышки, аномалии развития глаз, искривление и недоразвитие челюстей).

Также оценка стабильности развития рыб проводится по флуктуирующей асимметрии и частоте фенотипических признаков карася золотого и карася серебряного:

- 1 — число лучей в грудных плавниках;
- 2 — число лучей в брюшных плавниках;
- 3 — число жаберных тычинок;
- 4 — число глоточных зубов;
- 5 — число чешуй в боковой линии.

Для анализа асимметрии качественных признаков рассчитывают среднее число асимметричных признаков (ЧАП) на особь:

$$\text{ЧАП} = \frac{\sum_{i=1}^k A_i}{nk},$$

где A_i — число асимметричных проявлений признака i (число особей, асимметричных по признаку i); n — численность выборки; k — число признаков (Биологический контроль..., 2007).

Диапазоны значений ЧАП ранжированы по баллам, которые соответствуют степени загрязнения водоема (табл. 5.16).

Таблица 5.16

Оценка качества окружающей среды по величине флуктуирующей асимметрии

Класс	Коэффициент асимметрии согласно балльной оценке (ЧАП)				
	1 чисто	2 относительно чисто	3 загрязненно	4 грязно	5 очень грязно
Рыбы	< 0,35	0,35–0,40	0,40–0,45	0,45–0,50	> 0,50

5.5.4. Система сапробности

Важным критерием загрязненности воды является наличие в ней разлагающегося органического вещества, которое является питательной базой для ряда организмов и в основном определяет состав водных сообществ.

Сапробность — (от греч. *sapros* — гнилой). Сапробность — комплекс физиолого-биохимических свойств организма, обуславливающий его способность обитать в воде с тем или иным содержанием органических веществ, т. е. с той или иной степенью загрязнения. Самым близким количественным выражением является биохимическое потребление кислорода — БПК₅ (Унифицированные методы..., 1977).

В зависимости от концентрации органического вещества различают несколько зон сапробности (табл. 5.17).

Таблица 5.17

Основные феноменологические признаки зон сапробности (Шитиков и др. 2005)

Зона	Баланс кислорода и органического вещества	Преобладающие виды гидробионтов
Олиго-сапробная зона	Практически чистые водоемы: цветения не бывает, содержание O ₂ и CO ₂ не колеблется. На дне мало детрита, автотрофных организмов и бентосных животных (червей, моллюсков, личинок хирономид).	Встречаются водоросли <i>Melosira itallica</i> , <i>Draparnaldia glomerata</i> и <i>D. plumosa</i> , коловратки <i>Notholka longispina</i> , ветвистоусые рачки <i>Daphnia longispina</i> и <i>Bythotrephes longimanus</i> , личинки поденок, веснянок, рыбы стерлядь, гольян, форель.
Бета-мезосапробная зона	Содержание O ₂ и углекислоты колеблется в зависимости от времени суток: днем избыток O ₂ , дефицит CO ₂ ; ночью — наоборот. Нет нестойких органических веществ, произошла	Много организмов с автотрофным питанием, высокое биоразнообразие, но численность и биомасса невелика. Наблюдается цветение воды, т. к. сильно развит

Зона	Баланс кислорода и органического вещества	Преобладающие виды гидробионтов
	<p>полная минерализация. Ил желтый, идут окислительные процессы, много детрита.</p>	<p>фитопланктон. Сапрофитов — тысячи клеток в 1мл, резко увеличивается их количество в период отмирания растений.</p> <p>Встречаются: диатомовые водоросли <i>Melosira varians</i>, <i>Diatoma</i>, <i>Nanvicula</i>; зеленые <i>Cosmarium</i>, <i>Botrytis</i>, <i>Spirogyra crassa</i>, <i>Cladophora</i>; много протококковых водорослей. Впервые появляется <i>Ceratophyllum demersum</i>. Много корненожек, солнечников, червей, моллюсков, личинок хирономид, появляются мшанки.</p> <p>Встречаются ракообразные и рыбы.</p>
Альфа-мезосапробная зона	<p>Протекают окислительно-восстановительные процессы, начинается аэробный распад органических веществ, образуются NH_3, CO_2. O_2 мало, но H_2S и CH_4 нет. БПК₅ составляет десятки мг/л. Fe находится в окисной и закисной формах.</p> <p>Ил серого цвета, в нем содержатся организмы, устойчивые к недостатку O_2 и высокому содержанию CO_2.</p>	<p>Преобладают растительные организмы с гетеротрофным и миксотрофным питанием.</p> <p>Количество сапрофитных бактерий определяется десятками и сотнями тыс./мл. Отдельные организмы развиваются в массе: бактериальные зооглеи, нитчатые бактерии, грибы, из водорослей — осциллятории, стигеоклониум, хламидомонас, эвглена.</p>

Зона	Баланс кислорода и органического вещества	Преобладающие виды гидробионтов
		Встречаются в массе сидячие инфузории (<i>Carchesium</i>), коловратки (<i>Brachionus</i>), много окрашенных и бесцветных жгутиковых. В илах много тубифицид и личинок хирономид.
Полисапробная зона	Дефицит O ₂ : он поступает в поверхностный слой только за счет атмосферной аэрации и полностью расходуется на окисление. В воде содержится значительное количество нестойких органических веществ и продуктов их анаэробного распада, в основном белкового происхождения, H ₂ S и CH ₄ . Процессы фотосинтеза угнетены. На дне O ₂ нет, много детрита, идут восстановительные процессы, Fe присутствует в форме FeS, ил черный с запахом H ₂ S.	Очень много сапрофитной микрофлоры. Хорошо развиты гетеротрофные организмы: нитчатые бактерии (<i>Sphaerotilus</i>), серные бактерии (<i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothris</i>), бактериальные зооглеи (<i>Zoogloea ramigera</i>), простейшие — инфузории (<i>Paramecium putrinum</i> , <i>Vorticella putrina</i>), бесцветные жгутиковые, олигохеты <i>Tubifex tubifex</i> , водоросль <i>Polytoma uvella</i> .

Сапробность определяется по методу Пантле и Букка (1955) в модификации Сладечека (1973) (табл. 5.18):

$$S = \frac{\sum (s \times h)}{\sum h},$$

где S — индекс сапробности, s — индивидуальная значимость вида по «Атласу сапробных организмов» (Унифицированные

методы..., 1977), h — относительное количество особей данного вида в пробе.

Таблица 5.18

***Соотношение значений относительного обилия
и частоты встречаемости организмов***

Встречаемость	Количество экземпляров одного вида, % от общего количества организмов	h , баллы
Очень редко	< 1	1
Редко	2–3	2
Нередко	4–10	3
Часто	10–20	5
Очень часто	20–40	7
Масса	40–100	9

Степень загрязнения водоема соответствует значению индекса сапробности следующим образом: 0–0,5 — ксеносапробная зона (это воды чистых горных ручьев, небольших ледниковых рек выходы ключей, обедненные биотой и содержащие минимальные количества минеральных соединений и следы органических веществ), 0,51–1,51 — олигосапробная зона, 1,51–2,5 — β -мезосапробная, 2,51–3,5 — α -мезосапробная, 3,51–4,5 — полисапробная зона (Макрушин, 1974).

Для более точной оценки качества воды используют комплексный подход на основе расчета нескольких индексов (табл. 5.19).

Таблица 5.19

Классификатор для определения качества вод

Класс вод	Воды	Индекс Гуднайт — Уитлея, %	Биотический индекс Вудивисса	Индекс сапробности
1	Очень чистые	1–20	10–8	Менее 1
2	Чистые	21–35	7–5	1,1–1,5
3	Умеренно загрязненные	30–50	3	1,6–2,5
4	Загрязненные	51–65	2–1	2,6–3,5
5	Грязные	66–85	1–0	3,6–4,0
6	Очень грязные	86–100	0	> 4,0

5.5.5. Системы токсобности и сапротоксобности

Токсобность (от греч. *toxikon* — яд), способность организмов существовать в водах, содержащих токсичные вещества минерального или органического происхождения.

Рост промышленности вызвал необходимость создания системы биологической оценки качества вод не только по загрязнению их природными органическими веществами (сапробность), но и токсическими веществами промышленных и других стоков.

В зависимости от степени загрязнения водоемов токсическими веществами различают поли-, мезо- и олиготоксобную зоны, заселяемые организмами, выносящими соответственно сильную, среднюю и слабую степень токсического загрязнения водоема. Водоемы или их зоны, которые загрязнены настолько, что гидробионты в них полностью отсутствуют, называются гипертоксобными.

Система **сапротоксобности**, разработанная В. А. Яковлевым, учитывает чувствительность видов животных к органическому загрязнению и различного рода токсическим веществам. Составлен список видов — индикаторов сапротоксобности (Яковлев, 1984).

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

По теме «Биодиагностика»

1. Возможные стратегии (сценарии) взаимоотношения человека с окружающей средой.
2. Что такое биодиагностика в экологии?
3. Место биодиагностики в системе экологического контроля.
4. Основные компоненты биодиагностики и их связь с уровнями биологической организации.
5. Преимущества и недостатки основных компонентов биодиагностики и по отношению к инструментальным физико-химическим методам анализа.
6. Что такое активный и пассивный экологический мониторинг?

По теме «Биомаркирование»

1. Что такое биомаркеры и биомаркирование в экологии?
2. Когда и кем термин «биомаркеры» введен в практику?
3. Какие научные области послужили основой для разработки методов биомаркирования?
4. Место биомаркирования в системе биодиагностики при экологических исследованиях.
5. Преимущества и недостатки биомаркирования по сравнению с другими методами биодиагностики.
6. Примеры применения биомаркеров в экологических исследованиях.
7. Основные диапазоны изменчивости биомаркеров и их связь с морфофункциональным состоянием и ответами организма.
8. Какие основные параметры организма используются в качестве биомаркеров?
9. Эффекты действия антропогенных и природных стресс-факторов на суборганизменном и организменном уровне; варианты развития событий.
10. Классификация биомаркеров.

11. Принципы и примеры практического использования биомаркеров.

По теме «Биотестирование»

1. Определение понятия биотестирования.
2. История развития методов биотестирования.
3. Место биотестирования среди других методов биодиагностики.
4. Преимущества и недостатки методов биотестирования по сравнению с другими методами биодиагностики и методами физико-химического количественного и качественного анализа.
5. Что такое тест-объекты?
6. Какие тест-объекты используются для биотестирования?
7. Что служит основанием для выбора тест-объекта при проведении биотестирования?
8. Области применения методов биотестирования.
9. Основные группы тест-организмов, применяемые при биотестировании.
10. Основные тест-функции, используемые при биотестировании.
11. Основные общие методические положения биотестирования.
12. Контактные методы биотестирования.
13. Специализированные методы биотестирования: биосенсоры и биочипы.
14. «Приборные» методы биотестирования.

По теме «Биоиндикация»

1. Общее определение понятия «биоиндикация». Принцип, лежащий в основе биоиндикации.
2. Основные отличия методов биоиндикации от биомаркирования и биотестирования.
3. Фитобиоиндикация в оценке состояния воздушной среды; примеры растений-фитоиндикаторов.
4. Флуктуирующая асимметрия растений и ее применение в биоиндикации.
5. Основные индикаторные признаки растений.

6. Лихеноиндикация.
7. Использование карабидокомплексов в биоиндикации загрязнения наземной среды.
8. Дождевые черви как биоиндикаторы.
9. Млекопитающие-биоиндикаторы.
10. Организмы — биоиндикаторы загрязнения водной среды. Группы организмов-биоиндикаторов.
11. Оценка качества вод по зоопланктону.
12. Определение понятия «сапробность», зоны сапробности и их соответствие классам состояния водного объекта (ГОСТ 17.1.3.07–82).
13. Использование биотических индексов для оценки качества водной среды; примеры биотических индексов.
14. Индексы, основанные на использовании крупных таксонов.
15. Индексы сапробности.
16. Определение понятий «токсобность» и «сапротоксобность».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимов, А. Ф. Элементы теории функционирования водных экосистем / А. Ф. Алимов. — СПб. : Наука, 2000. — 147 с.
2. Андроникова, И. Н. Классификация озер по уровню биологической продуктивности / И. Н. Андроникова // Теоретические вопросы классификации озер. — СПб. : Наука, 1993. — С. 51–72.
3. Бакаева, Е. Н. Гидробионты в оценке качества вод суши / Е. Н. Бакаева, А. М. Никаноров. — М. : Наука, 2006. — 239 с.
4. Бакаева, Е. Н. Биологические подходы к оценке экотоксикологического состояния водных экосистем / Е. Н. Бакаева, А. М. Никаноров // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. — 2015. — № 1. — С. 72–86.
5. Баканов, А. И. Использование зообентоса для мониторинга пресноводных водоемов (обзор) / А. И. Баканов // Биология внутренних вод. — 2000. — № 1. — С. 68–82.
6. Балушкина, Е. В. Хиროномиды как индикаторы степени загрязнения вод / Е. В. Балушкина // Методы биологического анализа пресных вод. — Л. : ЗИН АН СССР, 1976. — С. 106–118.
7. Балушкина, Е. В. Новый метод оценки качества вод по показателям зообентоса / Е. В. Балушкина // Современные проблемы гидроэкологии. — СПб. : ЗИН РАН, 1995. — С. 8–9.
8. Биологический контроль окружающей среды : биоиндикация и биотестирование : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О. П. Мелехова, Е. И. Егорова, Т. И. Евсеева и др. — М. : Академия, 2007. — 288 с.
9. Боголюбов, А. С. Оценка экологического состояния леса по асимметрии листьев : учеб. пособие / А. С. Боголюбов. — М. : Экосистема, 2002.
10. Булохов, А. Д. Фитоиндикация и ее практическое применение / А. Д. Булохов. — Брянск : Изд-во БГУ, 2004. — 245 с.
11. Брагинский, Л. П. О некоторых принципах подбора тест-объектов в исследованиях по водной токсикологии / Л. П. Брагинский // Критерий токсичности и принципы методик по водной токсикологии. — М., 1971.

12. Брагинский, Л. П. Оценка качества вод природных водоемов по токсикологическим показателям / Л. П. Брагинский // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. — Л. : Гидрометеиздат, 1981. — С. 201–206.
13. Гиляров, М. С. Зоологический метод диагностики почв / М. С. Гиляров. — М. : Наука, 1965. — 278 с.
14. Гореликова, Н. М. Оценка качества воды Воткинского водохранилища по биологическим показателям / Н. М. Гореликова // Биологическая продуктивность и качество воды Волги и ее водохранилищ. — М. : Наука, 1984. — С. 117–122.
15. Девятова, Т. А. Биодиагностика техногенного загрязнения почв / Т. А. Девятова // Экология и промышленность России. — 2006. — № 1. — С. 36–37.
16. Жмур, Н. С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России / Н. С. Жмур. — М. : Международный дом сотрудничества, 1977. — 117 с.
17. Здоровье среды: методика оценки / В. М. Захаров, А. С. Баранов, В. И. Борисов и др. — М. : Центр экологической политики России, 2000. — 318 с.
18. Зенков, Н. К. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. — М. : Наука/Интерпериодика, 2001. — 343 с.
19. Зиновьев, В. П. Экспресс-методы определения качества вод по зообентосу в реках Восточной Сибири / В. П. Зиновьев // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. — 1987. — № 1. — С. 127–135.
20. Зинченко, Т. Д. Методологический подход к оценке экологического состояния речных систем по гидрохимическим и гидробиологическим показателям / Т. Д. Зинченко, Л. А. Выхристюк, В. К. Шитиков // Известия Самарского научного центра РАН. — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 233–243.
21. Израэль, Ю. А. Экология и контроль состояния природной среды / Ю. А. Израэль. — М. : Гидрометеиздат, 1984. — 560 с.

22. Исидоров, В. А. Введение в химическую экотоксикологию / В. А. Исидоров. — СПб. : Химиздат, 1999. — 144 с.
23. Каплин, В. Г. Биоиндикация состояния экосистем / В. Г. Каплин. — Самара : СамГСХА., 2001. — 143 с.
24. Китаев, С. П. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон / С. П. Китаев. — М. : Наука, 1984. — 207 с.
25. Кутикова, Л. А. Коловратки речного планктона как показатели качества воды / Л. А. Кутикова // Методы биологического анализа пресных вод. — Л. : ЗИН АН СССР, 1976. — С. 88–89.
26. Котегов, Б. Г. Организация биологического мониторинга в зоне влияния производственного объекта : метод. указания / Б. Г. Котегов. — Ижевск : Изд-во УдГУ, 2007. — 32 с.
27. Лесников, Л. А. Основные задачи, возможности и ограничения биотестирования / Л. А. Лесников // Теоретические вопросы биотестирования. — Волгоград : Ин-т биол. внутр. вод АН СССР, 1983. — С. 3–12.
28. Лесников, Л. А. Приемы биоиндикации, биотестирования при текущем надзоре за загрязненностью водных объектов и выявлении превышения их ассимилирующей способности : метод. указания / Л. А. Лесников, Т. К. Мосиенко. — СПб. : Издательство ГосНИОРХ, 1992. — 79 с.
29. Лукьяненко, В. И. Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. — М. : Легкая и пищевая промышленность, 1983. — 320 с.
30. Лукьянова, О. Н. Молекулярные биомаркеры / О. Н. Лукьянова. — Владивосток : Изд-во ДВГАЭУ, 2001. — 196 с.
31. Макрушин, А. В. Биологический анализ качества вод / А. В. Макрушин. — Л. : АН СССР, 1974. — 60 с.
32. Методы оценки качества вод по гидробиологическим показателям : учеб.-метод. разработка по курсу «Гидробиология» / сост. : О. Ю. Деревенская. — Казань : КФУ, 2015. — 44 с.
33. Методическое руководство по биотестированию воды. РД 118-02-90. — М. : Госкомприроды СССР, 1991. — 48 с.

34. Моисеенко, Т. И. Водная экотоксикология : Теоретические и прикладные аспекты / Т. И. Моисеенко. — М. : Наука, 2009. — 400 с.
35. Мэгарран, Э. Экологическое разнообразие и его измерение / Э. Мэгарран. — М. : Мир, 1992. — 179 с.
36. Никаноров, А. М. Словарь-справочник по гидрохимии и качеству вод суши / А. М. Никаноров, В. М. Иваник. — Ростов н/Д. : Центр Печатных Технологий АртАртель, 2014. — 548 с.
37. Олькова, А. С. Биотестирование в научно-исследовательской и природоохранной практике России / А. С. Олькова // Успехи современной биологии. — 2014. — Т. 134, № 6. — С. 614–622.
38. Олькова, А. С. *Daphnia magna* Straus в биотестировании природных и техногенных сред / А. С. Олькова, А. И. Фокина // Успехи современной биологии. — 2015. — Т. 135, № 4. — С. 380–389.
39. Панасенко, О. О. Структура и свойства малых белков теплового шока / О. О. Панасенко, М. В. Ким, Н. Б. Гусев // Успехи биологической химии. — 2003. — Т. 43. — С. 59–98.
40. Пареле, Э. А. Тубифициды (Oligochaeta: Tubificidae) — индикаторы качества водоемов / Э. А. Пареле, Е. Б. Астапенко // Изв. АН Латв. ССР. — 1975. — № 9 (338). — С. 44–46.
41. Биотестирование природных и сточных вод : сб. науч. тр. ВНИИ мор. рыб. хоз-ва и океанографии / отв. ред. С. А. Патин. — М. : Легкая и пищевая промышленность, 1981. — 108 с.
42. Попченко, В. И. Закономерности изменения сообществ донных беспозвоночных в условиях загрязнения природной среды / В. И. Попченко // Научные основы биомониторинга пресноводных экосистем : тр. сов.-франц. симп. Астрахань, 9–12 сентября 1985 г. — Л. : Гидрометеиздат, 1988. — С. 136–140.
43. Почвенные беспозвоночные рекреационных ельников Подмосковья / А. А. Захаров, Ю. Б. Бызова, А. В. Уваров и др. — М. : Наука, 1989. — 233 с.
44. Приказ Минприроды от 27.12.95 № 533 «О проведении эксперимента по внедрению методов биотестирования

при оценке качества возвратных вод и взиманию платы с учетом их токсичности». — URL : <https://www.lawmix.ru/pprf/112369>

45. Принципы и методы экологической токсикологии / Д. Б. Гелашвили, В. С. Безель, Е. Б. Романова, М. Е. Безруков и др. — Н. Новгород : Изд-во Нижегородского университета, 2016. — 702 с.

46. Протасов, А. А. Использование показателей биоразнообразия для оценки состояния водных объектов и качества вод / А. А. Протасов, Т. Е. Павлюк // Гидробиологический журнал. — 2004. — Т. 40, № 6. — С. 3–17.

47. Пшеницына, В. И. Об эффективности шкалы Вудивисса при биоиндикации качества воды / В. И. Пшеницына // Гидробиологический журнал. — 1986. — Т. 22, № 4. — С. 42–45.

48. Романкина, М. Ю. Биоиндикационное значение жукелиц (Coleoptera, Carabidae) березовых лесополос Тамбовской области / М. Ю. Романкина, Т. В. Шаламова // Вестник ТГУ. — 2013. — Т. 18, вып. 6. — С. 3216–3219.

49. Сарапульцева, Е. И. Поведенческая активность простейших: место в иерархии критериев биотестирования окружающей среды / Е. И. Сарапульцева, Н. А. Тушмалова // Вестник Московского ун-та. — 2011. — № 3. — С. 3–6.

50. Семенченко, В. П. Принципы и системы биоиндикации текущих вод / В. П. Семенченко. — Минск : Орех, 2004. — 125 с.

51. Снакин, В. В. Экология и природопользование в России : энциклопедический словарь / В. В. Снакин. — М. : Academia, 2008. — 816 с.

52. Степанов, А. М. Методология биоиндикации ионового мониторинга экосистем суши / А. М. Степанов // Экоотоксикология и охрана природы. — М. : Наука, 1988. — С. 28–108.

53. Строганов, Н. С. Методика определения токсичности водной среды / Н. С. Строганов // Методики биологических исследований. — М., 1971. — С.14–60.

54. Строганов, Н. С. Метод биотестирования качества вод с использованием дафний / Н. С. Строганов, Е. Ф. Исакова, Л. В. Колосова // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. — 1989. — Вып. 1. — 78 с.

55. Основные принципы биотестирования сточных вод и оценка качества вод природных водоемов / Н. С. Строганов, О. Ф. Филенко, Г. Д. Лебедева и др. // Теоретические вопросы биотестирования. — Волгоград, 1983. — С. 21–29.

56. Унифицированные методы исследования качества вод. Часть III. Методы биологического анализа вод. Приложение II. Атлас сапробных организмов. — М. : Секретариат СЭВ, 1977. — 227 с.

57. Уорк, К. Загрязнение воздуха. Источники и контроль / К. Уорк, С. Уорнер. — М. : МИР, 1980. — 539 с.

58. Филенко, О. Ф. Водная токсикология / О. Ф. Филенко. — М. : Изд-во МГУ, 1988. — 156 с.

59. Филенко, О. Ф. Некоторые принципы биотестирования токсичности загрязняемых природных вод / О. Ф. Филенко // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. — Л. : Гидрометеиздат, 1989. — С. 185–193.

60. Флеров, Б. А. Биотестирование : термины, задачи, перспективы / Б. А. Флеров // Теоретические вопросы биотестирования. — Волгоград : Ин-т биол. внутр. вод АН СССР, 1983. — С. 13–20.

61. Флеров, Б. А. Программа и курс лекций по теме: «Биологические последствия загрязнения». Экономический прогресс и экологическая деградация планеты. Причины эколого-экономического кризиса на примере состояния водных ресурсов / Б. А. Флеров // Физиология и токсикология пресноводных животных. — Рыбинск : Рыбинский дом печати, 2007. — С. 291–321.

62. Флеров, Б. А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных / Б. А. Флеров. — Л. : Наука, 1989. — 144 с.

63. Черкашин, С. А. Биотестирование : терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсикологии / С. А. Черкашин // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. — 2001. — Т. 128. — С. 1020–1035.

64. Чуйко, Г. М. Холинэстеразы пресноводных костистых рыб / Г. М. Чуйко, В. А. Подгорная // Физиология и токсиколо-

гия пресноводных животных : сб. ст. — Рыбинск : Рыбинский дом печати, 2007. — С. 100–140.

65. Шарова, И. Х. Жизненные формы жужелиц (Coleoptera, Carabidae) / И. Х. Шарова. — М. : Наука, 1981. — 360 с.

66. Шитиков, В. К. Количественная гидроэкология : методы, критерии, решения. Кн. 1 / В. К. Шитиков, Г. С. Розенберг, Т. Д. Зинченко. — М. : Наука, 2005. — 281 с.

67. Шишова, М. И. Динамика структуры населения и популяций массовых видов жужелиц (Coleoptera, Carabidae) в лесонасаждениях северной лесостепи России : автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. И. Шишова. — М., 1994. — 16 с.

68. Яковлев, В. А. Трофическая структура зообентоса — показатель состояния водных экосистем и качества воды / В. А. Яковлев // Водные ресурсы. — 2000. — Т. 27, № 2. — С. 237–244.

69. A Checklist of the ground-beetles of Russia and Adjacent Lands (Insecta, Coleoptera, Carabidae) / O. L. Kryzhanovskij, I. A. Belousov, I. I. Kabak, B. M. Kataev, K. V. Makarov, V. G. Shilenkov. — Sofia ; Moskow : Pensoft publishers, 1995. — 271 p.

70. Aquatic toxicology: molecular, biochemical, and cellular perspectives / eds. : D. C. Malins, G. K. Ostrander. — Boca Raton ; Ann Arbor ; London ; Tokyo : Lewis Publishers, 1994. — 539 p.

71. Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Society Symposium 8 / ed. S. M. Adams. — Bethesda MD : AFS, 1990. — 191 p.

72. Biomarkers : biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. SETAC special publication series / eds. : R. J. Huggett, R. A. Kimerle, P. M. Mehrle, H. L. Bergman. — Boca Raton ; Ann Arbor ; London ; Tokyo : Lewis Publishers, 1992. — 347 p.

73. Brown, I. A. The natural history of cladocerans in relation to temperature. Temperature coefficient for development / I. A. Brown // Amer. Nat. — 1929. — № 63. — P. 346–352.

74. Enzyme and protein synthesis as indicators of contaminant / J. J. Stegeman, M. Brower, R. T. Di Giulio, L. Förlin, B. A. Fowler, B. M. Sanders, P. A. Van Feld // Biomarkers : biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. SETAC spe-

cial publication series / eds. : R. J. Huggett, R. A. Kimerle, P. M. Mehrle Jr., H. L. Bergman. — Boca Raton ; Ann Arbor ; London ; Tokyo : Lewis Publishers, 1992. — 347 p.

75. Goodnight, C. J. Oligochaetes as indicators of pollution / C. J. Goodnight, L. S. Whitley // Proceedings of the 15th Industrial Waste Conference. Purdue University Engineering Extension Series. — 1961. — Vol. 106. — P. 106–139.

76. Hakkari, L. Zooplankton species as indicators of environment / L. Hakkari // Aqua Fennica. — Helsinki, 1972. — P. 46–54.

77. Heath, A. G. Water pollution and fish physiology / A. G. Heath. — Boca Raton ; Ann Arbor ; London ; Tokyo : Lewis Publishers, 1995. — 359 p.

78. Hinton, D. E. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes / D. E. Hinton, D. J. Lauren // Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Society Symposium 8 / ed. S. M. Adams. — Bethesda, MD : AFS, 1990. — P. 51–66.

79. Kramer, K. J. M. The valve movement response of mussels : a tool in biological monitoring / K. J. M. Kramer, H. A. Jenner, D. de Zwart // Hydrobiologia. — 1989. — V. 188/189. — P. 433–443.

80. King, D. L. A quantitative biological measure of stream pollution / D. L. King, R. C. Ball // J. Water Pollut. Control Fed. — 1964. — V. 36. — P. 650–653.

81. Naumann, E. *Daphnia magna* Straus als Versuchstiere / E. Naumann // Kgl. Fysiog. Saliskap, Lund for hunde. — 1933. — № 2. — P. 1–49.

82. OECD Guideline for testing of chemicals // Earthworm / Acute Toxicity Test. № 207. Adopted 4/ 1984. 9 p. — URL : <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070042-en>

83. Pantle, R. Die biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse / R. Pantle, H. Buck // Gas. Und Wasserfach. — 1955. — V. 96, № 18. — S. 604.

84. Pavluk, T. I. Biological assessment method based on trophic structure of benthic macroinvertebrate communities / T. I. Pavluk, A. de Vaate, H. A. Leslie // Hydrobiologia. — 2000. — V. 427. — P. 135–141.

85. Pielou, E. C. The measurement of diversity in different types of biological collections / E. C. Pielou // J. Theoret. Biol. — 1966. — V. 13. — P. 131–141.

86. Shannon, C. E. The Mathematical Theory of Communication / C. E. Shannon, W. Weaver. — Urbana (Illinois) : Univ. of Illinois Press, 1963. — 345 p.

87. Sheehan, P. J. Effects of individuals and populations / P. J. Sheehan // Effects of Pollutants at the Ecosystems Level / eds. : P. J. Sheehan, D. R. Miller, G. C. Butler, Ph. Bourdeau. — Chichester : Jon Wiley&Sons Ltd, 1984.

88. Sládeček, V. System of water quality from the biological point of view / V. Sládeček // Arch. Hydrobiol., Beiheftz., Ergebnisse der Limnol. — 1973. — Bd. 7. — S. 1–218.

89. Versteeg, D. J. Field utilization of clinical measures for the assessment of xenobiotic stress in aquatic organisms / D. J. Versteeg, R. L. Graney, J. P. Giesy // Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, ASTM STP 971 / eds. : W. J. Adams, G. A. Chapman, W. J. Landis. — Philadelphia : American Society for Testing Materials, 1988. — P. 289–306.

90. Warwick, R. M. Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities / R. M. Warwick, K. R. Clarke // Marine Biology. — 1994. — V. 118, № 4. — P. 739–744.

91. Woodiwiss, F. S. The biological system of stream classification used by the Trent River board / F. S. Woodiwiss // Chemistry and industry. — 1964. — Vol. 11. — P. 443–447.

СЛОВАРЬ

Активный экологический биомониторинг — использование тест-организмов из лабораторных культур и природных популяций или применение искусственных тест-систем (биосенсоры и биочипы) в лабораторных условиях или при заселении (помещении) их в тестируемую внешнюю среду *in situ* для оценки воздействия природных (природные и сточные воды, донные отложения) или экспериментальных (растворы химических веществ, физические воздействия) факторов среды. У этих тест-организмов или тест-систем регистрируют биологические ответы и их динамику. При активном биомониторинге применяют такие методы биодиагностики, как биомаркирование и биотестирование.

Биодиагностика — использование ответных реакций биологических систем на разных уровнях их организации на действие природных и антропогенных факторов для оценки состояния биоты и качества среды ее обитания.

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

Биоиндикация — оценка качества среды обитания и ее отдельных характеристик по состоянию биоты в природных условиях (Снакин, 2008). В гидробиологии **биоиндикация** — это обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик различных биоценозов гидробионтов (Никаноров, Иваник, 2014).

Биомаркер (биологический маркер) — измеряемый параметр или событие (процесс, явление), происходящее в биологической системе или биологическом образце на суборганизменном и организменном уровне биологической организации (молекула, клетка, ткань, физиологическая система, организм).

В гидроэкотоксикологии биомаркеры используются как индикаторы состояния здоровья или риска проявления патологии (нарушения функции) организма либо как индикаторы воздействия на организм химических загрязняющих веществ или *ксенобиотиков* (соединений, имеющих чужеродное для организма происхождение).

Биомаркирование — оценка степени воздействия природных и антропогенных факторов на состояние здоровья гидробионтов с использованием биомаркеров — морфофункциональных показателей, регистрируемых на суборганизменном и организменном уровнях биологической организации, таких как молекулярно-генетический, биохимический, физиологический и гистологический (Adams, 2002; Лукьянова, 2001; Чуйко, 2014).

Биотестирование — оценка токсичности компонентов окружающей среды (воды, донных отложений, грунтов) и других сред по общим биологическим реакциям организма (выживаемость, размножение, рост, двигательная активность и т. п.) с использованием лабораторных культур тест-организмов разных экологических уровней (микроорганизмы, простейшие, одноклеточные водоросли, беспозвоночные, икра, мальки и взрослые рыбы).

Воспроизводимость результатов — характеристика качества биотестирования, отражающая близость результатов, полученных по данной методике, на одном и том же эталонном веществе, но в различных условиях (разные операторы, разные лаборатории, разное время).

Гомеостаз — состояние подвижного динамического равновесия природной системы или отдельного организма, которое поддерживается сложным комплексом приспособительных реакций и регулируется возобновлением основных структур.

Зообентос (от греч. *zoon* — животное и *bentos* — глубина) — совокупность животных, обитающих на грунте и в грунте морских и материковых водоемов (Снакин, 2008).

Измерительная система (прибор) дает количественную характеристику ответной реакции тест-объекта на воздействие внешних факторов.

Индикат, или **объект индикации**, — это различные природные тела (горные породы, полезные ископаемые, почва, содержание гумуса и биогенных элементов в почве) или нарушение природной среды (загрязнение почвы, атмосферы, воды, донных отложений) (Булохов, 2004).

Индикаторы — показатели, которые используются для обнаружения индиката или его изменения.

Критерии токсичности определяются уровнем организации биологических систем.

Лихеноиндикация — процедура определения качества воздуха с помощью лишайников.

Макрозообентос — все беспозвоночные животные, ведущие донный образ жизни и имеющие максимальный линейный размер не менее 2,0 мм.

Пассивный экологический биомониторинг — использование тест-организмов, постоянно находящихся в естественных условиях при контакте с факторами внешней среды, путем регистрации у них биологических ответов для оценки их состояния и качества внешней среды. При этом наиболее подходящими биодиагностическими методами являются биомаркирование и биоиндикация.

Планктон (от греч. *planktos* — блуждающий) — совокупность организмов толщи воды, не способных противостоять переносу течением.

Сапробность — (от греч. *sapros* — гнилой) — комплекс физиолого-биохимических свойств организма, обуславливающий его способность обитать в воде с тем или иным содержанием органических веществ, т. е. с той или иной степенью загрязнения.

Сходимость результатов — характеристика качества биотестирования, отражающая близость результатов, полученных по одной методике, на одном и том же эталонном веществе, в одних условиях (один оператор, одна лаборатория, одно и то же время).

Тест-объект — организм, используемый при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др.

Тест-параметр — количественное выражение тест-реакции.

Тест-реакция (функция) — изменение (ответ) какого-либо морфологического, биохимического, поведенческого или функционального показателя тест-организма под воздействием токсических веществ, содержащихся в окружающей среде или тестируемом объекте.

Токсичность (от греч. *toxikon* — яд) — способность химических соединений вызывать патологию (заболевание) или гибель организмов.

Токсобность (от греч. *toxikon* — яд) — способность организмов существовать в водах, содержащих токсичные вещества минерального или органического происхождения.

Устойчивость — способность переносить внешние воздействия, т. е. выживать в условиях загрязнения среды обитания.

Фитоиндикация — это практическое применение различных признаков и свойств отдельных растений или растительных сообществ и их комплексов для получения качественной, а иногда и количественной характеристики среды.

Флуктуирующая асимметрия — ненаправленные различия между правой и левой стороной различных морфологических структур, в норме обладающих билатеральной симметрией.

Чувствительность — способность организмов реагировать на различные раздражители, это проявление первой реакции на химические вещества.

Эвтрофирование — процесс роста общей продуктивности экосистемы водоема (водной толщи, донных отложений), т. е. накопления органического вещества в водоеме.

Варианты практических заданий**Станция № 1**

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Lymnaea balthica</i>	14,8/1583,6
2	<i>Euglesa sp.</i>	66,7/533,6
3	<i>Halesus tesselatus</i>	7,4/1583,6
4	<i>Limnephilus rhombicus</i>	29,6/236,8
5	<i>Caenis horaria</i>	14,8/44,4
6	<i>Baetis vernus</i>	24/120
7	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	274,1/6578,4
8	семейство <i>Ceratopogonidae</i>	14,8/7,4
9	подсемейство <i>Tanypodinae</i>	7,4/1,5
10	подсемейство <i>Orthocladinae</i>	74,1/59,3
11	подсемейство <i>Chironominae</i>	14,8/11,1
12	триба <i>Tanytarsini</i>	7,4/3,7
13	семейство <i>Simuliidae</i>	674,1/1011,2
	Сумма	1224/11774,6

N — численность, экз./м²; B — биомасса, мг/м²

Станция № 2

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Anisus albus</i>	*
2	<i>Lymnaea balthica</i>	8,3/1162
3	<i>Nucleocyclus radiata</i>	33,3/6160,5
4	<i>Pisidium inflatum</i>	91,7/28977,2
5	<i>Sphaerium corneum</i>	608,3/1983,4
6	<i>Aphaelocheirus aestivalis</i>	8,3/41,5
7	<i>Cincinna klinensis</i>	608,3/8212,1
8	<i>Baetis sp.</i>	8,3/16,6
9	<i>Neureclipsis bimaculata</i>	33,3/632,7
10	<i>Laccophilus hyalinus</i>	*
11	<i>Haliplus sp.</i>	*
12	<i>Scarodytes sp.</i>	16,6/199,2

№	Вид / Дата	N / B
13	<i>Hydraena sp.</i>	8,3/8
14	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	58,3/204,1
15	<i>Tubifex tubifex</i>	25/25
16	<i>Dixa nebulosa</i>	*
17	подсемейство <i>Chironominae</i>	41,7/125,1
18	подсемейство <i>Tanypodinae</i>	8,3/8,3
19	подсемейство <i>Orthoclaadiinae</i>	41,7/33,4
20	<i>Erpobdella octoculata</i>	16,7/2338
21	<i>Glossiphonia complanata</i>	25/1866,7
22	<i>Helobdella stagnalis</i>	33,3/432,9
	Сумма	1674,7/52301,6

* вид присутствует в качественной пробе

Станция № 3

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Lymnaea ampla</i>	14,7/3469,2
2	<i>Euglesa sp.</i>	73,5/338,1
3	<i>Anisus contortus</i>	14,7/147
4	<i>Sphaerium corneum</i>	29,4/3248,7
5	<i>Sialis sordida</i>	44,1/1440,6
6	<i>Perlodes sp.</i>	58,8/29,4
7	подсемейство <i>Orthoclaadiinae</i>	44,1/28,7
8	<i>Hydropsyche pellucidula</i>	44,1/2293,2
9	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	29,4/323,4
10	<i>Limnephilus sp.</i>	14,7/2146,2
11	<i>Hydroptila sp.</i>	29,4/14,7
12	<i>Macronyhus quadrituberculatus</i>	411,8/429
13	<i>Dytiscidae g. sp.</i>	14,7/14,7
14	<i>Hyphydrus ovatus</i>	29,4/117,6
15	<i>Sigara sp.</i>	88,2/279,3
16	<i>Sigara striata</i>	44,1/573,3
17	<i>Caenis macrura</i>	29,4/58,8
18	<i>Baetis sp.</i>	529,4/1757,3
19	<i>Brychius elevatus</i>	14,7/36,8
20	<i>Gyrinus marinus</i>	14,7/44,1

№	Вид / Дата	N / B
21	<i>Haliphus sp.</i>	44,1/88,2
22	<i>Oulimnius sp.</i>	44,1/35,3
23	<i>Ephemerella (T) ignita</i>	14,7/191,1
24	<i>Elmis sp.</i>	367,6/330,8
25	<i>Hydaticus (H.) seminiger</i>	*
26	<i>Dytiscus marginalis</i>	*
27	семейство <i>Ceratopogonidae g. sp.</i>	14,7/4,4
28	<i>Gammarus sp.</i>	44,1/110,3
29	<i>Glossiphonia complanata</i>	*
30	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	14,7/7,4
	Сумма	2117,3/17557,6

Станция № 4

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Lymnaea balthica</i>	16,7/3590,5
2	<i>Lymnaea ovata</i>	8,33/2515,7
3	<i>Chaetopteryx sahlbergi</i>	8,3/33,2
4	<i>Limnephilus rhombicus</i>	8,3/1610,2
5	<i>Halesus interpunctatus</i>	8,3/2016,9
6	<i>Micronecta sp.</i>	333,3/416,63
7	<i>Sigara (S) falleni</i>	8,3/99,6
8	<i>Gerris argentatus</i>	16,7/200,4
9	подсемейство <i>Chironominae</i>	8,3/3,32
10	<i>Spirosperma ferox</i>	8,3/1,7
11	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	41,7/12,51
12	<i>Tubifex tubifex</i>	41,7/108,42
13	<i>Nais communis</i>	16,7/8,35
	Сумма	524,9/10617,43

Станция № 5

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Baetis sp.</i>	88,89/222,23
2	подсемейство <i>Orthoclaadiinae</i>	1555,56/777,78
3	<i>Erpobdella octoculata</i>	44,44/2533,08
4	<i>Erpobdella lineata</i>	44,44/3466,32

№	Вид / Дата	N / B
5	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	444,44/888,88
	Сумма	2177,77/7888,29

Станция № 6

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Cincinna dilatata</i>	7,69/261,46
2	<i>Acroloxus lacustris</i>	7,69/76,9
3	<i>Hyphodrus sp.</i>	7,69/30,76
4	<i>Haliphus sp.</i>	15,38/38,45
5	<i>Plathycnemis pennipes</i>	23,08/469,3
6	<i>Cloeon (P) bifidum</i>	15,38/34,61
7	<i>Caenis horaria</i>	30,77/69,23
8	подсемейство <i>Prodiamesinae</i>	7,69/2,3
9	семейство <i>Ceratopogonidae g. sp.</i>	7,69/5,38
10	<i>Tabanidae gen. sp.</i>	15,38/23,07
11	<i>Laccophilus hyalinus</i>	7,69/84,59
12	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	30,77/30,77
	Сумма	176,9/1126,82

Станция № 7

№	Вид / Дата	N / B
1	<i>Baetis sp.</i>	23,81/28,57
2	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	4,76/176,12
3	<i>Potamophilus acuminatus</i>	9,52/190,4
4	<i>Heptagenia (H) flava</i>	33,3/275,9
5	<i>Macronyhus quadrituberculatus</i>	4,76/4,76
6	<i>Elmis sp.</i>	4,76/14,28
7	<i>Oulimnius sp.</i>	23,81/42,86
8	<i>Caenis rivulorum</i>	4,76/3,8
9	<i>Dixa nebulosa</i>	4,76/9,52
10	подсемейство <i>Tanyrodinae</i>	4,76/4,76
11	подсемейство <i>Chironominae</i>	123,8/104,75
12	<i>Isochaetides nevaensis</i>	9,52/9,52
13	<i>Nais barbata</i>	4,76/2,86
	Сумма	257,08/855,72

Оглавление

1. Введение	3
2. Биодиагностические методы при экотоксикологической оценке состояния окружающей среды.....	9
3. Биомаркирование	15
3.1. История введения в практику и использования биомаркеров в гидроэкотоксикологических исследованиях	15
3.2. Определение понятия «биомаркер».....	17
3.3. Общие требования (критерии), предъявляемые к кандидатам в биомаркеры	20
3.4. Особенности полевого использования биомаркеров в гидроэкотоксикологии.....	27
3.5. Классификация биомаркеров	31
3.6. Частные примеры биомаркеров, используемых в гидроэкотоксикологии	33
4. Биотестирование	46
4.1. Биотестирование как метод научного исследования.....	47
4.2. Термины и определения	52
4.3. История развития биотестирования	54
4.4. Области применения методов биотестирования и требования, предъявляемые к методикам	56
4.5. Основные группы тест-организмов, применяемые для целей биотестирования	59
4.6. Контактные методы биотестирования.....	67
4.7. Специализированные методы биотестирования	71
4.8. «Приборные» методы биотестирования	72
5. Биоиндикация	75
5.1. Понятие о биоиндикаторах	75
5.2. Требования, предъявляемые к биоиндикаторам	77

5.3. Биоиндикация загрязнения атмосферы.....	78
5.4. Биоиндикация загрязнения наземных экосистем	91
5.5. Биоиндикация загрязнения водных экосистем	100
Контрольные вопросы.....	118
Список литературы.....	121
Словарь	130
Приложение. Варианты практических заданий	134

Учебное издание

Чуйко Григорий Михайлович
Томилина Ирина Ивановна
Холмогорова Надежда Владимировна

Комплексная оценка биоэкологических и химических систем

Учебное пособие

Редактор, корректор М. Э. Левакова
Верстка М. Э. Леваковой

Подписано в печать 14.12.2018. Формат 60×84 1/16.

Усл. печ. л. 8,14. Уч.-изд. л. 6,0.

Тираж 25 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен
в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Ярославский государственный университет
им. П. Г. Демидова.
150003, Ярославль, ул. Советская, 14.