

*В.В.Александрова*

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА БИОТЕСТИРОВАНИЯ  
В АНАЛИЗЕ ТОКСИЧНОСТИ ПРИРОДНЫХ  
И СТОЧНЫХ ВОД**  
(на примере Нижневартовского района Тюменской области)

*Монография*



Издательство  
Нижневартовского государственного  
гуманитарного университета  
2009

**ББК 26.22**

**А 46**

Печатается по постановлению Редакционно-издательского совета  
Нижевартовского государственного гуманитарного университета

Рекомендовано к печати кафедрой экологии и естествознания  
естественно-географического факультета Нижевартовского  
государственного гуманитарного университета

*Рецензенты:*

доктор биологических наук, профессор кафедры  
зоологии Омского государственного педагогического  
университета *С.Ф.Лихачев;*

доктор биологических наук, профессор кафедры экологии  
и природопользования Омского государственного  
педагогического университета *И.И.Богданов*

**Александрова В.В.**

**А 46**      **Применение метода биотестирования в анализе токсичности природных и сточных вод (на примере Нижевартовского района Тюменской области):** Монография. — Нижевартовск: Изд-во Нижеварт. гуманит. ун-та, 2009. — 94 с.

**ISBN 978–5–89988–641–2**

Монография содержит введение, три главы, заключение и список литературы. Глава первая посвящена рассмотрению общих проблем и подходов к контролю уровня загрязнения гидросферы, во второй главе рассматриваются используемые методы и объекты исследования, глава третья включает результаты исследований природных вод методом биотестирования.

В монографии рассматриваются вопросы необходимости внедрения метода биотестирования природных и сточных вод в комплексе с химическим анализом вод. Рассмотрены вопросы интерпретации результатов биотестирования. Оценены достоинства существующей концепции ПДК.

Для научных работников, работников экологических служб, интересующихся вопросами качества окружающей природной среды.

**ББК 26.22**

**ISBN 978–5–89988–641–2**

© Александрова В.В., 2009

© Издательство НГГУ, 2009

## ВВЕДЕНИЕ

Материалом для монографии послужили результаты экотоксикологических исследований вод озер Самотлорской группы 2002—2004 гг., лабораторные экспериментальные исследования, экотоксикологические исследования сезонной динамики токсичности проб воды реки Оби 2002—2007 гг.

Фактические масштабы химического антропогенного пресса на окружающую среду давно переросли контролируемые возможности традиционного санитарно-гигиенического нормирования. Для осуществления контроля за загрязнением природных вод необходимо надежно определять несколько десятков ионов, веществ, классов соединений.

Природные воды являются весьма специфической средой, в которой состояние токсикантов и проявление их химических свойств и биологической активности существенно отличается от более простых экспериментальных моделей, на которых обычно проводятся лабораторные исследования их химических, биологических, токсических и других свойств. Нормальная жизнедеятельность гидробионтов, а следовательно, и уровень их устойчивости к различным повреждающим агентам, в частности, к токсическим веществам, а также степень токсичности различных групп веществ в значительной степени определяются такими абиотическими факторами водной среды, как минерализация, жесткость, рН, соотношение ионов, наличие комплексонов, содержание кислорода, температура и т.д. [Лесников, 1969; Брагинский, Щербань, 1978; Линник, 1986]. Устойчивость к воздействию токсикантов у организмов в разных зонах и регионах существенно различаются, что связано, прежде всего, с климатическими особенностями, гидрохимическим режимом, со способностью к самоочищению [Хоружая, 2002].

Биотестирование, как правило, проводится в стандартных, оптимальных для тест-объектах условиях; в частности, при биотестировании редко принимается во внимание температурный фактор, существенно влияющий на результаты биотестов [Брагинский, 1981]. Не учитывается также характер взаимодействия так называемых фоновых приоритетных загрязнителей. В условиях постоянной опасности возникновения техногенных катастроф

важное значение имеет прогнозирование эффектов комбинированного действия.

Нефтегазовая промышленность является основным источником загрязнения природных ресурсов в Нижневартовском районе. В исследуемом районе основное внимание уделяется охране и мониторингу речных систем, в то же время озера являются основной составной частью гидрографической сети.

Нижневартовским филиалом ФГУ «СИАК по ХМАО» проводятся наблюдения за качеством поверхностных вод на территории района в семи створах, двух водотоках по двадцати шести ингредиентам. Нижневартовская специализированная инспекция государственного контроля контролирует водотоки, протекающие на территории нефтегазовых месторождений; всего контролируется 253 створа, установленные выше и ниже границ очагов возможного загрязнения, однако на озерах, расположенных на территории месторождений, подобный контроль не осуществляется. Мониторинг химического и токсикологического состояния озерных вод проводится не систематически [Состояние окружающей природной среды и природных ресурсов в Нижневартовском районе, 2003].

Озеро Самотлор является примером водного объекта, подвергающегося значительной антропогенной нагрузке в связи с развитием нефтедобывающей промышленности. В пресных водах Самотлорского месторождения на глубине 180—200 м обнаружено присутствие нефтепродуктов, что может повлиять на качество воды подземного водозабора г.Нижневартовска [Труды NDI, Выпуск 1, 1997].

В исследуемом регионе природный фон концентраций ряда химических веществ и элементов весьма высок: он превышает ПДК в несколько раз. Превышение ПДК в течение года отмечается по следующим показателям: углеводороды нефти, аммоний, медь, железо, фенолы. Для данных веществ характерен не только антропогенный путь поступления в окружающую среду, но и естественная циркуляция в водах района исследования [Состояние окружающей природной среды и природных ресурсов в Нижневартовском районе, 2001].

# Глава 1. ОБЩИЕ ПРОБЛЕМЫ И ПОДХОДЫ К УРОВНЮ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГИДРОСФЕРЫ

## *1.1. Основные группы веществ, загрязняющих водоемы, и их влияние на водные экосистемы*

В настоящее время состав природных вод водоемов в значительной степени формируется под влиянием антропогенной нагрузки. На дне аккумулируется большое количество загрязняющих веществ разной природы: тяжелых металлов, органических веществ, нефтепродуктов. Происходит накопление наносов донных отложений в местах стоков промышленных предприятий [Никаноров, Жулидов, 1991; Beurskens, 1994].

Из загрязняющих веществ по объему поступления заслуживают внимания прежде всего тяжелые металлы, углеводороды нефти, полихлорированные бифенилы (ПХБ) и полиароматические углеводороды (ПАУ).

В отличие от органических загрязняющих веществ, металлы практически вечны, так как они не разрушаются при воздействии природных факторов. Все тяжелые металлы обладают одним общим свойством: они могут быть биологически активными. Вследствие этого, попадая в результате антропогенной деятельности в окружающую среду в миграционно-активном состоянии, они включаются в той или иной степени в биологический круговорот, и при определенных биогеохимических условиях и концентрациях тяжелые металлы начинают оказывать токсическое действие на живые организмы [Никаноров, Жулидов, 1991].

Донные отложения водоемов являются активными накопителями металлов [Beurskens, 1994]. Благодаря сорбционным процессам происходит самоочищение водоемов от соединений тяжелых металлов. Однако в определенных условиях не исключены процессы десорбции металлов и их переход в растворенном состоянии в толщу воды, т.е. донные отложения превращаются в источники вторичного загрязнения водных объектов [Линник, 1986].

Медь по биологическим функциям в живых организмах является типичным микроэлементом. Интенсивная сорбция меди обуславливает ее высокие концентрации в донных отложениях.

Повышенное содержание меди ( $> 1000$  мг/кг сухой массы) в донных отложениях часто связано с влиянием сточных вод; незагрязненные осадки содержат меди не более 20 мг/кг.

Цинк относится к числу широкораспространенных металлов. Уровни общего содержания цинка в донных отложениях пресноводных систем в районах добычи металлов превышают 1000 мг/кг сухой массы. Более низкие уровни содержания характерны для рек, протекающих через городские районы; в незагрязненных зонах его содержание не превышает 50 мг/кг.

Накопление мутагенов создает опасность увеличения темпов мутации у гидробионтов и у человека, что приводит к генетической патологии у потомства и к увеличению частоты развития рака у ныне живущего поколения [Burton, Stemmer, Winks, 1989].

Первые сообщения о влиянии нефтяного загрязнения на обитателей водной среды начали появляться еще в конце XIX века. В России это были работы, связанные главным образом с ущербом рыбному хозяйству Волги, обусловленным интенсивным загрязнением ее бассейна нефтепродуктами. Возрастающее нефтяное загрязнение водной среды в XX веке потребовало проведения более широких исследований.

Гидрофобная нефть образует тонкую пленку на поверхности воды, которая становится непригодной для использования при попадании 1 л нефти на 106 л воды. На открытых водных поверхностях с течением времени образуется эмульсионный слой «нефть — вода», который частично препятствует газообмену между водой и воздухом. Этот эффект приводит к тому, что все живые организмы, находящиеся под этой пленкой, постепенно задохнутся [Плотников, 1997]. При этом прежде всего при дыхании в клетках накапливается  $\text{CO}_2$ , что ведет к ацидозу, т.е. подкислению клеточной жидкости [Фелленберг, 1997]. Так, в лабораторных условиях при толщине нефтяной пленки в 4,1 мм количество растворенного кислорода понижается в течение 20—25 суток до 40% [Blokker, 1966].

Циклические углеводороды представлены в нефти нафтеновыми и ароматическими углеводородами. Нафтеновые углеводороды составляют от 35 до 60%. О токсичности нафтенов сведений почти нет. Вместе с тем имеются данные о нафтенах как о стимулирующих веществах при действии на живой организм (лечебная

нефть Нафталанского месторождения в Азербайджане). Биологически активными факторами этой нефти служат полициклические нафтеновые структуры [Anderson, 1950; Пиковский, 1993].

Содержание в нефти ароматических углеводородов колеблется от 5 до 40%. Среди полициклических ароматических углеводородов большое внимание обычно уделяют 3,4-бензапирену как наиболее распространенному представителю канцерогенных веществ [Andelman, Suess, 1970]. Ароматические углеводороды — наиболее токсичные компоненты нефти. В концентрации, равной всего 1% в воде, они убивают все водные растения. Нефть, содержащая от 30 до 40% ароматических углеводородов, значительно угнетает рост высших растений. Ароматические углеводороды трудно поддаются разрушению. Главным фактором деградации полициклических ароматических углеводородов в окружающей среде, особенно в воде и воздухе, является фотолиз, инициированный ультрафиолетовым излучением [Солнцева, 1998].

Моноядерные углеводороды — бензол и его гомологи — оказывают более быстрое токсическое воздействие на организмы, чем полициклические ароматические углеводороды, так как последние медленнее проникают через мембраны клеток, но действуют более длительное время, являясь хроническими токсикантами [Пиковский, 1993; Nuzzi, 1978].

Большую часть легкой нефти составляют метановые углеводороды (алканы — пентан, гексан). Метановые углеводороды, находясь в почвах, водной или воздушных средах, оказывают наркотическое и токсическое действие на живые организмы. Они лучше растворимы в воде, легко проникают в клетки организмов. Вследствие летучести и более высокой растворимости низкомолекулярных алканов, их действие обычно не бывает долговременным. В соленой воде нормальные алканы с короткими цепями растворяются лучше и, следовательно, они более ядовиты [Leppakoski, Linstrom; 1987]. Метановые углеводороды с температурой кипения выше 200 °С практически нерастворимы в воде. Их токсичность выражена гораздо слабее, чем у углеводородов с более низкомолекулярной структурой [Квасников, Ключникова, 1981]. Парафины нетоксичны для живых организмов, хорошо ассимилируются многими микроорганизмами (дрожжи, грибы, бактерии) [Lay et al., 1985].

Нефти Самотлорского месторождения (находящегося на территории района исследования) нафтеново-метанового типа, малосернистые; содержание сернистых соединений в нефти колеблется в диапазоне от 0,07 до 0,09% [Бейко, Головки, Горбунова, 1988].

По данным Н.Д.Мазманиди, нефть — это сложная смесь с комбинированным токсическим действием. Каждый из компонентов нефти может выступать как самостоятельный токсикант; с другой стороны, в природных водах нефть циркулирует как групповой токсикант до того момента, пока не подвергнется деградации и трансформации под действием биотических и абиотических факторов. Существует утверждение о том, что сырая нефть, будучи продуктом естественного происхождения, не является «настоящим» загрязнителем. Но вряд ли можно считать естественным присутствие нефти и нефтепродуктов в озерах и реках [Мазманиди, 1974].

Включение нефтяных углеводородов нефти в ткани животных приводит к аккумуляции полициклических ароматических углеводородов (включая канцерогенные) и к передаче их выше по пищевой цепи [Ковалева, Бажашвили, 1973; Ковалева, 1976; Котов, 1976]. Наиболее критическими стадиями в онтогенезе, чувствительными к нефтепродуктам, являются ранние стадии онтогенеза. Биологические критерии — это снижение темпов роста и развития, склонность к изменениям тератологического характера, снижение плодовитости или даже потеря способности к размножению [Мазманиди, 1974]. Установлено также, что при интоксикации нефтяным загрязнением у креветок, морских звезд и морских ежей могут происходить изменения в содержании свободных нуклеотидов и нуклеиновых кислот [Дивавин, 1975; Дивавин, Ерохин, 1978].

На основании большого сравнительного материала по воздействию нефтяного загрязнения на обитателей водной среды можно сделать два обобщенных вывода. В систематическом отношении наименее чувствительными к токсикантам являются наименее организованные организмы — бактерии, водоросли и грибы. Наибольшей чувствительностью обладают рыбы, являясь высокоорганизованными водными животными с дифференцированной нервной системой, особенно чувствительной к ядам. Беспозвоночные животные на этой шкале занимают промежуточное положение



[Строганов, 1976]. В экологическом отношении донные организмы более устойчивы, чем пелагические рыбы и беспозвоночные планктона, а в физиологическом отношении более устойчивыми оказались малоподвижные гидробионты [Giesy, Hoke, 1996]. Между тем специальных исследований по воздействию нефтяного загрязнения на природные биоценозы несравненно меньше, чем экспериментальных исследований.

## ***1.2. Биотестирование как современный метод оценки качества окружающей природной среды***

Биотестирование, как интегральный метод оценки токсичности водной среды, является необходимым дополнением к химическому анализу [Туманов, Постнов, 1983]. Биотестирование включено в стандарты по контролю качества вод различного назначения [Методическое руководство..., 1991].

Токсикант — фактор, работающий на энтропию, фактор разрушения живого. В экологической системе нарастает противодействие, стремящееся устранить энтропический фактор, и это создает ее особое свойство — буферность [Камшилов, 1973; 1979]. Экосистема поглощает и перерабатывает токсикант в определенных пределах. Лишь когда этот потенциал сопротивления исчерпан, начинается собственно токсическое действие.

Характеристика и качество выполнения биологического тестирования напрямую зависят от выбора трех показателей: 1) тест-организмов; 2) условий проведения испытаний; 3) регистрируемых показателей.

Основной принцип практического лабораторного биотестирования природных и сточных вод, реализуемый в развитых странах, — это применение одновременно трех-четырёх методов с тест-организмами, представляющими разные трофические группы: водоросли и высшие растения — первичные продукты, дающие начало большинству пищевых цепей в водоеме; рачки, один из основных фильтраторов и седиментаторов в пресных водоемах. В экспресс- и хронических опытах как тест-организмы используют также моллюсков, рыб — речных и акваториальных [Строганов, 1971; Мерц, 1994].

В России при осуществлении государственного экотоксикологического контроля допускается использование только тех методик биотестирования, которые внесены в Госреестр, или тех, которые (пока они не внесены в Госреестр) приведены в РД 118-02-90 [Методическое руководство..., 1991].

Цель биотестирования водной среды — выявление на гидробионтах степени и характера токсичности воды, загрязненной биологически опасными веществами и оценка возможной опасности этой воды для водных и других организмов [Строганов и др., 1983]. Главные достоинства биотестирования — простота и доступность приемов их постановки, высокая чувствительность тест-организмов к минимальным концентрациям токсических агентов, быстрота, отсутствие надобности в дорогостоящих реактивах и оборудовании. По мнению ряда авторов, ни один из отдельно взятых организмов не может служить универсальным тест-объектом, чувствительным к веществам различной химической природы; следовательно, для гарантированного выявления в среде токсического агента должен использоваться набор биотестов, представляющих организмы различных таксономических групп [Брагинский и др., 1979; Лесников, 1983; Филенко, 1989].

Классическим объектом в качестве аналитического индикатора среди ветвистоусых рачков стала *Daphnia magna* Straus. *D. magna*; как тест-объект она входит в большинство национальных и международных стандартов исследования качества воды [Baldwin W.S., Milan D.L., Leblanc D.A., 1995; Frear D., Boyd J., 1967]. Для определения в воде неорганических ионов дафний используют с 40—50-х годов.

Для тестирования вод природных водоемов главное требование — чувствительность тест-объектов к тем микроколичествам токсиканов, характерных для естественных вод [Брагинский, Береза, Биргер и др., 1979; Макрушин, 1988; Щербань, 1992; Волков, Заличева, 1993 и др.], в отличие от возвратных вод, где основное — оперативность теста. Исходя из того, что чувствительность к присутствию отдельных веществ у видов разной систематической принадлежности и трофического статуса неодинакова, при биотестировании используются реакции разного уровня: структурные (динамика численности, поведенческие и т.д.),

функциональные (темп размножения и т.д.) [Лесников, 1969; Строганов, 1981; Филенко, Исакова, 1981; Щербань, 1992].

Выбор стандартных условий проведения испытаний также немаловажен, как и выбор тест-объектов. При постановке опыта следует обязательно установить и учесть действующие факторы и диапазоны их изменения. К числу таких факторов следует отнести, в первую очередь, концентрацию токсиканта, продолжительность экспозиции тест-организмов в токсической среде и температуру воды, т.е. факторы, присутствующие в каждом эксперименте и практически неустраняемые [Брагинский, Щербань, 1986].

При выборе длительности опытов необходимо учитывать биологию тест-объектов, характер действия исследуемого вещества, цель и задачи биотестирования. Наиболее часто используются тесты по критериям выживаемости и плодовитости. Популяционный смысл критерия выживаемости: любая популяция неоднородна в отношении чувствительности к токсиканту, в ней есть особи резистентные и толерантные, и токсикант в плане дальнейшей судьбы популяции действует как фактор отбора. Одним из главных критериев благополучия, с точки зрения популяции, является соотношение между рождаемостью и смертностью. Учесть его в естественных условиях очень трудно, но оно отчетливо может быть охарактеризовано в опытах на синхронизированной тест-культуре беспозвоночных животных с коротким жизненным циклом. Отрезок времени наблюдения за ответной реакцией организма выбирается с учетом цели анализа (хронический эксперимент может продолжаться 40—50 суток). В острых опытах проявления токсического действия веществ существенно изменяются в течение 24, 48, 72, 96 и 120 часов. Для простейших, в связи с их коротким жизненным циклом, время экспозиции сокращается до нескольких часов в остром опыте и до 24—48 часов в хроническом. Острые опыты рассчитаны на получение экспресс-информации о токсичности исследуемого вещества для данного тест-организма. Так, при наблюдении за динамикой гибели тест-культур (беспозвоночных, водорослей и др.) в острых опытах с тяжелыми металлами установлено (при температуре 25 °С), что в первые сутки гибель незначительна, а максимум смертности достигается на пятые сутки. В других случаях максимум смертности может быть достигнут за трое суток. Не случайно при определении

острой токсичности указывается, по крайней мере, LC 5048. В то же время не все тест-объекты могут существовать *in vitro* 4—5 суток. Срок, который для достаточно долго живущих организмов (ветвистоусые, веслоногие, гаммариды, рыбы) может рассматриваться как время острого опыта, у тест-объектов с очень коротким жизненным циклом (например, бактерии, простейшие, колостратки) может охватывать время жизни нескольких генераций. Срок проявления эффективного действия разных токсикантов весьма различен. Методика выполнения биотестирования с водными животными подробно изложена в работах [Строганов, 1968; Брагинский, Береза и др., 1979; Methoden zur Bestimmung der Toxizität, 1970].

В литературе широко освещены результаты тестирования искусственно приготовленных растворов (тяжелые металлы, СПАВ и т.д.) известных концентраций [Щербань, 1977; Лазарева, 1985; Филенко, Лазарева, 1989 и др.]. Интерпретация результатов тестирования природных вод, загрязненных многокомпонентными стоками, сложно перекомплексованными между собой и с природными компонентами, представляет собой задачу чрезвычайно сложную. Взаимосвязи между химико-аналитическими показателями токсичности вод и данными биотестирования сложны и теоретически не разработаны [Брагинский, Комаровский, Щербань и др., 1989].

Малое воздействие может быть полностью перекрыто компенсационным ответом организма, и эффект в этом случае не выходит за значения нормы. При сублетальных воздействиях (что чаще всего и бывает в реальной ситуации водного объекта) накопление повреждений может и не превышать компенсаторный потенциал, причем в этих условиях организм не только живет и размножается, но и получает стимуляцию. Периоды стимуляции и угнетения жизненных функций чередуются, представляя собой две фазы в динамике токсического воздействия на организм [Maki, Bishop, 1979; Филенко, Исакова, 1981].

В токсикологических исследованиях, в частности при биотестировании, редко принимается во внимание температурный фактор, существенно влияющий на результаты биотестов [Брагинский, 1981]. Критерии к выбору диапазона варьируемых температур основываются на представлении о том, что ферментные системы

водных организмов наиболее активно функционируют и, соответственно, наиболее уязвимы для действия токсикантов при температуре в пределах 18—25 °С. Температура свертывания белка, как правило, ограничивает допустимый интервал изменения температуры. От температуры зависят скорость поступления и выделения токсиканта, реакции, вызывающие повреждения, и процессы, определяющие обезвреживание ксенобиотиков, и процессы репарации. При повышении температур на 4—15 °С различия в эффективности действия токсикантов могут выражаться резким возрастанием чувствительности гидробионтов к химическим агентам. В отличие от пойкилотермных организмов, гидробионты физиологически открыты для доступа яда только в условиях оптимальных температур. При температуре ниже 15 °С их ферментные системы угнетены, обмен с окружающей средой ослаблен, а присутствие токсикантов в среде для них не представляет серьезной угрозы [Cairns, Heath, Parker, 1975; Брагинский, 1981]. Таким образом, сам факт токсичности вещества и высокая смертность, устанавливаемая в опытах, не являются доказательствами его популяционной опасности, а являются лишь предупреждением об угрозе токсического действия при оптимальных условиях. В лабораторных условиях, как правило, поддерживаются оптимальные температуры 18—25 °С, а эти температуры нетипичны для естественных водоемов России, где даже летом вода не нагревается выше 25 °С или такая температура кратковременна [Брагинский, Щербань, 1978; Сапрыкина, 2000].

Влияние температуры на гидробионтов сказывается по-разному для веществ различной химической природы. При действии серноокислых солей металлов Cu, Cd, Ni, Mn при увеличении температуры от 10 °С до 30 °С их токсичность для *D. magna*, *Acanthocyclops viridis*, *Cloen dipterum* резко возрастала на один-три порядка для кадмия и на два-три порядка для меди и цинка [Щербань, 1977; Брагинский, Щербань, 1978]. Токсичность пестицидов, альдрина, дильдрина, эндрина, полихлорпинена, 4,4-ДВ, 2,4-триазола возрастала с увеличением температуры [Кнарек, Lascota, 1974]. Существуют данные о том, что при увеличении температуры (с 5 °С до 18 °С) возрастает токсикорезистентность *D. magna* для соединений, таких как пирокатехин, CdCl<sub>2</sub>; резорцин

был несколько более токсичен для *D. magna* при низкой температуре [Бархатова, 2000].

### ***1.3. Нормирование качества природной среды***

До последнего времени оценка токсичности вод осуществлялась только с помощью физико-химических методов анализа [Гелашвили и соавт., 1998, 1999]. Фоновые концентрации зачастую значительно превышают установленные ПДК, при этом следует учесть, что программа постоянного мониторинга водоемов ведется по ограниченному списку ингредиентов и не включает большинство известных токсикантов.

В качестве ПДК принимается допустимая недействующая концентрация для наиболее чувствительного звена среди набора использованных тест-объектов [Протасов, Матвеев, 2001]. Сравнительный анализ токсикологических данных по веществам, для которых установлены ПДК, показывает, что в большинстве случаев наиболее слабыми звеньями, по которым шло нормирование ПДК, были планктонные ракообразные (дафнии), развивающаяся икра, личинки и молодь рыб, и одноклеточные водоросли [Baldwin, Milan, Leblanc, 1995].

Интегральная токсичность по итогам биотестирования может существенно отличаться от показателей, устанавливаемых по формальному критерию, соответствующему условным величинам ПДК [Жмур, 1999]. С позиций экологии, ПДК вредных веществ обозначают верхний предел устойчивости организма, при превышении которого то или иное вещество (или фактор) становится лимитирующим. Упомянутое далее ПДК рыбохозяйственных водоемов означает максимальные концентрации, при которых вещества не оказывают прямого или косвенного вредного воздействия на водные организмы.

Экологические нормативы — ПДК — не могут быть едиными для всех типов экосистем и для разных климатографических условий [Хоружая, 2002]. В ряде регионов страны природный фон концентраций ряда химических веществ (металлов, например) весьма высок и превышает ПДК в несколько раз. Существующая система единых национальных нормативов ПДК давно подвергается

справедливой критике. Специалисты считают, что межрегиональная экстраполяция рыбохозяйственных ПДК недопустима, и необходим биогеохимический подход к лимитированию техногенных воздействий на экосистемы. Перечислим основные недостатки концепции ПДК:

— нормативы ПДК определяются в лабораторных условиях в краткосрочных и хронических экспериментах на изолированных популяциях организмов, по ограниченному набору физиологических и поведенческих реакций для отдельных факторов без какого-либо учета их возможного взаимодействия;

— ПДК принимаются как единые нормативы для огромных административных территорий, в то время как действие загрязняющих веществ зависит от специфических фоновых, климатических, хозяйственных и многих других характеристик конкретного региона;

— за несколько десятилетий установлено около тысячи ПДК, тогда как число загрязняющих веществ антропогенного происхождения превысило миллионы наименований; кроме того, при попадании в водоем химические вещества вступают во взаимодействие и образуют вещества разнообразной химической природы;

— полученные нормативы считаются универсальными для любого времени года.

Альтернативой методологии ПДК, биологической основой которой является существование пределов толерантности для отдельных организмов, могла бы служить концепция экологической толерантности, устанавливающая допустимые уровни воздействий для биотической части реальных экосистем [Хоружая, 2002].

Должно учитываться, что устойчивость (чувствительность) к воздействию у организмов в разных зонах и регионах существенно различается, что связано прежде всего с климатическими особенностями, гидрохимическим режимом, способностью к самоочищению. Каждая экосистема обладает эволюционно обусловленным уникальным комплексом связей между отдельными компонентами, специфическим адаптационным потенциалом [Хоружая, 2002]. Устойчивость гидробионтов и их популяций к продолжающимся токсическим воздействиям со временем может повышаться. Показано, например, повышение устойчивости

водорослей, копопед, изопод, личинок хираномид к металлам. Это повышение является следствием адаптации. Адаптация в одном случае представляет собой изменения в организме, которые повышают способность особи или популяции противостоять неблагоприятным факторам окружающей среды. Продолжение популяции будет обеспечено размножением выживших устойчивых особей. Итогом такого преобразования популяции становится общее повышение ее устойчивости к токсическому воздействию.

Механизмы фенотипических адаптаций гидробионтов могут быть разнообразными. Устойчивость гидробионтов может повышаться за счет продуцирования экзометаболитов, связывающих ионы токсических металлов, за счет связывания ионов компонентами клеточных стенок (например, полисахаридами), за счет изменения свойств мембран, приводящих к снижению их проницаемости, за счет связывания ионов внутри клеток специальными веществами, за счет компенсаторных изменений метаболизма, нивелирующих поражение токсикантом. Для водоросли *Anabaena cylindrica* повышение устойчивости обеспечивалось экзометаболитами. Понижение накопления показано для микроорганизмов, полихеты, хлореллы. Адаптированные личинки хираномид переносили большие содержания тяжелых металлов в грунте и реакция избегания у них была выражена слабее. Повышенная устойчивость рачков к свинцу формировалась за 5 дней. Изоподы приобретали повышенную устойчивость за счет образования «купросом» в клетках гепатопанкреаса [Филенко, 1988]. Адаптации всегда носят системный характер [Строганов, Филенко, Лебедева, 1983].

Среди процессов, ответственных за адаптацию, можно выделить специфические и неспецифические проявления. Так, изменение солености может вызвать активность процессов, обеспечивающих регуляцию проницаемости ионов через мембраны. Повышение температуры может включить химические процессы, регулирующие скорость ферментных процессов в клетках, нарушенную этим повышением. Но при тех и других изменениях имеет место повышение синтеза макроэргических связей за счет активизации митохондрий, а в дальнейшем — за счет образования новых митохондрий. Это повышение продукции макроэргических связей является уже проявлением неспецифической адаптации.



Это может послужить причиной того, что организм, адаптированный к одному фактору, часто обладает повышенной устойчивостью и к другому.

Хронические эксперименты на поколениях рачков дают возможность рассматривать адаптивные изменения, как фенотипические, возникающие в результате прямого действия среды на организм, так и генотипические, передающиеся по наследству.

Установлено, что в процентном отношении биомасса токсикорезистентных видов гидробионтов возрастает с севера на юг. Уязвимость природы Севера связана с малым количеством вещества и энергии, вовлекаемых в круговорот — на 1—2 порядка меньше на единицу площади за единицу времени, чем в более южных зонах. На Севере проходят экологические границы многих растений и животных, что делает их генетически неустойчивыми к антропогенной нагрузке [Докучаев, 1948; Троли, 1989; Базиневич, Гребенщиков, Тишков, 1986].

Таким образом, ПДК должны разрабатываться для отдельных регионов с использованием местных популяций тест-организмов. Другим принципиальным ограничением применения стандартной процедуры нормирования загрязнения водных объектов является то, что «концепция ПДК» в большинстве случаев рассматривает нормирование изолированного действия поллюантов, тогда как в реальных условиях имеет место комбинированное воздействие их смесей переменного состава [Жмур, 1999]. Единственным объективным показателем характера комбинированного действия (аддитивного, потенцирующего или антагонистического) смеси загрязнителей является ответная реакция (отклик) тест-системы. Биотестирование в такой ситуации методологически более верно по сравнению с гидрохимическим анализом [Степанов, 1989; Золотев, 1999; Баканов и соавт., 2000].

Для определения влияния того или иного фактора на организм существенное значение имеет понимание роли дозы или уровня воздействия этого фактора. Температура, концентрация растворенных веществ, в том числе кислорода, имеют некоторый диапазон оптимума для гидробионтов. Различные вещества по-разному ведут себя при одинаковом характере изменений среды, в том числе в плане трансформации и токсичности метаболитов. Незагрязненные природные воды представляют собой сложные по

физико-химическому составу системы и содержат различные по дисперсности взвешенные вещества и растворенные соединения минеральной и органической природы. Эти компоненты могут либо усиливать, либо снижать токсичность попадающих в водоем загрязняющих веществ. Так, адсорбция ионов металлов взвешенными частицами и выпадение их в осадок приводят, как правило, к детоксикации [Сафонова, 1989].

Взвесив достоинства и недостатки ныне существующей концепции ПДК, учитывая климатические особенности района исследования, считаем методологически более верным использовать методы биотестирования наряду с гидрохимическим анализом. Биотестирование рекомендуется проводить на нескольких тест-объектах.

## Глава 2. ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ КАК АНАЛИТИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ

### *2.1. Живые организмы различных систематических групп, используемые в качестве аналитических индикаторов*

*Микроорганизмы* как аналитические индикаторы привлекают большое внимание исследователя в силу высокой чувствительности к широкому кругу веществ, простоты культивирования и объективности получаемых аналитических результатов.

Наиболее изученными микроорганизмами с точки зрения возможности их использования при определении неорганических ионов являются плесневые грибы рода *Aspergillus* [Злочевская, 1968]. Исследованные культуры наиболее чувствительны к нитратам ртути, кадмия, таллия и серебра, токсическое действие которых объясняется блокированием SH-групп молекул белков микроорганизмов.

Помимо плесневых грибов, при микробиологическом определении веществ применяются бактерии. Наиболее чувствительны методики определения катионов тяжелых металлов по хемотаксису бактерий. Также для биологической оценки содержания меди в воде используется влияние  $\text{Cu}_2^+$  на рост бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus articulatus*. Минимальная определяемая концентрация меди  $3 \cdot 10^{-8}$  М [Крестьянинов, 2002]. Бактерии как аналитические индикаторы успешно используются при определении металлоорганических соединений.

В проводившихся токсикологических исследованиях на микроорганизмах, как правило, не учитывалось возможное взаимодействие катионов металлов с компонентами среды, и полученные данные не совсем точно отражают истинную токсичность катионов. В большинстве работ соли металлов вносились непосредственно в культуральные среды. При этом количество внесенного вещества и его содержание в биологически активной форме могут сильно различаться, так как часть или все ионы металла могут быть выведены в осадок в виде малорастворимых фосфатов, карбонатов или гидроокисей. Тяжелые металлы взаимодействуют также с некоторыми органическими компонентами

сред с образованием комплексов, действие которых неравнозначно исходной биоцидности катионов [Hansen and Bonde, 1969].

Беспозвоночные широко распространены как в пресных, так и в соленых водоемах, и, таким образом, они могут служить показателем качества водной среды и аналитическими индикаторами при определении веществ в водных растворах. Рассмотрим различные виды беспозвоночных с аналитической точки зрения.

*Среди простейших* в качестве аналитических индикаторов наиболее перспективны *Paramecium caudatum*. В аналитическом аспекте простейшие интересны тем, что могут рассматриваться как простые рецепторно-электронные системы, обладающие способностью реагировать на химическое воздействие всем комплексом биологических, физиологических и биохимических изменений [Dryl, 1970]. Поведенческие реакции, как правило, являются откликом на воздействие весьма малых (сублетальных) доз вредных веществ, что обеспечивает высокую чувствительность методик, основанных на использовании реакций этого типа [Пожаров, Рахманин, Шелемотов и др., 1994]. Эти инфузории неприхотливы, легко культивируются в лабораторных условиях и обладают высокой чувствительностью к биологически активным веществам. Чувствительность парамеций к катионам тяжелых металлов, гербицидам, органическим кислотам, фенолам, спиртам, альдегидам, некоторым лекарственным препаратам обсуждается в ряде работ [Pietrowicz-Kosmyńska, 1971, 1972; Dryl, 1970; Nakatani, 1970; Sleight, 1970; Трунова, 1979; Туманов, Постнов, 1983].

Среди работ, в которых описаны методики определения концентрации веществ с использованием парамеций, следует отметить [Methoden zur Bestimmung der Toxizität, 1970; Осипова, 1969].

*Из ракообразных* классическим объектом в качестве аналитического индикатора среди ветвистоусых рачков стала *D. Magna*, отвечающая ряду требований, предъявляемых к биотесту: доступность в природе, простота лабораторного содержания и высокий темп размножения, небольшой, но в то же время достаточный для визуального наблюдения размер животного.

Установлено [Ривьер, Флеров, 1973; Лестников, 1976], что молодые *D. magna* чувствительнее к токсичным веществам, чем взрослые, в связи с чем рекомендуется в качестве биотестов использовать молодь в возрасте не более 15—26 часов [Frear, Boyd, 1967].

Еще в 40-е годы была исследована чувствительность рачков к неорганическим ионам [Anderson, 1950], где констатировалась наибольшая чувствительность *D. magna* к ионам серебра, ртути, кадмия, хромата, бихромата, цианида и йодида. В дальнейшем этому вопросу было посвящено большое количество работ [Щербань, 1975; Biesinger, Christensen, 1972; Schweyer, 1974; Bertran, Hart, 1979; Qureshi and all, 1980]. Сравнительно невысокая чувствительность *D. magna* к катионам тяжелых металлов связана с наблюдающейся детоксикацией катионов в воде за счет комплексообразования [Авакян, 1967; Алимарин, 1960; Злочевская, 1968; Dryl, 1970].

Эти животные являются фильтраторами и пропускают через себя большое количество водной среды, что обуславливает их чувствительность к растворенным в воде веществам. Аналитическим сигналом служит время 100% иммобилизации дафний. Диапазон определяемых концентраций для ДДВФ составляет 0,005—1 мкг/г, для бутифоса — 1—20 мкг/г; погрешность — 2—8%. При хроническом воздействии катионы металлов оказывают неблагоприятное влияние на размножение *D. magna* при концентрациях (мг/л): кадмий  $1,7 \cdot 10^{-3}$ , ртуть  $3,4 \cdot 10^{-2}$ , медь, свинец, никель, платина  $1,3 \cdot 10^{-1}$ , железо, хром, мышьяк, алюминий 3—5, щелочные и щелочноземельные металлы 40—120, а натрий в виде соли NaCl вызывает неблагоприятное воздействие на жизнедеятельность животных при концентрациях не менее 500—680 мг/л [Biesinger, Christensen, 1972].

При концентрациях менее 0,1 мг/л остротоксического действия катионы металлов на дафний не оказывают, однако при сублетальных концентрациях наблюдается воздействие на воспроизводительную функцию животных: увеличение периода эмбрионального развития, снижение численности молоди в помете, замедление скорости полового созревания [Щербань, 1975]. При сопоставлении чувствительность дафний и инфузорий к катионам тяжелых металлов практически совпадает [Biesinger, Cliristansen, 1972; Трунова, 1979].

Токсичность катионов, как уже отмечалось выше, может существенно снижаться за счет присутствия в воде различных комплексообразователей [Gacher, Lum-Shue-Chan, 1973], а также с

повышением жесткости воды [Blac and all, 1973; Carter, Cameron, 1973; Lake and all, 1979]. Токсичность катионов металлов зависит также от pH среды [Baudouin, Scorpa, 1975] и температуры раствора [Caims and all, 1975]. Метод биотестирования с помощью дафний  $Cu_2^+$ ,  $Ni_2^+$ ,  $Zn_2^+$ , а также  $CN^-$  в сточных водах по чувствительности занимают промежуточное положение между рыбами и микроорганизмами [Schweyer, 1974].

На металлоорганические соединения дафнии реагируют обычно сильнее, чем на катионы соответствующих металлов. Трибутиловоакрилат летально действует на животных при концентрациях порядка  $1 \cdot 10^{-3}$  мг/л, в то же время  $2 \cdot 10^{-6}$  мг/л трибутиловохлорида стимулируют их жизнедеятельность, а растворы  $2 \cdot 10^{-2}$  —  $4 \cdot 10^{-2}$  М тетраметил- и тетрафенилсвинца не оказывают влияния на выживаемость, но уменьшают плодовитость дафний [Колосова, Строганов, 1973]. Тест-реакция дафний на металлоорганические соединения заслуживает внимания в связи с тем, что осуществление контроля соединений этого класса в объектах среды, в том числе и химическими методами, представляет в ряде случаев сложную задачу.

Чувствительность дафний к органическим веществам существенно зависит от их природы. Фенол при содержании 1—2 мг/л стимулирует размножение животных [Алымова, 1975]. Летальное действие поверхностно-активных веществ на дафний проявляется при концентрациях 0,8—30 мг/л [Брагинский, Буртная, Щербань, 1979; Коскова, Козловская, 1979]. Сообщается [Ривьер, Флеров, 1973] о губительном действии на дафний 0,5 мг/л полихлорпиненна. Приводятся данные [Frear, Boyd, 1967], свидетельствующие о еще более высокой их чувствительности к ДДТ, метокси-хлору, гептахлору, ронеллу, альдрину, LC50 которых находится в пределах  $1 \cdot 10^{-3}$  —  $5 \cdot 10^{-2}$  мг/л. Напротив, в работе [Phillips, 1978] говорится о слабой чувствительности биологических объектов к ХОС и высказывается сомнение в возможности их биоиндикации.

Повышение температуры анализируемой водной среды на 8—10 °С по сравнению с оптимальной для жизнедеятельности дафний приводит к сокращению времени анализа в два-шесть раз и к

понижению предела обнаружения в среднем на порядок [Брагинский, Щербань, 1978].

С повышением температуры снижается концентрация кислорода, что обычно повышает эффект токсических веществ для гидробионтов [Плотиков, 1997; Трахтенберг, 1991]. В то же время токсичность кадмия и его накопление в водных насекомых возрастали с повышением концентрации кислорода.

К недостаткам дафний можно отнести сложность их разведения в зимний период и трудоемкость операций, связанных с поддержанием культуры.

Кроме *D. magna*, в качестве аналитических индикаторов в биологическом методе анализа могут выступать циклопы, гаммариды, артемии, ракушковые рачки [Брагинский и др., 1978; Гудкова, 1979; Гроздов и др., 1979; Исакова, Строганов, 1975; Строганов, 1968; Kawtski, Schmulbach, 1971; Muirhead-Thomson, 1979; Miura Takeni Takashi, 1974]. Однако они менее распространены в анализе, так как чувствительность их к химическим веществам уступает таковой у дафний.

Рачок артемия представляет интерес как аналитический индикатор. Благодаря тому, что этот рачок может приспосабливаться к колебаниям солености воды, его можно использовать в качестве подопытного организма. Установлено что артемия лучше всего растет при солености 12%, он может переносить и более соленую воду — до 24%, хотя развитие его при этом замедляется [Волцит, Черняховский, 1999].

*Среди насекомых*, используемых для аналитических целей, следует в первую очередь выделить личинки комаров. Эти организмы легкодоступны, и их можно содержать в большом количестве в лабораторных условиях. В качестве аналитического сигнала используют поведенческие реакции, выражающиеся в изменении скорости и траектории движения, фототаксис личинок и их выживаемость. Личинки комара *Culex pipiens molestus* наиболее чувствительны к пестицидам. Личинки хирономид *Chironomus plumosus* показали высокую чувствительность к нитратам кадмия и меди. Минимальные концентрации солей, изменяющие реакцию фототаксиса этих животных, составили  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л соответственно [Javier, 1976; Darwazch, Mulla, 1974; Кербабаяев, Мальцман, 1970; Седых, Попов, Абеленцева, 1972].

*Среди червей* наиболее исследованы с аналитической точки зрения свободноживущие нематоды семейства Panogrolaimidae. Известны методики определения биологически активных начал пчелиного яда по времени жизни нематод *Panagrellus redivivus* в серии стандартных растворов. Также нематоды чувствительны к катионам  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}_2^+$ ,  $\text{Cu}_2^+$ ,  $\text{Zn}_2^+$ . В связи с этим разработаны методики определения вышеперечисленных катионов с использованием в качестве аналитического сигнала продолжительности жизни нематод в растворах солей тяжелых металлов.

Аналитическими индикаторами при биологическом определении веществ могут выступать пиявки (*Hirudo medicinalis*) и коловратки, однако эти животные используются реже [Флеров, Лапкина, 1976; Франке, Франц, 1973; Блохина, Помазкова, Стом, 1978].

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. *Scenedesmus capricornutum* — стандартный тест-объект [Blanck, Wangberg, 1988]; в качестве тест-параметра используют рост этой водоросли за 96 часов — интенсивность фотосинтеза, основанную на ассимиляции меченой углекислоты за 24 ч. Описаны тесты с *Chlorella vulgaris* по оценке токсичности природных и сточных вод. В опытах с хлореллой учитывают видимые изменения, происходящие с колониями: изменение количества, размеров, цвета и структуры поверхности [Безрукова, 2000].

При использовании *позвоночных* в биологическом методе анализа в качестве аналитических индикаторов можно применять как целый организм, так и органы, ткани и системы, обладающие ярко выраженной хеморецепцией.

*Рыбы* — излюбленный объект для определения пригодности воды для водных организмов и токсичности промышленных стоков на водную среду. Биологическое определение веществ, основанное на применении целого организма, предполагает контроль поведенческих реакций, скорости размножения и выживаемости. Авторами получен ряд чувствительности групп и к катионам тяжелых металлов:  $\text{Hg}_2^+ > \text{Cu}_2^+ > \text{Cd}_2^+ > \text{Pb}_2^+ > \text{Ni}_2^+ > \text{Mn}_2^+$ . Минимальная определяемая концентрация  $\text{Hg}_2^+ 1 \cdot 10^{-6}$  моль/л.



Использование изолированных органов и тканей представляет интерес вследствие их высокой чувствительности, быстроты отклика и возможности автоматизации. Известны методики определения кислот, щелочей и некоторых катионов тяжелых металлов по изменению биоэлектрической активности седалищного нерва лягушки *Rana redibunda* Z. Установлено, что седалищный нерв с достаточно высокой чувствительностью реагирует на хлориды меди, цинка, марганца и кобальта. Растворы  $MnCl_2$  с концентрацией порядка  $1 \cdot 10^{-9}$  моль/л приводят к длительному повышению возбудимости нерва, а растворы той же соли с концентрацией  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л угнетают возбудимость нерва. Растворы  $CuCl_2$  с концентрацией  $10^{-9}$ — $10^{-8}$  моль/л снижают возбудимость нерва вплоть до полного блокирования. Описана методика количественного определения катионов  $Ag^+$ ,  $Hg_2^+$  на уровне концентраций  $10^{-7}$  моль/л, а также  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  на уровне  $10^{-6}$  моль/л с использованием в качестве аналитического сигнала степени дегенерации тканей человека [Крестьянинов, 2002].

Для изучения экотоксикологических эффектов комбинированного действия ксенобиотиков на животный и растительный мир, кроме млекопитающих, в качестве тест-объектов в работах по комбинированному действию используются также амфибии, беспозвоночные и одноклеточные микроорганизмы [Dawson, 1994].

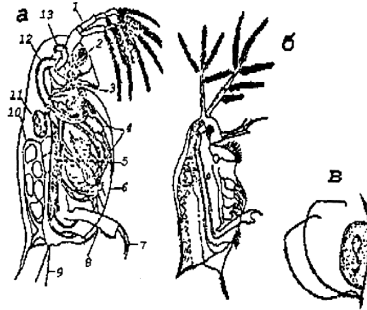
## **2.2. Методы биотестирования с использованием *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis***

*Характеристика тест-объектов.* Род дафний включает около 50 видов, среди которых наиболее обычны *Daphnia magna*, *D. pulex*, *D. longispina*, *D. carinata*. Самый крупный вид — *Daphnia magna* Straus (отряд Cladocera, класс Crustacea). Это организмы, относящиеся к группе фильтратов и живущие преимущественно в толще воды. Обитают в стоячих и слабопроточных водоемах, на территории России распространены повсеместно. Они играют важную роль в процессах самоочищения водоемов от взвешенных в воде веществ, при этом на них могут оказывать значительное действие растворимые, мелкодисперсные взвешенные компоненты сточных вод.

Короткий биологический цикл развития позволяет проследить рост и развитие на всех жизненных стадиях. В течение жизни выделяют ряд стадий, сопровождающихся линьками: первые три — ювенильные, следуют через 20—24—36 часов, четвертая (созревание яиц в яичнике) и пятая (откладка яиц в выводковую камеру) следуют с интервалом 1—1,5 суток. Начиная с шестой стадии, каждая линька сопровождается откладкой яиц. Период созревания рачков при температуре  $20 \pm 2$  °С и хорошем питании — 5—8 дней. Длительность эмбрионального развития обычно 3—4 дня, а при повышении температуры до 25 °С — 48 часов. Партегенетические поколения следуют друг за другом каждые 3—4 дня. Вначале число яиц в кладке 10—15, затем может возрастать до 30—40, формирование яиц прекращается за 2—3 дня до смерти. В природе *D. magna* живут в среднем 20—25 дней, в лаборатории при оптимальных условиях — 3—4 месяца и более. При температуре свыше 25 °С продолжительность жизни может сократиться до 25 дней. Размеры взрослых самок достигают 6 мм в длину, молодых — 0,7—0,9 мм.

С помощью грудных ножек *D. magna* отфильтровывает мелкие взвешенные в воде частицы. Даже кратковременные отклонения от нормальных условий жизни (изменение температуры, уменьшение количества пищи, загрязнение) могут прервать процесс партеногенеза, и тогда из неоплодотворенных яиц выходят не самки, а самцы (рис. 1 б). Они имеют небольшие размеры, их передние антенны удлинены, а первая пара грудных ножек снабжена коготками. Часть яиц в половой системе самки подвергается редукционному делению и способна развиваться только после оплодотворения. Оплодотворенные яйца содержат большое количество желтка, в выводковой камере они окружаются плотным слоем клеток, поверх которых образуется кутикула.

В выводковой камере возникает так называемое седлышко-эфиппиум (рис. 1 в), который после линьки оказывается на свободе и благодаря воздухоносному слою плавает на поверхности. На этой стадии яйцо переносит неблагоприятные условия [Ивлева, 1969].



**Рис. 1. Строение *Daphnia magna* Straus:**  
***a*** — самка: 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

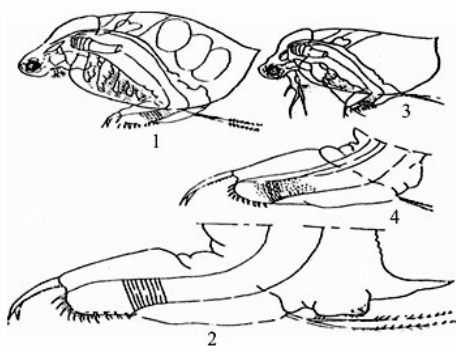
Вид *Ceriodaphnia affinis* относится к низшим ракообразным, отряду ветвистоусых, семейству дафнид, роду цериодафний.

Этот вид распространен по всему земному шару. Цериодафния обитает в водоемах всех типов в Европе, Северной Африке, Азии, Южной Америке. Населяет неглубокие, преимущественно небольшие озера, пруды, садки, реки и разнообразные маленькие водоемы, а также каменистые лужи побережий полярных морей. В маленьких водоемах этот вид встречается реже, чем другие представители цериодафний. В больших, глубоких водохранилищах и озерах встречается единично. В Европе встречаются только в литоральном планктоне на открытых местах между зарослями тростника и между растениями над заиленным дном.

Тело цериодафний овальное, заключено в хитиновую прозрачную раковинку, створки раковины на брюшной стороне не соединены, образуют щель. Тело неясно сегментировано на головной, грудной и брюшной отделы. Впереди под головным отделом находятся две маленькие антеннулы, вооруженные осязательными щетинками. По бокам головы расположены две задние сильно развитые антенны, служащие для скачкообразного передвижения в воде. В грудном отделе расположено пять пар грудных ножек, которые покрыты многочисленными щетинками,

участвующими в процессе фильтрации воды. Сердце находится на спинной стороне грудного отдела. Брюшной (абдоминальный) отдел туловища с развитыми абдоминальными выростами, один из них — сильно выступающий конусовидный. Постабдомен с коготками, на вогнутой стороне которого находятся мелкие щетинки (рис. 2).

Половая система представлена парными гонадами: яичниками у самок и семенниками у самцов, которые расположены по обеим сторонам кишечника. Самки несут до шести яиц в выводковой камере. В природе вид *Ceriodaphnia affinis* моно- или дициклический с максимумом полового периода осенью. В лабораторных условиях самцы появляются при сокращении освещенности, снижении температуры воды, недостатке кислорода, голодании, а также при воздействии других неблагоприятных факторов. В лабораторных условиях для того, чтобы обеспечить опыты достаточным числом рачков, необходимо создавать условия для поддержания культуры в состоянии партеногенетического размножения. Появление самцов особенно искажает результаты хронических опытов [Методическое руководство..., 1991].



**Рис. 2. Строение *Ceriodaphnia affinis*:**

1 — самка, 2 — постабдомен самки, 3 — самец, 4 — постабдомен самца

*Проведение экспериментов.* Отбор проб воды производился в соответствии с ГОСТ 17.1.5.04-81. Пробы воды отбирались из поверхностного слоя воды стеклянным пробоотборником. Перед

отбором проб пробоотборник промывался водой из места отбора, вода заливалась в стеклянные банки (объем одной пробы — 6 л). Доставка проб в лабораторию осуществлялась в день отбора, что позволило не использовать консервирующие вещества.

Культивационная вода используется: для культивирования дафний и цериодафний, в качестве контрольной при биотестировании, а также для разбавления исследуемых вод. Для подготовки культивационной воды питьевую воду отстаивают и аэрируют в течение трех-семи суток (до полного дехлорирования) в бутылках из бесцветного стекла в присутствии высшей водной растительности (2—3 г по воздушно-сухой массе любой аквариумной растительности на 1 дм<sup>3</sup> питьевой воды).

*D. magna* рассаживали в стеклянные кристаллизаторы 2—5 л при плотности посадки не более 25 особей на 1 литр воды; переносили дафний с помощью стеклянной трубки с внутренним диаметром 0,5—0,8 см с оплавленным концом. Спустя пять—семь суток, в течение которых *D. magna* привыкали к лабораторным условиям существования и начинали размножаться, в сосуды доливали воду для дальнейшего культивирования. Для исследований токсичности воды по критериям выживаемости и плодовитости поддерживалась оптимальная температура  $20 \pm 2$  °С, продолжительность светового дня — 12—14 ч.

Биотестирование водной среды проводили на синхронизированной культуре *D. magna*. Для получения синхронизированной культуры отбиралась одна самка средних размеров с выводковой камерой, заполненной эмбрионами; эта самка помещалась в химический стакан на 250 см<sup>3</sup>, наполовину заполненный культивационной средой. Появившуюся молодь переносили в кристаллизатор (25 особей на 1 дм<sup>3</sup> среды) и культивировали указанным способом. Полученная следующая генерация является синхронизированной культурой и может быть использована для биотестирования в возрасте 6—24 часа.

Основные гидрохимические показатели воды находились в следующих пределах: рН = 7,0—8,2, жесткость общая — 3—6,5 мг-экв./л ( $200 \pm 50$  мг СаСО<sub>3</sub>); концентрация растворенного кислорода менее 6,0 мг/л. Аэрацию в сосудах проводили до биотестирования. Один раз в семь-десять суток половину объема воды с культурой *D. magna* заменяли на свежую, удаляли скопившийся

на дне осадок, прореживали культуру. Кормом для *D. magna* служили зеленые водоросли (хлорелла). В экспериментах по определению острой токсичности дафний кормили перед началом эксперимента, а в дальнейшем — ежедневно.

Тестирование каждой исследуемой пробы по критерию выживаемости проводили в десяти сосудах по 100 мл, три сосуда — для контрольной пробы, не содержащей токсичных веществ. В качестве контрольной воды при биотестировании использовалась культивационная вода.

В каждый сосуд помещали по десять особей *D. magna*. Их переносили стеклянной трубкой диаметром 5—7 мм сначала в сачок, а затем в сосуды, погрузив его в воду. В остром опыте (длительностью до 96 часов для *D. magna*) учет выживших *D. magna* проводили через 1, 6, 24, 48, 72, 96. Выжившими считаются особи, если они свободно передвигаются в толще воды или всплывают со дна сосуда не позднее 15 секунд после его легкого покачивания. Проба воды оценивается как обладающая острой токсичностью, если за 24 ч биотестирования в ней гибнет 50% и более дафний по сравнению с контролем [Строганов, 1968].

В хронических опытах с *D. magna* критерием токсичности по показателю плодовитости было достоверное снижение показателей в тестируемой воде по сравнению с контролем за период опыта. Продолжительность хронического токсикологического эксперимента с использованием дафний — до появления третьего вымета молоди в контроле. Оценка достоверности различий биопараметров (выживаемости и плодовитости) в хроническом опыте проводилась с использованием критерия Стьюдента [Лакин, 1980]. Хроническое тестирование на *D. magna* в четырех последующих поколениях выполняли в десяти повторностях, в химические стаканы со 100 мл опытного раствора вносили по одной особи *D. magna*. Молодь первого вымета, появившуюся у исходных особей (поколение P), подсчитывали и помещали по одному экземпляру в новые десять химических стаканов (поколение F1), аналогичным образом получали второе (поколение F2) и третье поколения (поколение F3) рачков. Продолжительность хронического токсикологического эксперимента с использованием дафний — тридцать суток. Молодь последующих поколений подсчитывали и удаляли.

При наблюдении за размножением рачков учитывали время первого вымета (выход молоди из выводковой камеры), средне-месячную плодовитость поколений (отношение родившейся молоди к количеству самок), выживаемость.

Динамика плодовитости *D. magna* определялась как количество экземпляров выметанной молоди в пересчете на одну партеногенетическую самку в течение 30 дней наблюдения за каждой самкой.

Для регистрации и наблюдений использовали микроскоп МБС — 10.

Биотестирование с использованием цериодафний проводили по «Методике определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости цериодафний, ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.4-99», основанной на определении смертности и изменений в плодовитости цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*, Cladocera, Crustacea) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

Острое токсическое действие исследуемой воды на цериодафний определялось по их смертности (летальности) за определенный период экспозиции. Критерием острой токсичности служила гибель 50% и более цериодафний за 48 часов в исследуемой воде при условии, что в контроле гибель не превышает 10%.

Хроническое токсическое действие исследуемой воды на цериодафний определялось по смертности и изменению их плодовитости за период семь и более суток (до появления третьего помета молоди в контроле) в исследуемой воде по сравнению с контролем. Критерием хронической токсичности служила гибель 20% и более тест-организмов и (или) достоверное отклонение в плодовитости из числа выживших по сравнению с контролем.

Биотестирование проводилось в нормальных лабораторных условиях. Помещение не содержало токсичных паров и газов, а также следов обработки помещений инсектицидами, пестицидами и пр.

Температура окружающего воздуха в лаборатории — от +19 до +24 °С, в люминостате для биотестирования — от +22 до +24 °С. Атмосферное давление — 84—106 кПа (630—800 мм рт. ст.).

Освещение помещения естественное или искусственное, оно не ограничено особыми требованиями. Освещение в люминестате (или эквивалентном приспособлении) — лампами дневного света.

Для отбора проб с глубины 0,5 м и более использовалась бутыл с привязанной пробкой, которую помещали в футляр, или пробоотборник с грузом. Футляр был снабжен петлей, к которой привязывали веревку с размеченными отрезками, указывающими глубину погружения. На требуемой глубине с помощью привязанной к пробке веревки выдергивали пробку из горла бутылки. После заполнения бутылки водой (на поверхности воды не появляются пузырьки воздуха) ее поднимают на поверхность.

Биотестирование проб воды проводили не позднее 6 часов после их отбора. При невозможности проведения анализа в указанный срок пробы воды охлаждали (+2 — +4 °С). Хранили пробы не более 24 часов после отбора.

Перед биотестированием предварительно охлажденные или замороженные пробы доводили до температуры от +19 до +24 °С.

Проба воды, подлежащая биотестированию, имела рН 7,0—8,2; если рН пробы выходили за указанные пределы, в отдельном эксперименте устанавливалась токсичность, вызываемая водородным показателем. После нейтрализации пробы определялась токсичность воды.

Биотестируемая проба воды имела концентрацию растворенного кислорода не ниже 6 мг/дм<sup>3</sup>, в противном случае пробу аэрировали при помощи аквариумного компрессора перед процедурой биотестирования.

Биотестирование проводили в химических стаканах объемом 30 см<sup>3</sup>, которые заполняли 15 см<sup>3</sup> исследуемой воды, в них помещается по одной цериодафнии не более 24-часового возраста (разница между возрастом рачков не должна составлять более 8 часов, что определяется по размеру рачков и обеспечивается синхронизированным культивированием). Цериодафнии отлавливались из химических стаканов, в которых выращивалась синхронизированная культура, пипеткой объемом 2 см<sup>3</sup> (с отпиленным и оплавленным концом) с резиновой грушей. Помещали их по одной на сачок, через который вода сливалась в отдельный химический стакан, после чего цериодафний сачком вносили в стаканы с



исследуемой водой. Посадку рачков начинали с контрольной серии. После каждой посадки в исследуемые растворы сачок тщательно промывали в сосуде объемом 2 дм<sup>3</sup> с культивационной водой. Для работы с серией контроля должен быть отдельный сачок.

Для каждой серии исследуемой воды использовали 10 химических стаканов плюс 10 для контроля.

В экспериментах по определению острой токсичности цериодафний кормили перед началом эксперимента, а в дальнейшем — ежедневно.

Учет смертности цериодафний в опыте и контроле проводили через каждый час до конца первого дня опыта, а затем — два раза в сутки ежедневно до истечения 48 часов.

Неподвижные особи считаются погибшими, если они не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана.

Если гибель цериодафний в контроле превышает 10%, результаты опыта не учитываются, и он должен быть повторен.

Смена растворов на новые осуществлялась через каждые двое суток на третьи из свежееотобранных проб или из проб, хранящихся в холодильнике при температуре от +2 до +4 °С.

Учет смертности и родившейся молоди в опыте и контроле проводили один раз в сутки ежедневно до конца хронического опыта. Молодь подсчитывали и удаляли пипеткой, пропуская исследуемый раствор через сито над тем стаканом, в котором производится подсчет.

Хронический опыт считали законченным, если в контроле выжило 80% испытуемых цериодафний, а 60% и более из них дали три поколения молоди (первый помет при удовлетворительных условиях на третий-четвертый день, а каждый следующий — через 36—48 часов; при соблюдении удовлетворительных условий обычно происходит три помета за семь-десять суток эксперимента; в зимний период третий помет происходит, как правило, на десятые сутки). Считали погибших цериодафний и прекращали эксперимент в стаканах с погибшей самкой. Родившуюся молодь подсчитывали (при помощи лупы или стереоскопического микроскопа) и выбрасывали.

Продолжительность хронического токсикологического эксперимента с использованием цериодафний — семь-десять суток (до появления третьего помета молоди в контроле). Хроническая токсичность устанавливалась по двум параметрам: по гибели 20% и более исследуемых тест-организмов и (или) по достоверному отклонению в плодовитости исследуемых тест-организмов по сравнению с контролем.

Для определения хронической токсичности воды рассчитывали:

- процент погибших цериодафний в тестируемой воде по сравнению с контролем;
- среднее количество родившейся молоди на одну самку делением общего числа молоди, родившейся за семь и более дней;
- достоверное отклонение в количестве родившейся молоди на одну самку по отношению к контролю.

## Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ВОД МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

### *3.1. Физико-географическая характеристика района исследования*

Нижневартовский район расположен в средней части Западно-Сибирской равнины, в Ханты-Мансийском автономном округе, между 570 30' и 630 05' северной широты и 750 00' и 860 03' восточной долготы. Район занимает территорию площадью 11 851 850 га. [Лезин, Тюлькова, 1994].

В геологическом отношении Нижневартовский район представляет часть Западно-Сибирской эпипалеозойской плиты, фундамент которой сложен сильно дислоцированными и метафизированными докембрийскими и палеозойскими породами. Платформенный чехол мощностью местами до 3—4 км сложен в основном юрскими и меловыми отложениями, содержащими промышленные многопластовые месторождения нефти, сменяющиеся выше палеогеновыми отложениями. Территория Нижневартовского района находится в центральной части Западно-Сибирской равнины, представленной Среднесибирской низменностью, которая пересекается в междуречье Ваха и Агана Аганским Увалом. На севере эта низменность обрамляется Сибирскими Увалами. Плоский рельеф территории, избыточное увлажнение, наличие пород с низкими фильтрационными свойствами, близкое к поверхности залегание грунтовых вод и слабый их дренаж — все это создало благоприятные условия для широкого развития в пределах озерно-аллювиальных равнин процессов заболачивания и образования озер [Лезин, Тюлькова, 1994; Старков, Тюлькова, 1996].

Нижневартовский район характеризуется ярко выраженным умеренно-континентальным климатом с продолжительной холодной зимой, сильными ветрами и метелями, коротким сравнительно теплым летом, поздними весенними и ранними осенними заморозками. Переходные сезоны, особенно весна, очень короткие, с резкими колебаниями температуры.

В Нижнеартовском районе суммарная солнечная радиация составляет в среднем  $250 \text{ кДж/см}^2$  в год. В течение года она сильно изменяется, достигая наибольших значений в июле ( $62 \text{ кДж/см}^2$ ), а наименьших — в декабре ( $1,7 \text{ кДж/см}^2$ ). Продолжительность солнечного сияния — 1700—1800 часов в год. Некоторое уменьшение его наблюдается в городах из-за большой загрязненности воздуха. Годовой радиационный баланс в теплое время года положительный и составляет  $11 \text{ кДж/см}^2$ .

Нижнеартовск входит в зону умеренного ультрафиолетового дефицита. В декабре отмечается биологическая тьма (т.е. нет поступления суммарной ультрафиолетовой радиации), а с ноября по февраль наблюдаются биологические сумерки (нет поступления прямой радиации).

Существенное влияние на изменчивость погоды оказывает открытость территории с севера и юга и близость Арктики. Равнинный рельеф способствует беспрепятственному проникновению с севера на юг в течение всего года холодных арктических масс, а также свободному выносу летом прогретого континентального воздуха из Казахстана и Средней Азии. Климатические компоненты определяют не только компоненты водного баланса (осадки и испарение), но и основные черты внутригодового хода накопления и расходования влагозапасов: образование снежного покрова и его таяние, увлажнение почвогрунтов, пополнение запасов грунтовых вод, потери вод зоны аэрации и насыщения на испарение. Климатические условия определяют, таким образом, главные черты внутригодового режима стока — основные фазы и гидрологические сезоны.

Минеральные соли, содержащиеся в атмосферных осадках (хлориды, с концентрацией в снегах около  $0,1 \text{ мг/л}$ ; сульфаты, со средним содержанием в осадках  $2 \text{ мг/л}$ ), оказывают влияние на формирование химического состава поверхностных вод. Изменение состава воды совершается в результате выпадения на нее карбоната кальция при повышении температуры [Никаноров, 1989].

Большая заболоченность и огромное количество озер также сказывается на формировании климата в теплое время, особенно на формировании теплового режима. Наиболее значительно влияние их поздней весной и в начале лета, когда разливаются

реки и наполняются водой озера и болота. Они образуют огромные сплошные водные пространства, над которыми радиационный баланс увеличивается [Караваева, 1969; Орлова, 1962].

Неравномерное поступление солнечной радиации в течение года, особенности атмосферной циркуляции, открытость территории с севера на юг объясняют суровость термического режима, резкий переход от холода к теплу и наоборот.

Средняя годовая температура воздуха  $-2-40$  °С. Самый холодный месяц в году обычно январь  $-21-22$  °С, в отдельные дни почти ежегодно температура ночью понижается до  $-42-48$  °С. От января к февралю средние температуры повышаются незначительно (на  $2-3$  °С) от февраля к марту более существенно (на  $5-7$  °С). В апреле еще сохраняется морозная погода. Устойчивый переход средней суточной температуры воздуха через  $0$  °С отмечается в среднем в третьей декаде апреля на юге и в первой декаде мая на севере территории.

Средняя температура июля, самого теплого месяца, составляет  $17$  °С. В отдельные дни летом почти ежегодно температура может повышаться до  $25-30$  °С. Период с температурами выше  $5$  °С продолжается  $130-140$  дней. От августа к сентябрю температура уменьшается на  $3-7$  °С,  $10-15$  октября отмечается осенний переход через  $0$  °С. Наступление устойчивых морозов приходится на конец октября, а прекращение их — на конец марта — начало апреля.

Среднее годовое количество осадков изменяется от  $450$  до  $650$  мм, что намного превышает величину испарения и создает благоприятные условия для ее заболачивания. В течение года осадки распределяются неравномерно. Основная их масса ( $75-80\%$ ) выпадает в теплое время года [Лезин, Тюлькова, 1994].

Все озера Среднего Приобья являются пресными и ультрапресными. Общая минерализация воды внутриболотных озер, которые в описываемом районе составляют более  $90\%$  общего числа водоемов, из-за незначительных величин минерализации атмосферных осадков и болотных вод, питающих эти водоемы, очень мала. Она составляет в среднем  $20-25$  мг/л.

Природные воды характеризуются повышенным содержанием ионов аммония, что связано с их болотным питанием и выносом органики с болотными водами. Наличие нитратных ионов

в природных водах связано преимущественно с процессами окисления аммонийных ионов до нитратов в присутствии кислорода и с атмосферными осадками, которые поглощают образующиеся при атмосферных электрических разрядах оксиды азота. Нитриты представляют собой промежуточную ступень в цепи бактериальных процессов окисления аммония до нитратов (нитрификация только в аэробных условиях) и, напротив, в цепи восстановления нитратов до азота и аммиака (денитрификация — при недостатке кислорода). Сезонные колебания содержания нитритов характеризуются отсутствием их зимой и появлением весной при разложении неживого органического вещества.

Повышенное содержание железа наблюдается в болотных водах, которые служат одним из основных источников питания водоема. Растворенное железо представлено соединениями, находящимися в ионной форме, в виде гидросокомплексов и комплексов с растворенными неорганическими и органическими веществами природных вод. Наименьшие концентрации железа отмечены в период максимального уровня воды — в июне месяце и в осенний период, когда происходит разбавление богатых железом болотных вод талыми снеговыми и дождевыми водами.

В составе главных ионов в озерах преобладают из анионов гидрокарбонатные и хлоридные ионы, из катионов — ионы натрия. Во многих озерах в составе катионов, кроме натрия, содержится много ионов кальция, реже — магния. Водородный показатель в большинстве озер (практически во всех внутриболотных) летом колеблется в пределах pH 5,0—6,0, т.е. реакция воды кислая или слабокислая. Зимой значения водородного показателя несколько ниже, чем летом.

Концентрация биогенных элементов (азот, фосфор, кремний) в озерах сильно колеблется по сезонам. Максимальных значений они достигают зимой, когда процесс фотосинтеза не происходит, минерализация органических остатков и иловых отложений продолжается. Высокие концентрации в воде водоемов гуминовых кислот, ионов аммония, железа и марганца, а также части фенолов, образующихся при разложении растительных остатков, не зависят от антропогенной нагрузки и вызваны влиянием природных факторов, в частности, условиями формирования водотоков на территории района [Тюлькова, 1975].

Самотлорская группа озер лежит на междуречье Ваха и Ватинского Егана, в состав данной группы входят озера Белое, Кымыл-Эмтор, Окунево, Самотлор, Мертвое, Эмтор, Проточное. Озера неглубокие и хорошо аэрируемые по всей толще, в летний период в большинстве из них наблюдается дефицит кислорода. Содержание его в поверхностных слоях в пределах 5—8 мг/л (иногда даже 2 мг/л). Высокие температуры в летний период (20—25 °С) препятствуют растворению кислорода в воде.

Озеро Самотлор — самое крупное в Самотлорской группе. Озеро Самотлор до начала освоения Самотлорского месторождения имело площадь 63 км<sup>2</sup>, глубину — 1,5—3,0 м. В 1968 г. из него была спущена вода по сбросному каналу в р.Люк-Колен Еган, в результате чего произошло нарушение естественного режима озера. В настоящее время оно представляет неглубокий водоем [1,0—1,5 м], с сетью автодорог, вдоль которых проложены трубопроводы. Суммарная площадь зеркала воды 46,07 км<sup>2</sup>. Рыбохозяйственного значения озеро не имеет по причине его загрязнения нефтью и пластовыми водами.

В геоморфологическом отношении территория Самотлорского месторождения представляет слабодренированную плоскую равнину, занятую обширными болотами с бесчисленным количеством озер, одно из самых крупных — озеро Самотлор.

Ледостав наблюдается в октябре, вскрытие озера происходит во второй декаде мая. Благодаря небольшим глубинам, водоем хорошо прогревается. Ход температур воды сглажен и соответствует ходу внешних температур. В зимний период температура у дна составляет 2—3 °С, у нижней поверхности льда — 0 °С [Лезин, Тюлькова, 1994].

### ***3.2. Сезонная динамика хронической токсичности природных вод***

Оценку токсичности исследуемых проб с использованием тест-организмов *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* проводили методом биотестирования в соответствии с ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.3-99 и ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.4-99, ПНД Ф Т 14.1:2:3:4:16 — 2000).

В течение шести лет, с 2002 по 2007 гг., проводилось обследование реки Оби методом хронического биотестирования на тест-объектах: дафниях и цериодафниях. Были обследованы точки: 500 м выше сброса устья протоки Б.Рязанка, 500 м ниже сброса устья протоки Б.Рязанка. Данные участки выбраны с целью отслеживания негативного влияния городских и промышленных стоков на воды реки Обь. Первая точка находится выше по течению, вторая — ниже по течению относительно города Нижневартовска. Токсикологические анализы проб воды реки Оби в точках 500 м выше сброса устья протоки Б.Рязанка, 500 м ниже сброса устья протоки Б.Рязанка, с использованием тест-объекта *C. affinis* проведены в специализированной лаборатории предприятия МУП «Горводоканал», «Нижневартовский отдел филиала ФГУ «ЦЛАТИ по УрФО»». Экотоксикологические эксперименты с использованием тест-объекта *D. magna* проводились в химической лаборатории кафедры экологии Нижневартовского государственного гуманитарного университета. Химический анализ проб природных вод озер Самотлорской группы, отобранных для анализов в период с 2002 по 2004 гг., химический анализ проб воды реки Оби с 2002 по 2007 гг. производился в лаборатории «Нижневартовского отдела филиала ФГУ «ЦЛАТИ по УрФО»».

Для оценки характера зависимости токсичности вод от их химического состава проводили математическую обработку экспериментальных данных с использованием методов корреляционного анализа, представленных в пакетах статистических программ «Microsoft Excel».

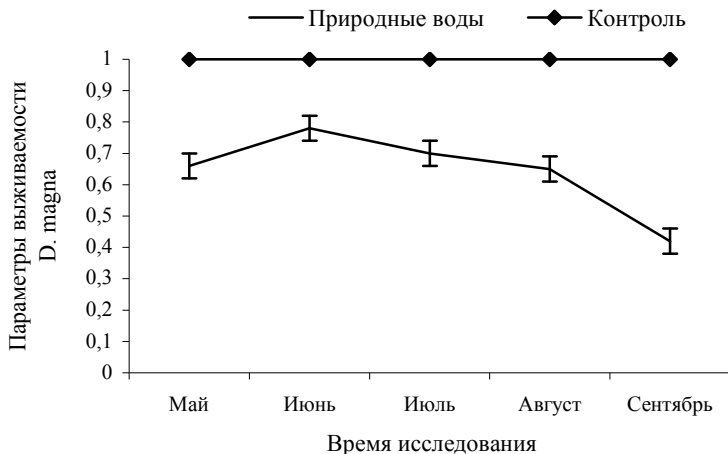
При обработке данных исследования токсичности вод по критерию выживаемости использовалась математическая модель повторяющихся независимых экспериментов с двумя исходами (модель Бернулли).

Для обработки данных исследования токсичности вод по критерию плодовитости использовали функцию ТТЕСТ программы Excel из пакета Microsoft Office.

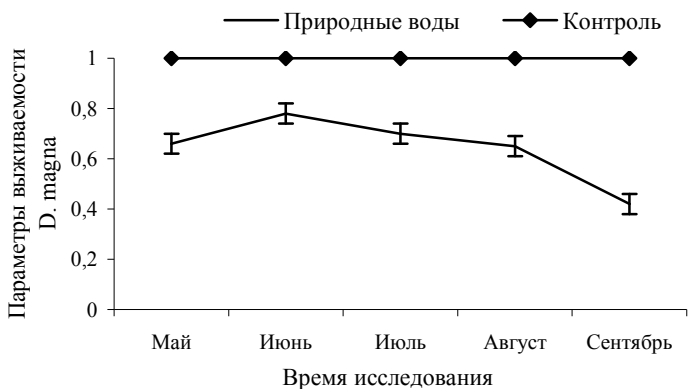
Оценку достоверности различий биопараметров в хроническом опыте с использованием тест-объектов *D. magna* и *C. affinis* при проведении анализов вод реки Оби в период с 2004 по 2007 гг. проводилась с использованием критерия Стьюдента.



Оценка сезонной динамика хронической токсичности природных вод проводилась по результатам биотестирования *D. magna* и *S. affinis* по критериям выживаемости и плодовитости. Данные экспериментов и результаты их обработки приведены в следующих графиках.



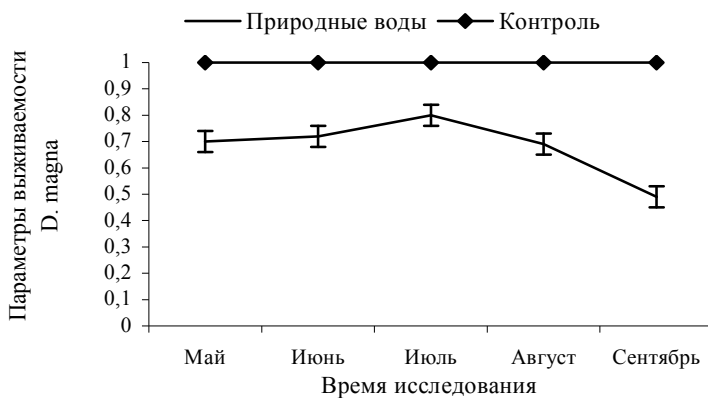
**Рис. 3.** Сезонная динамика токсичности природных вод озера Самотлор по критерию выживаемости *D. magna* по результатам биотестирования



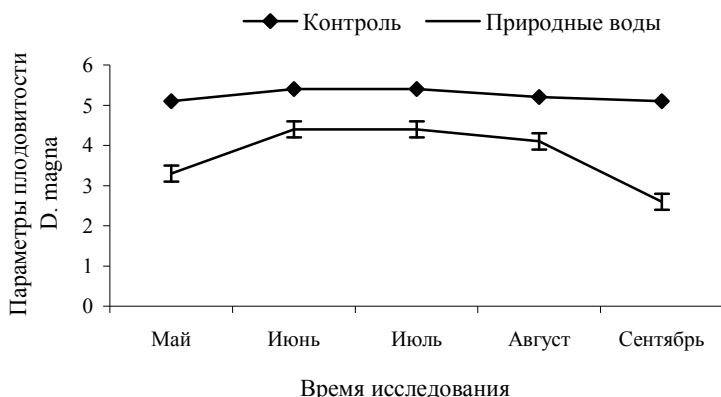
**Рис. 4.** Сезонная динамика токсичности природных вод озера Кымыл-Эмтор по критерию выживаемости *D. magna* по результатам биотестирования

Все исследованные пробы дали результаты достоверные на уровне 95%, т.е. значение  $P < 0,05$ .

Воды, отобранные в озере Сомотлор оказывали наибольший токсический эффект, чем воды из озер Кымыл-Эмтор и Белое, так в мае выживаемость тест-объектов в пробах воды озера Сомотлор была на 2% ниже, чем в пробах воды озера Кымыл-Эмтор, на 6% ниже, чем в пробах воды озера Белое, в июне разница составила 5% и 1% соответственно. В июле наибольшей токсичностью отличались воды озера Кымыл-Эмтор, выживаемость тест-объектов в данный период составила 70%, в пробах озера Сомотлор — 72%, в пробах озера Белое — 80%. В августе наибольшая степень токсичности по критерию выживаемости отмечена в озере Сомотлор — 38% гибели особей тест-объекта *D. magna*, в озере Кымыл-Эмтор — 35%, в озере Белое — 31%. Критические отметки токсичности зафиксированы в сентябре в пробах воды озера Кымыл-Эмтор, здесь выживаемость составила 42%, в озере Сомотлор — 46%, в озере Белое — 49%. В целом можно отметить, что «кривые» токсичности вод озер Сомотлор, Кымыл-Эмтор, Белое аналогичны.



**Рис. 5. Сезонная динамика токсичности природных вод озера Белое по критерию выживаемости *D. magna* по результатам биотестирования**



**Рис. 6. Сезонная динамика токсичности природных вод озера Сомотлор по критерию плодovitости *D. Magna* по результатам биотестирования**

По критерию плодovitости хроническим токсическим действием обладали пробы № 3 в мае, проба № 2 в августе, пробы № 2, 3 в сентябре. В мае в контрольных исследованиях средняя плодovitость *D. magna* в пересчете на одну самку, превышала опытные показатели в 1,5 раза, в период с июня по август отмечено превышение плодovitости в 1,2 раза, в сентябре плодovitость в сравнении с контролем угнеталась в 1,9 раз, что можно оценивать как хроническое токсическое действие проб воды на тест-объектов.

При использовании в процедуре биотестирования *S. affinis* эксперименты по оценке токсичности природных вод озер показали несколько иные результаты. Пробы в мае и сентябре обладали хроническим токсическим действием для *S. affinis* (табл. 1—5).

*Таблица 1*

**Плодovitость *S. affinis* в пробах природной воды  
(время исследования — май)**

№ п/п	Общее число молодежи каждой самки к концу биотестирования, экз. ( <i>Xi</i> )										Ср. знач. <i>X</i> <sub>ср.</sub>	Значимость	Оценка токсичности*
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	8	6	7	6	7	5	8	9	7	—	7,0	0,003	+
Опыт	14	14	13	10	10	7	16	17	10	6	11,7		

\*Примечание: «+» — проба оказывает хроническое токсическое действие; «-» — проба не оказывает хронического токсического действия.

Таблица 2

**Плодовитость *C. affinis* в пробах природной воды  
(время исследования — июнь)**

	Общее число молоди каждой самки к концу биотестирования, экз. ( $\bar{X}_i$ )										Ср. знач. $\bar{X}_{ср.}$	Значимость	Оценка токсичности
№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	4	8	4	8	3	3	3	5	4	6	4,8	0,262	–
Опыт	10	6	4	4	5	6	4	6	8	5	5,8		

Таблица 3

**Плодовитость *C. affinis* в пробах природной воды  
(время исследования — июль)**

	Общее число молоди каждой самки к концу биотестирования, экз. ( $\bar{X}_i$ )										Ср. знач. $\bar{X}_{ср.}$	Значимость	Оценка токсичности
№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	4	8	4	3	8	3	5	3	4	6	4,8	0,142	–
Опыт	9	9	7	8	2	4	4	5	7	8	6,3		

Таблица 4

**Плодовитость *C. affinis* в пробах природной воды  
(время исследования — август)**

	Общее число молоди каждой самки к концу биотестирования, экз. ( $\bar{X}_i$ )										Ср. знач. $\bar{X}_{ср.}$	Значимость	Оценка токсичности
№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	4	8	4	8	3	3	3	5	4	6	4,8	0,096	–
Опыт	7	8	4	6	6	8	6	5	5	6	6,1		

Таблица 5

**Плодовитость *C. affinis* в пробах природной воды  
(время исследования — сентябрь)**

	Общее число молоди каждой самки к концу биотестирования, экз. ( $\bar{X}_i$ )										Ср. знач. $\bar{X}_{ср.}$	Значимость	Оценка токсичности
№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	8	6	7	6	5	5	8	7	4	3	5,9	0,002	+
Опыт	3	5	2	1	4	—	6	1	2	3	3,0		

Пробы воды, отобранные в мае и июне, стимулировали процессы размножения тест-объекта *C. affinis*, в мае, в опытном варианте плодовитость составила в среднем 11,7 особей (в пересчете на одну партеногенетическую самку за неделю исследования), тогда как в контрольных испытаниях она равнялась семи особям, в июньских исследованиях стимулирующий эффект ослаблялся. Пробы в июле и в августе оказывали незначительное действие на плодовитость тест-объекта. Значительное угнетение плодовитости *C. affinis* (в два раза по сравнению с контролем) отмечено в исследованиях, проведенных в сентябре.

Таким образом, анализ полученных данных обнаружил наличие значительных различий между чувствительностью *D. magna* и *C. affinis*.

Для выявления степени токсичности предлагается установить отдаленные последствия воздействия токсических веществ через 3—4 поколения, вместе с тем данные исследования помогут решить вопрос о наличии у тест-объектов адаптационных механизмов к токсикантам, в связи с чем были проведены исследования плодовитости *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 в те периоды исследований, когда были выявлены пробы, токсичные по критерию выживаемости тест-объектов.

Результаты исследования хронической токсичности проб воды в ряду последовательных поколений *D. magna* (P — родительское, F1 — первое, F2 — второе, F3 — третье) представлены на рисунках 7—12.

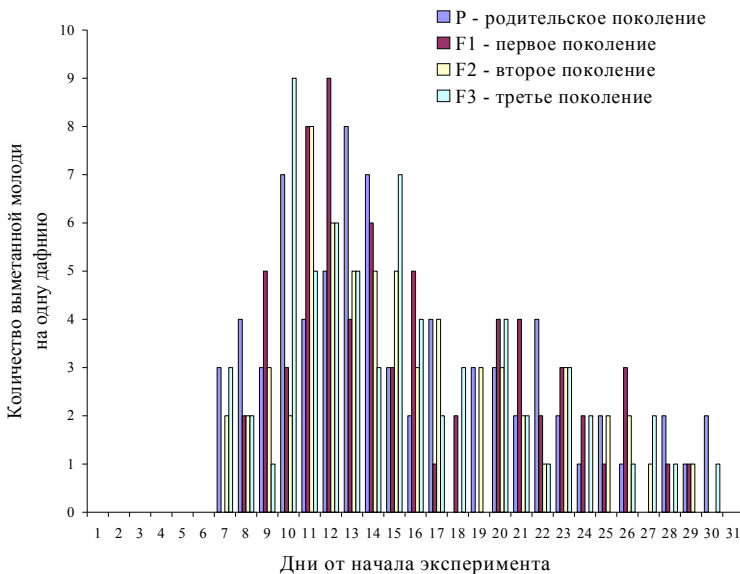


Рис. 7. Динамика плодовитости *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 в контрольных испытаниях (время исследования — май)

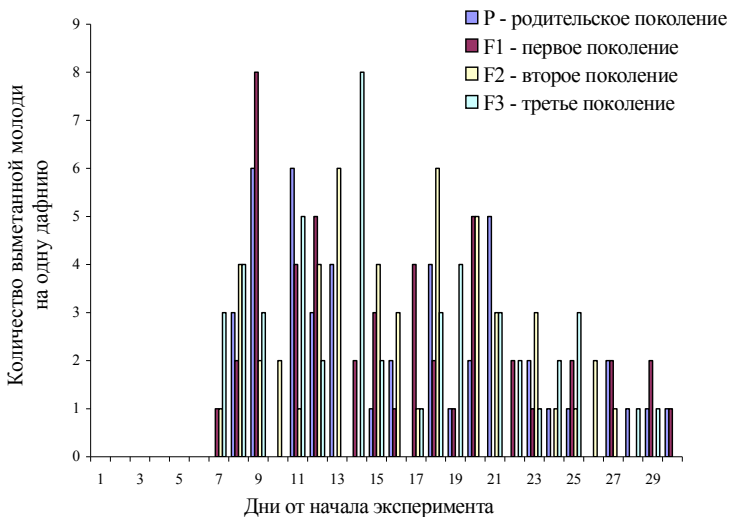
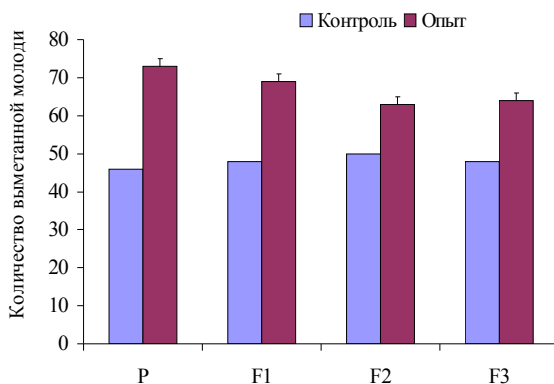
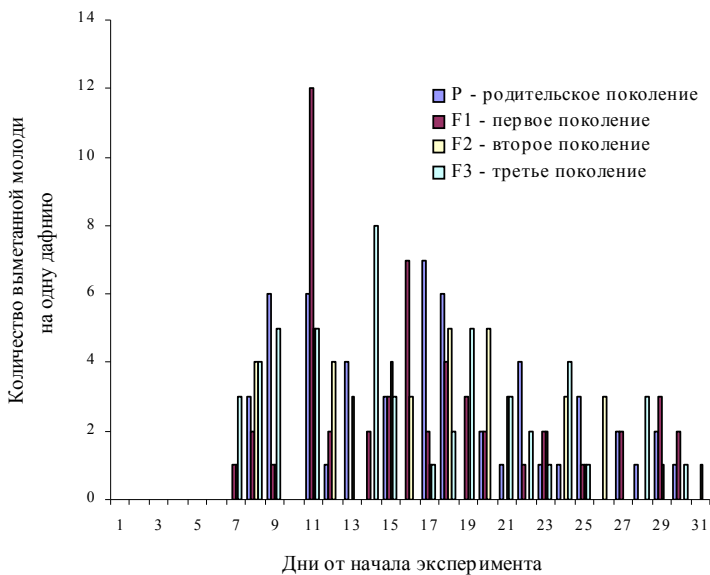


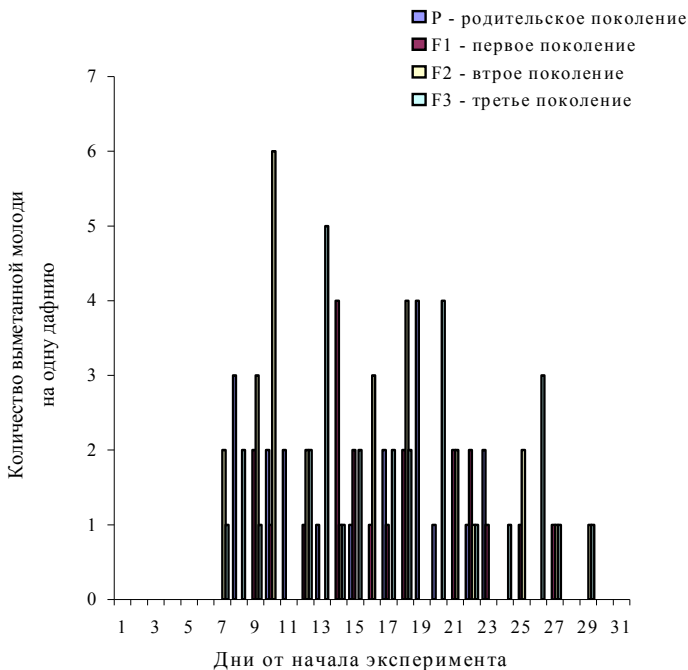
Рис. 8. Динамика плодовитости *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 в пробе природной воды (время исследования — май)



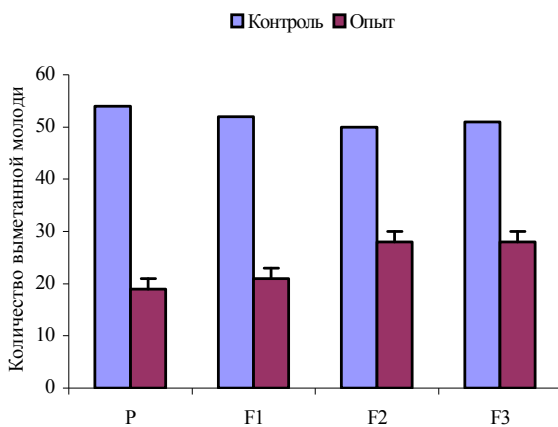
**Рис. 9. Среднемесячная плодовитость *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 (время исследования — май)**



**Рис. 10. Динамика плодовитости *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 в контрольных испытаниях (время исследования — сентябрь)**



**Рис. 11. Динамика плодовитости *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 в пробе природной воды (время исследования — сентябрь)**



**Рис. 12. Среднемесячная плодовитость *D. magna* в ряду поколений P—F1—F2—F3 (время исследования — сентябрь)**



Анализ динамики изменения токсичности природных вод озера показал, что наибольшей токсичностью отличаются пробы воды, отобранные в мае и сентябре, что связано, по-видимому, с сезонным повышением концентрации загрязнителей в ливневых водах. В пробе, отобранной в середине мая, для *C. affinis* отмечалось значительное увеличение плодовитости рачков по сравнению с контролем, плодовитость *D. magna* в этот период была угнетена. Вода, отобранная в сентябре, оказывала достоверное угнетающее действие на тест-объекты ( $P < 0,05$ ), которое выражалось в снижении плодовитости рачков.

В хронических экспериментах в ряду поколений, в поколениях F2 и F3, в исследованиях, проводимых в сентябре, отмечается устойчивая тенденция к ослаблению спада плодовитости в поколениях F2 и F3; в исследованиях, проводимых в мае, стимулирующий эффект снижается, показатели плодовитости стабилизируются, что говорит о включении адаптивных механизмов у тест-объектов.

Результаты по выживаемости дафний в условиях хронического эксперимента под воздействием исследованных токсикантов показали, что отклонение для четырех поколений по этому показателю не превышало 25%. Такая величина отклонения выживаемости от контрольных величин является допустимой для дафний, так как они быстро растут, партеногенетически размножаются, имеют короткий жизненный цикл. Для *D. magna* характерны ярко выраженные волны жизни. По этим причинам у *D. magna* возможна компенсация выживаемости.

Хронические эксперименты на поколениях рачков дают возможность рассматривать адаптивные изменения как фенотипические, возникающие в результате прямого действия среды на организм, и как генотипические, передающиеся по наследству.

Для установления различий в уровне плодовитости в поколениях используется функция ТЕСТ программы Excel из пакета Microsoft Office. В качестве первой выборки использовали данные, полученные в контрольной группе за первую неделю наблюдения за организмами. Вычисляли суммарное число потомков от каждой из десяти особей. В качестве второй выборки использовали данные из опытной группы, полученные аналогичным образом. Средняя плодовитость определялась в пересчете на

одну партеногенетическую самку. Результаты расчетов представлены в таблицах 6—9.

Таблица 6

**Суммарное число потомков от каждой из десяти особей  
D. magna за первую неделю наблюдения**

Поколения	Контрольная группа. Дата учета: май										Ср. плодovitость	Значимость	Отличия
	Исходные самки												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
P	18	17	19	18	22	14	19	18	17	18	18	—	—
F1	23	23	25	18	20	21	17	15	21	17	20	0,114 (незначимо)	нет
F2	17	16	14	18	18	17	17	15	17	19	17	0,121 (незначимо)	нет
F3	18	19	18	17	14	16	20	8	20	20	17	0,092 (незначимо)	нет

- значимость — значение функции ТТЕСТ;
- «нет» — отличия от предыдущего поколения нет;
- «есть» — отличия от предыдущего поколения есть.

Таблица 7

**Суммарное число потомков от каждой из десяти особей  
D. magna за первую неделю наблюдения**

Поколения	Опытная группа. Дата учета: май										Ср. плодovitость	Значимость	Отличия
	Исходные самки												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
P	26	32	32	20	14	22	34	28	28	24	26	—	—
F1	26	21	23	25	20	27	29	33	33	33	27	0,694 (незначимо)	нет
F2	18	29	24	19	17	27	17	26	28	25	23	0,081 (незначимо)	нет
F3	27	27	24	23	29	27	29	32	23	29	27	0,039 (значимо)	есть

Таблица 8

**Суммарное число потомков от каждой из десяти особей  
D. magna за первую неделю наблюдения**

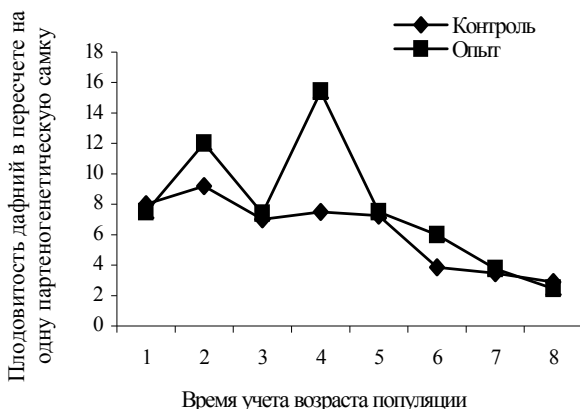
Поколения	Контрольная группа. Дата учета: сентябрь										Ср. плодови- тость	Значимость	Отличия
	Исходные самки												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
P	16	14	15	22	21	12	19	18	14	19	17	—	—
F1	20	14	18	15	14	17	15	23	24	20	18	0,529 (незначимо)	нет
F2	12	11	11	11	18	18	18	23	18	10	15	0,120 (незначимо)	нет
F3	17	13	20	12	21	22	14	16	14	21	17	0,294 (незначимо)	нет

Таблица 9

**Суммарное число потомков от каждой из десяти особей  
D. magna за первую неделю наблюдения**

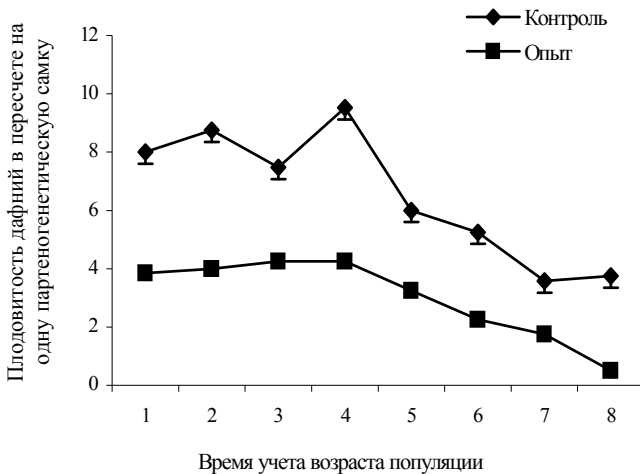
Поколения	Опытная группа. Дата учета: сентябрь										Ср. плодови- тость	Значимость	Отличие
	Исходные самки												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
P	6	7	6	11	4	4	5	8	10	9	7	—	—
F1	2	2	4	3	4	6	5	4	5	5	5	0,004 (значимо)	есть
F2	11	14	13	15	12	13	16	15	16	9	11	0,000 (значимо)	есть
F3	6	7	9	6	10	7	5	6	7	7	8	0,000 (значимо)	есть

В контрольных группах различия в плодовитости статистически незначимы на уровне 5% ( $P > 0,05$ ). Считаем, что уровень не зависит от поколения. В опытных группах в большинстве случаев различия в плодовитости статистически значимы на уровне 5%. По нашему мнению это означает, что в ряду поколений идут адаптивные процессы, связанные с влиянием среды. Во всех случаях различия между плодовитостью во втором и третьем поколениях статистически значимы на уровне 5% ( $P < 0,05$ ). Это означает, что адаптивные процессы начинаются уже во втором поколении и продолжают в третьем и четвертом.



**Рис. 13. Динамика плодовитости четырех последовательных поколений D. magna в исследованиях, проведенных в мае по итогам биотестирования**

Качественный анализ динамики плодовитости проводили с использованием данных эксперимента на четырех последующих поколениях, для чего произвели усреднение количества потомков по каждому поколению в пересчете на одну самку. Таким образом сглаживаются случайные погрешности экспериментов и выявляется динамика плодовитости в зависимости от возраста самки. Получив эти данные для контрольной и опытной групп, мы построили графики (рис. 13—14).



**Рис. 14. Динамика плодовитости четырех последовательных поколений *D. magna* в исследованиях, проведенных в сентябре**

Плодовитость — более изменчивый показатель во времени, чем выживаемость. Она изменяется и в течение жизни особи (в зависимости от возраста), и от поколения к поколению. Однако общая тенденция колебаний имеет определенную направленность. Кривые на графиках показывают, что во всех исследованиях в контрольных и опытных вариантах отмечены аналогичные «кривые» плодовитости. Анализ результатов исследований, проведенных в мае, позволяет выявить пики и спады плодовитости тест-объектов в зависимости от возраста самок. Первый пик плодовитости приходится на 10—12-дневный возраст, второй пик — на 17—19-дневный. В опытном варианте исследований, проведенных в сентябре, «волны» плодовитости сглажены, однако для них так же, как и для контрольных групп, характерны повышение количества молоди в кладке к середине месяца, что соответствует 15—18-дневному возрасту самки, затем плодовитость снижается и достигает минимума к концу месяца, что соответствует 25—30-дневному возрасту самки, что может свидетельствовать об отсутствии серьезных патологий в репродуктивной функции *D. magna*.

В таблице 10 (рис. 15) представлены данные по результатам исследования в 2004 г. проб воды реки Оби в точке № 1 (500 м выше сброса устья протоки Б.Рязанка) на тест-объекте *D. magna*. В первом квартале обнаружена хроническая токсичность, поскольку функции ТТЕСТ меньше 0,05, что соответствует уровню значимости 5%, различие уровней загрязненности для контрольной группы и опытной групп статистически достоверно, снижение плодовитости дафний в сравнении с контролем достоверно; следовательно, исследуемая вода оказывает на дафнии хроническое токсическое действие. В третьем квартале значение  $P < 0,05$ , выявлена стимуляция плодовитости 22%, т.е. положительная тест-реакция дафний на воздействие токсикантов, следовательно, исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие, во втором квартале отмечена незначительная (5%), стимуляция плодовитости тест-объектов. Вода, отобранная в четвертом квартале, токсичной не являлась.

По результатам проведенного в 2005 г. исследования, в первом квартале выявленные различия в плодовитости дафний в тестируемой воде и контроле недостоверны, значение  $P > 0,05$ , исследуемая вода не оказывает на дафнии хроническое токсическое действие. Во втором квартале выявленные различия в плодовитости тест-объектов достоверны, значение  $P < 0,05$ , стимуляция плодовитости составила 26%; следовательно, исследуемая вода оказывала хроническое токсическое действие. В третьем и четвертом кварталах токсичность воды не зарегистрирована.

По результатам исследования, проведенного в 2006 г., зарегистрировано достоверное угнетение плодовитости тест-объектов в сравнении с контролем в первом и третьем кварталах, в первом квартале значение  $P = 0,008579$ , плодовитость снизилась в 1,5 раза, в третьем значение  $P = 0,002809$ , плодовитость угнеталась в 1,8 раз. Во втором квартале не отмечено ни значительного угнетения, ни превышения критерия плодовитости дафний опытной группы в сравнении с контрольной группой. В четвертом квартале вода, отобранная для пробы, токсичное действие на дафний не оказывала, так как снижение плодовитости тест-объектов недостоверно.

Анализ проб воды, отобранных в 2007 г., показал отсутствие токсичности в первом и четвертом кварталах, токсичность проб воды отмечена в третьем квартале (значение  $P < 0,05$ ), стимуляция

плодовитости — 19%. Во втором квартале различия в тестируемой воде и контроле недостоверны, значение  $P > 0,05$ , стимуляция плодовитости  $< 30\%$ .

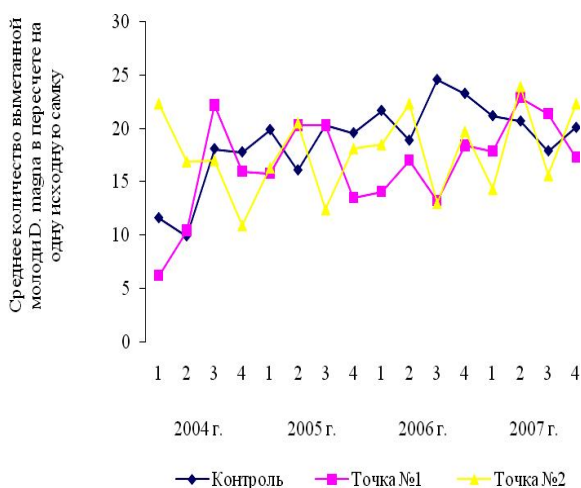
В таблице 11 (рис. 15) представлены данные по результатам проведенного в 2004 г. исследования проб воды реки Оби в точке № 2 (500 м ниже сброса устья протоки Б.Рязанка). В первом квартале, как видно из таблицы, обнаружена хроническая токсичность, результаты достоверны на уровне 95%, т.е. значение  $P < 0,05$ , выявлена стимуляция плодовитости 46%, т.е. положительная тест-реакция дафний на воздействие токсикантов. Во втором квартале стимуляция плодовитости составила более 30%, что говорит о присутствии токсического эффекта. Третий квартал характеризовался незначительным спадом уровня плодовитости дафний, токсический эффект в этот период не был отмечен. В четвертом квартале спад плодовитости усилился, исследуемая вода оказывает на дафнии хроническое токсическое действие.

По результатам проведенного в 2005 г. исследования, в первом и четвертом кварталах зарегистрировано незначительное снижение плодовитости тест-объектов в сравнении с контрольной группой. В третьем зарегистрировано значительное (в 1,6 раз), достоверное (поскольку значение  $P < 0,05$ ) снижение плодовитости тест-объектов в сравнении с контрольной группой. Вода, отобранная для проб во втором квартале, характеризовалась наличием стимулирующего плодовитость эффекта (стимуляция плодовитости составила 27%), а также наличием токсического эффекта (результаты достоверны на уровне 95%, т.е. значение  $P < 0,05$ ).

По результатам исследования в 2006 г., зарегистрировано незначительное, недостоверное, снижение плодовитости тест-объектов в сравнении с контрольной группой в первом и четвертом кварталах. Второй квартал характеризовался наличием стимулирующего плодовитость эффекта (стимуляция плодовитости составила 150%), а также наличием токсического эффекта,  $P < 0,05$ . Пробы воды в третьем квартале оказывали на дафний токсический эффект, выражающийся в достоверном 95% (т.е. значение  $P < 0,05$ ) в сравнении с контролем угнетении плодовитости, в этот период плодовитость дафний в опытной группе была ниже в 1,5 раза, чем в контрольной группе.

Анализ проб воды, отобранных в 2007 г., показал отсутствие токсического эффекта лишь в четвертом квартале. В указанный период отмечен незначительный эффект стимулирования плодовитости < 30%, во втором квартале указанный эффект также наблюдался и составил 15%,  $P = 0,03133$ , что говорит уже о наличии токсического эффекта. В первом и третьем кварталах результаты достоверны на уровне 95%, т.е. значение  $P < 0,05$ , снижение плодовитости дафний в сравнении с контролем в 1,5 раза, в 1,2 раза соответственно; следовательно, вода оказывает токсический эффект.

Определение хронической токсичности для тест-объекта *S. affinis* проводилось по двум критериям: гибель 20 и более процентов, достоверное отклонение плодовитости от контроля (норма < 30%). Продолжительность опыта — семь дней.



**Рис. 15.** Сезонная динамика токсичности вод реки Оби по критерию плодовитости *D. magna* по результатам биотестирования в хронических опытах

По результатам исследования 2002 г., данные представлены в таблицах 12, 13 (рис. 16). В первом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны;  $T_g < T_{st}$  ( $-0,267; 0,329 < 2,10$ ) в точках исследования 1 и 2 соответственно, стимуляция плодовитости < 30%; следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафнии



хроническое токсическое действие. Во втором квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$  ( $-0,118$ ;  $-0,328 < 2,10$ ), стимуляция плодовитости  $< 30\%$ , следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. В третьем квартале  $T_g < T_{st}$  ( $-2,126$ ;  $-3,126 < 2,10$ ), выявлена стимуляция плодовитости  $46,3\%$ , т.е. положительная тест-реакция цериодафний на воздействие токсикантов; следовательно, исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие. В четвертом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$  ( $-0,470$ ;  $-0,190 < 2,02$ ), стимуляция плодовитости  $< 30\%$ , следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие.

По результатам исследования 2003 г., в первом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$  ( $-0,271$ ;  $0,497 < 2,10$ ), стимуляция плодовитости  $< 30\%$ ; следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. Во втором квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$  ( $1,211$ ;  $-0,723 < 2,02$ ), стимуляция плодовитости  $< 30\%$ , следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. В третьем квартале, как видно из рис. 16, обнаружена хроническая токсичность поскольку критерий достоверности больше чем критерий Стьюдента,  $T_g > T_{st}$  ( $3,854$ ,  $3,112 > 2,10$ ), снижение плодовитости цериодафний в сравнении с контролем достоверно, следовательно, исследуемая вода оказывает на цериодафнии хроническое токсическое действие. В четвертом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$  ( $-4,757$ ;  $-4,230 < 2,02$ ), выявлена стимуляция плодовитости  $53,7\%$  и  $56,7\%$ ; следовательно, исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие на цериодафний.

По данным 2004 г., в первом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны;  $T_g < T_{st}$  ( $1,211$ ;  $-0,736 < 2,02$ ) в точках исследования № 1 и № 2 соответственно, стимуляция плодовитости  $< 30\%$ ;

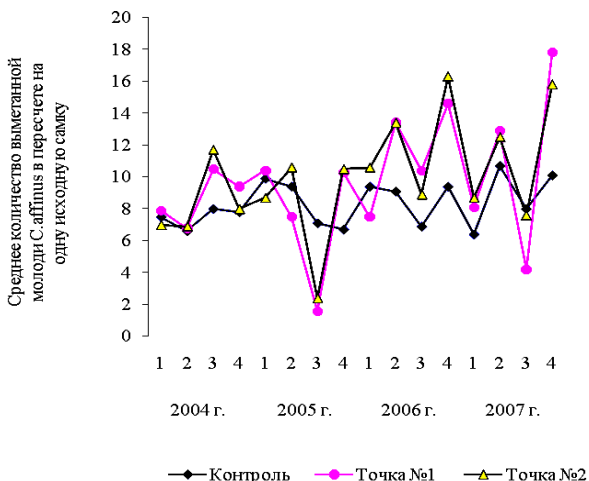
следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. Как видно из графика, во втором, третьем и четвертом кварталах исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие на цериодафнии, выявлена стимуляция плодовитости более 30%.

По результатам исследования 2005 г., в первом квартале выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны;  $T_g < T_{st}$  ( $-4,47; -2,97 < 2,02$ ), выявлена стимуляция плодовитости в точке № 2, ниже по течению реки Оби, относительно города Нижневартовска, 35,9% (норма 30%) следовательно, исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие на цериодафний. Во втором квартале в точке исследования № 1 выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле недостоверны,  $T_g < T_{st}$ , стимуляция плодовитости  $< 30\%$ , следовательно, исследуемая вода не оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. В третьем квартале в точке исследования № 2 выявленные различия в плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле достоверны,  $T_g > T_{st}$ ; следовательно, исследуемая вода оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. В четвертом квартале исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие на цериодафнии, выявлена стимуляция плодовитости (76,2% и 56,4%).

Вода, отобранная в первом и втором периодах, для биотестирования в 2006 г., как в точке исследования № 1, так и в точке исследования № 2, вызвала стимуляции плодовитости цериодафний, однако данный эффект не превысил 30%. В отличие от третьего периода, когда стимулирующий плодовитость эффект составил 39% в первой точке исследования и 70% во второй точке исследования, что говорит о наличии достоверного токсического воздействия. В четвертом квартале вода сохраняет свою способность стимулировать плодовитость дафний в точке исследования № 2, однако токсического эффекта не производит, т.к. стимуляция плодовитости  $< 30\%$ ,  $T_g < T_{st}$  ( $1,47; -1,43 < 2,02$ ); в точке исследования № 1 не отмечены ни стимулирующий, ни угнетающий эффект.

2007 год характеризуется наличием токсического воздействия вод реки Оби, отобранных для биотестирования на тест-объекты

на *C. affinis* во втором и четвертом кварталах; достоверный стимулирующий эффект проб воды реки Оби, отобранной для тестирования, составил 35% и 40%,  $T_g < T_{st}$  ( $-3,17; -4,79 < 2,02$ ), в точках исследования № 1 и № 2 соответственно, в четвертом квартале — в точке № 2 — 80%,  $T_g < T_{st}$  ( $-4,148 < 2,02$ ). В четвертом квартале в точке исследования № 1 выявлено достоверное угнетение плодовитости цериодафний в тестируемой воде и контроле,  $T_g > T_{st}$ ; следовательно, исследуемая вода оказывает на цериодафний хроническое токсическое действие. В другие периоды 2007 года токсический эффект не отмечался, хотя можно заметить, что в точке исследования № 1 в первом, втором, третьем периодах, в точке исследования № 2 в первом, втором, четвертом кварталах плодовитость *C. affinis* стимулируется.



**Рис. 16.** Сезонная динамика токсичности вод реки Оби по критерию плодовитости *Ceriodaphnia affinis* по результатам биотестирования в хронических опытах

Таблица 10

**Результаты биотестирования хронического токсического действия исследуемой воды на *D. magna* в точке № 1 (500 м выше сброса устья протоки Б.Рязанка)**

Год, квартал	Среднее количество выметанной молоди в пересчете на одну исходную самку		Значимость	Стимулирование плодовитости %	Оценка тестируемой воды*
	Контроль	Тестируемая вода			
2004 г.					
I	11,6	6,2	0,047401	–	+
II	9,9	10,4	0,693968	5	–
III	18,1	22,2	0,013952	22	+
IV	17,8	16,0	0,430427	–	–
2005 г.					
I	19,9	15,8	0,089366	–	–
II	16,1	20,3	0,003785	26	+
III	20,3	20,3	1	–	–
IV	19,6	13,5	0,0002	–	–
2006 г.					
I	21,7	14,1	0,008579	–	+
II	18,9	17	0,629972	–	–
III	24,6	13,2	0,002809	–	+
IV	23,3	18,4	0,185807	–	–
2007 г.					
I	21,2	17,9	0,053626	–	–
II	20,7	22,9	0,24583	10	—
III	17,9	21,4	0,007779	19	+
IV	20,1	17,3	0,182739	–	–

\* *Примечание.* Оказывает — «+», не оказывает — «–», хроническое токсическое действие.

**Результаты биотестирования хронического токсического действия исследуемой воды на *D. magna* в точке № 2 (500 м ниже сброса устья протоки Б.Рязанка)**

Год, квартал	Среднее количество выметанной молоди в пересчете на одну исходную самку		Значимость	Стимулирование плодовитости, %	Оценка тестируемой воды
	Контроль	Тестируемая вода			
2004 г.					
I	11,6	22,3	0,001137	46	+
II	9,9	16,9	0,005956	70	+
III	18,1	17,0	0,315986	–	–
IV	17,8	10,9	0,02704	–	+
2005 г.					
I	19,9	16,3	0,080377	–	–
II	16,1	20,5	0,001635	27	+
III	20,3	12,4	0,000203	–	+
IV	19,6	18,1	0,263698	–	–
2006 г.					
I	11,7	18,5	0,087958	–	–
II	8,9	22,3	0,044086	150	+
III	24,6	13,0	0,004453	–	+
IV	13,0	19,7	0,070034	–	–
2007 г.					
I	21,2	14,3	0,004114	–	+
II	20,7	23,9	0,03133	15	+
III	19,2	15,6	0,023785	–	+
IV	20,1	22,3	0,331391	9	–

Таблица 12

**Результаты биотестирования хронического токсического действия исследуемой воды на *C. affinis* в точке № 1 (500 м выше сброса устья протоки Б.Рязанка)**

Год, квартал	Среднее количество выметанной молоди в пересчете на одну исходную самку		T st	Tg	Стимулирование плодовитости, %	Оценка тестируемой воды
	Контроль	Опыт				
2002 г.						
I	7,5	7,9	2,10	-0,267	5,3	-
II	6,6	6,8	2,10	-0,118	3	-
III	8	10,5	2,10	-2,126	31,3	+
IV	7,8	9,4	2,02	-0,47	20,5	-
2003 г.						
I	9,9	10,4	2,10	-0,271	5	-
II	9,4	7,5	2,02	1,211	-	-
III	7,1	1,6	2,10	3,854	-	+
IV	6,7	10,3	2,02	-4,757	53,7	+
2004 г.						
I	9,4	7,5	2,02	1,211	-	-
II	9,1	13,4	2,02	-4,012	47,3	+
III	6,9	10,4	2,02	-4,982	50,7	+
IV	9,4	14,6	2,02	-3,978	55,3	+
2005 г.						
I	6,4	8,1	2,02	-1,734	26,6	-
II	10,7	12,9	2,02	-1,89	20,6	-
III	8,0	4,2	2,02	2,41	-	+
IV	10,1	17,8	2,02	-4,47	76,2	+
2006 г.						
I	9,2	9,7	2,02	-0,37	5	-
II	6,7	7,2	2,02	-0,66	7	-
III	8,9	12,4	2,02	-3,59	39	+
IV	7,3	6,0	2,02	1,47	-	-
2007 г.						
I	9,0	9,9	2,02	-1,39	10	-
II	11,1	15,0	2,02	-3,17	35	+
III	11,7	14	2,02	-2,10	20	-
IV	8,4	4,3	2,02	2,41	-	+

**Результаты биотестирования хронического токсического действия исследуемой воды на *C. affinis* в точке № 2 (500 м ниже сброса устья протоки Б.Рязанка)**

Год, квартал	Среднее количество выметанной молоди в пересчете на одну исходную самку		T st	Tg	Стимулирование плодовитости, %	Оценка тестируемой воды
	Контроль	Опыт				
2002 г.						
I	7,5	7,0	2,10	0,329	–	–
II	6,6	6,9	2,10	–0,328	4,5	–
III	8	11,7	2,10	–3,126	46,3	+
IV	7,8	8,0	2,02	–0,19	2,56	–
2003 г.						
I	9,9	8,7	2,10	0,497	–	–
II	9,4	10,6	2,02	–0,723	12,8	–
III	7,1	2,4	2,10	3,112	–	+
IV	6,7	10,5	2,02	–4,230	56,7	+
2004 г.						
I	9,4	10,6	2,02	–0,736	12,8	–
II	9,1	13,4	2,02	–3,451	47,3	+
III	6,9	8,9	2,02	–3,755	30,0	+
IV	9,4	16,3	2,02	–4,848	73,4	+
2005 г.						
I	6,4	8,7	2,02	–2,746	35,9	+
II	10,7	12,5	2,02	–1,46	16,8	–
III	8,0	7,6	2,02	0,28	–	–
IV	10,1	15,8	2,02	–2,97	56,4	+
2006 г.						
I	9,2	8,6	2,02	0,49	7	–
II	6,7	7,8	2,02	–1,32	16	–
III	8,9	15,1	2,02	–5,88	70	+
IV	7,3	8,6	2,02	–1,43	18	–
2007 г.						
I	9,0	9,6	2,02	–0,97	7	–
II	11,1	15,5	2,02	–4,79	40	+
III	11,7	9,6	2,02	1,67	–	–
IV	8,4	16,6	2,02	–4,148	80	+

Определение хронической токсичности по результатам исследования экспериментов с 2002 по 2007 гг. было проведено по достоверному отклонению от контроля и стимуляции плодовитости (норма < 30%). В исследуемой воде хроническую токсичность вызывают токсичные вещества антропогенного и природного происхождения. Эти вещества вызывают как угнетение тест-объектов, так и положительную тест-реакцию, вызывающую стимулирование плодовитости.

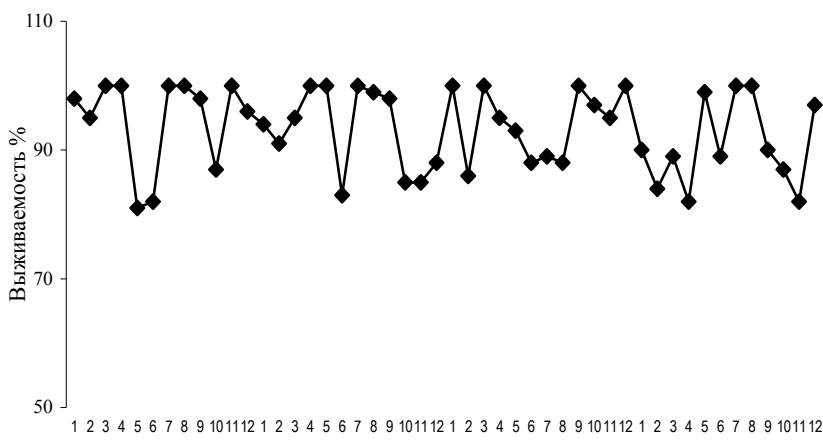
Для точной оценки экспериментального материала, получаемого на лабораторной культуре *D. magna* в разное время года, было проведено наблюдение за изменчивостью биологических показателей лабораторной культуры дафний, таких как выживаемость, плодовитость, при постоянных параметрах температуры, света, корма, плотности посадки; изменяющимся фактором оставалось лишь время года. Результаты четырехгодичных исследований на последовательных партеногенетических поколениях *D. magna* позволили выявить определенную взаимосвязь выбранных показателей с изменяющимися факторами. Длительность наблюдений за каждым поколением составляла 25—30 суток, что связано с биологическим циклом дафний, а также с продолжительностью токсикологических опытов.

В природе *D. magna* живут в среднем 20—25 дней, в лаборатории при оптимальных условиях — 30—40 дней и более.

Выживаемость — наиболее стабильный показатель у лабораторной культуры *D. magna*. Показатель выживаемости колебался от 100 до 82%, в 65% случаев данный показатель не превышал 90%, лишь однажды выживаемость рачков за 25—30 суток наблюдения снизилась до отметки 81%. Результаты опытов дают основание утверждать, что сезонная динамика выживаемости и смертности лабораторной культуры *D. magna* отсутствует. При проведении токсикологических экспериментов выживаемость контрольной лабораторной культуры должна быть в пределах 90—100%, однако отметим, что время наблюдения за выживаемостью лабораторной культуры — 25—30 суток, а продолжительность острых опытов не превышает 96 часов, поэтому гибель 81—90% особей лабораторной подопытной группы за период наблюдения не считаем отклонением от нормы (рис. 17).



Интерпретация результатов токсикологических опытов по критерию выживаемости более проста в сравнении с интерпретацией результатов опытов по критерию плодовитости. Это связано с тем, что оценивается выживаемость тест-объектов относительно токсичности среды, контрольные повторности, по сути, служат для того чтобы удостовериться в том, что опыт поставлен правильно, плодовитость же оценивается относительно контрольной группы, причем если выживаемость в контрольной группе ниже 90%, результаты опыта недействительны, при оценке плодовитости для контрольной группы никаких ограничений нет.



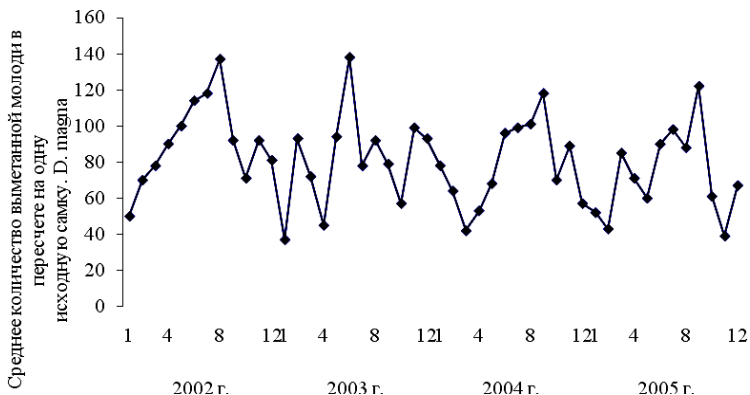
**Рис. 17. Выживаемость лабораторной культуры *D. magna* в течение месяца в разные периоды года**

Плодовитость — более изменчивый показатель во времени, чем выживаемость. Она изменяется от поколения к поколению. Однако тенденция колебаний имеет определенную направленность. По результатам исследований можно отследить чередования повышения и понижения плодовитости лабораторной культуры *D. magna*. Отметим, что полученные результаты могут не соответствовать закономерностям, происходящим в природной среде, где действуют биотические и абиотические факторы, где происходит коррекция уровня плодовитости в зависимости от емкости среды, но токсикологические эксперименты мы ставим на лабораторной культуре, в лабораторных условиях, а не на

естественной среде, следовательно, интерпретировать результаты опытов должны соответственно.

Четкой закономерность спада и повышения плодовитости лабораторной культуры *D. magna* в разные периоды года не отмечено, показатели каждого года отличаются своими особенностями. В 2002 г. количество выметанной молодежи планомерно повышалось с января по май, вслед за которым последовал незначительный спад в июне, подъем и планомерное падение плодовитости до октября, максимум плодовитости отмечается в ноябре. В 2003 г. первый пик плодовитости мы наблюдаем в феврале, второй, более значительный пик плодовитости наступил в июне, количество выметанной молодежи составило 138 особей, затем последовал незначительный пик в августе (92 особи) и ноябре (99 особей молодежи), в пересчете на одну партеногенетическую самку. С ноября 2003 г. по март 2004 г. происходило снижение показателей плодовитости *D. magna*, вслед за чем начался ее подъем до мая, спад, максимальный пик в сентябре, незначительный подъем в декабре и опять спад до февраля 2005 г. Показатели плодовитости *D. magna* в 2005 г. не отличались такой планомерностью, как в 2004 г.; здесь, напротив, можно наблюдать скачки количества молодежи в марте, июне, августе, сентябре, где показатели практически равны 90, 88, 98 особей соответственно, в июле и октябре плодовитость тест-объектов была невысокой, наибольшее количество молодежи было произведено в декабре.

Наименьший показатель плодовитости отмечен в зимний период года, он составил 37 особей, наибольший (138 особей молодежи в пересчете на одну партеногенетическую самку) отмечен в летний период. Наивысшие пики плодовитости приходятся на июнь, сентябрь, декабрь, пики значительного снижения показателя — январь, март, февраль, июль. Следовательно, колебания плодовитости у дафний могут быть обусловлены как генетическими факторами, так и токсическим воздействием тестируемых вод. Полученную динамику мы связываем с реакцией тест-объектов на изменение солнечной активности в течение года (рис. 18).



**Рис. 18. Среднее количество выметанной молоди в пересчете на одну исходную лабораторную самку *D. magna* в течение месяца**

Анализ токсикологических опытов по определению токсичности природной воды реки Оби, озера Самотлор, проведенных в период с 2002 по 2007 гг., с использованием показателя плодовитости в разные периоды года, показал следующие закономерности спадов и подъемов плодовитости; наиболее значительно повышается плодовитость дафний в летний период в июле, что связано, вероятнее всего, с благоприятным климатом; в период с августа по сентябрь плодовитость также повышается, что связано с благоприятным микроклиматом, а также с интенсификацией процессов самоочищения в водном объекте. Незначительное повышение плодовитости отмечается в начале года в мае, несмотря на большое количество талых и сточных вод, несущих в себе «законсервированные» загрязняющие вещества, попадающих во время таяния снега в реки и озера; плодовитость тест-объектов по сравнению с зимними пробами повышается (вероятнее всего, это связано с тем, что таяние льда и снега вызывает разбавление воды и концентрации токсикантов снижаются). Снижение плодовитости отмечено в конце года с декабря по январь, что объясняется зимним замором, отмечающимся в регионе ежегодно. Пики повышения и понижения плодовитости также связаны с климатическими условиями в районе исследования, который характеризуется ярко выраженным умеренно-континентальным климатом с продолжительной холодной зимой, коротким сравнительно теплым

летом, поздними весенними и ранними осенними заморозками. Ледостав на озере Самотлор наблюдается в октябре, вскрытие озер и рек происходит во второй декаде мая.

Таким образом, такой показатель, как плодovitость, находится в зависимости от времени года и степени токсичности воды, выживаемость же от времени года не зависит, она напрямую связана с качеством воды.

### ***3.3. Зависимость токсичности природных вод от химического состава***

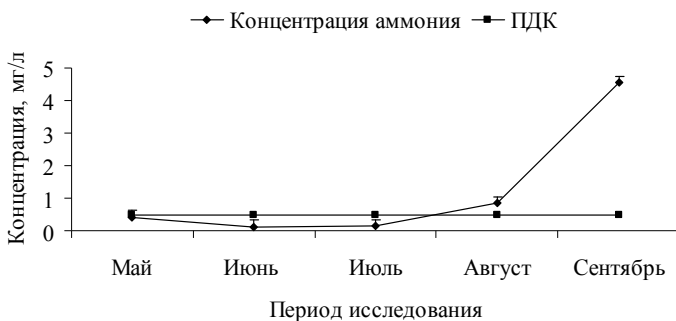
В период исследования с 2002 по 2004 гг. превышение ПДК в течение года отмечалось по таким показателям, как нефтепродукты, аммоний, медь, железо, фенолы. Для данных веществ характерен не только антропогенный путь поступления в окружающую среду, но и естественная циркуляция в водах района исследования. Оценка взаимосвязи токсичности озерных и речных вод с их химическим составом проводилась с использованием корреляционного анализа. Этот анализ позволил также определить группу приоритетных загрязнителей, в числе которых нефтепродукты, медь, аммоний, железо, фенолы (рис. 19—22).

Корреляционная зависимость токсичности по критериям выживаемости, проб воды озер Самотлорской группы и реки Оби с результатами химических анализов составила: железо ( $r = 0,09$ ), марганец ( $r = 0,29$ ), аммоний ( $r = 0,11$ ), медь ( $r = 0,07$ ), нефтепродукты ( $r = 0,02$ ), фенолы ( $r = 0,06$ ), цинк ( $r = 0,02$ ), хлориды ( $r = 0,1$ ), нитраты ( $r = 0,01$ ), нитриты ( $r = 0,09$ ). Показатели положительно коррелируют с результатами биотестирования. Отрицательная корреляция отмечена лишь с фосфатами ( $r = -0,03$ ).

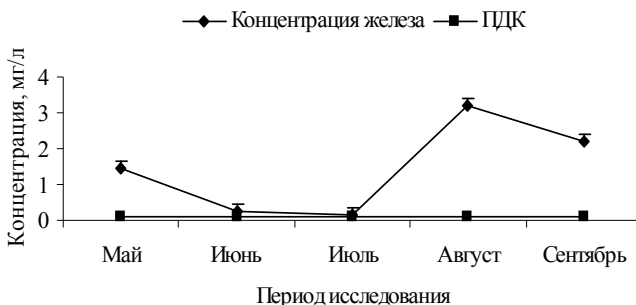
Корреляционная зависимость хронической токсичности, по критериям плодovitости, проб воды озер Самотлорской группы и реки Оби с результатами химических анализов составила: железо ( $r = -0,2$ ), марганец ( $r = 0,2$ ), аммоний ( $r = -0,1$ ), медь ( $r = -0,07$ ), нефтепродукты ( $r = -0,07$ ), фенолы ( $r = 0,03$ ), цинк ( $r = 0,01$ ), нитраты ( $r = 0,04$ ), нитриты ( $r = -0,07$ ), фосфаты ( $r = 0,04$ ), хлориды ( $r = 0,01$ ). Кроме того, рассчитывалась множественная коррелятивная зависимость токсичности проб воды по показателю

плодовитости с такими химическими веществами, как марганец и цинк. Показатель множественной корреляции составил  $r = 0,4$ , показатель достоверен так, как полученный коэффициент больше максимального из парных или частных коэффициентов корреляции  $0,4 > 0,01; 0,2; -0,06$ .

Связь между показателями биотестирования и химического анализа воды может быть отрицательной и положительной: когда значения одной переменной убывают, значения другой возрастают — это показывает отрицательный коэффициент корреляции, при положительной корреляции при увеличении одного параметра второй тоже увеличивается.



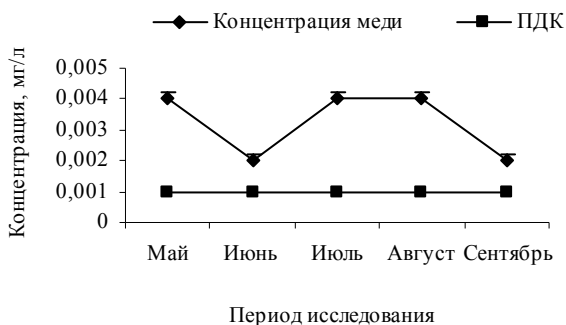
**Рис. 19.** Концентрация аммония в природных водах в периоды исследования по результатам химического анализа 2002—2004 гг.



**Рис. 20.** Концентрация железа в природных водах в период исследования по результатам химического анализа 2002—2004 гг.



**Рис. 21. Концентрация нефтепродуктов в природных водах в период исследования по результатам химического анализа 2002—2004 гг.**



**Рис. 22. Концентрация меди в природных водах в период исследования по результатам химического анализа 2002—2004 гг.**

Химический анализ пробы воды, отобранной в мае, показал превышение допустимых концентраций по следующим показателям: медь — в 4 раза, содержание железа общего составило 1,43 мг/л, показатели БПК — 3,90, рН — 5,66, концентрации других веществ не превышали допустимых норм.

В июле концентрация меди превысила ПДК в два раза, концентрация железа общего в 2,5 раз, содержание других веществ не превышало нормы.

В июле количество меди превысило норму в 4 раза, содержание железа составило 1,5 мг/л.

Август характеризовался превышением нормативов по таким показателям, как аммоний, медь; содержание железа достигло наивысшей отметки за период исследования — 3,22 мг/л, фенолы превысили ПДК в 2 раза, показатель БПК составил 4,66, рН — 6,99.

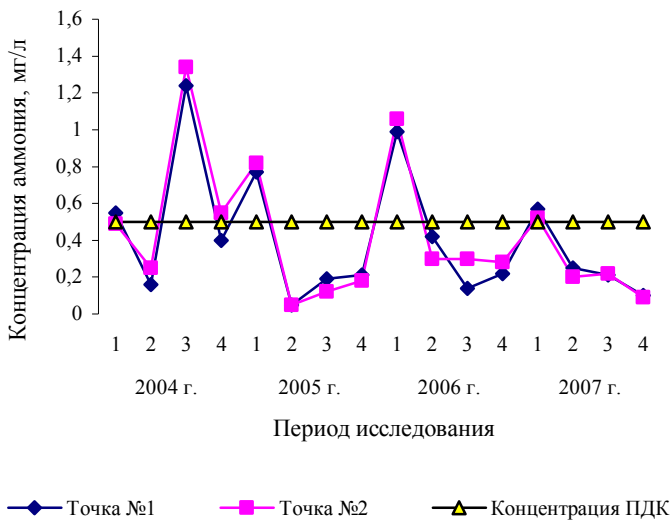
Сентябрь, по результатам биотестирования и данным химического анализа, можно охарактеризовать как самый загрязненный период в сравнении с другими месяцами исследования. В данный период отмечены значительные превышения ПДК аммония, меди, железа, фенолов, нефтепродукты превышали ПДК незначительно, концентрация составила 0,06 мг/л. В период с мая по август концентрация нефтепродуктов не изменялась и составляла 0,05 мг/л. Среднегодовые показатели по исследуемым веществам также превышают допустимые концентрации. В период исследования превышение нормативов по другим веществам не отмечено.

В целом можно отметить, что химический состав природных вод коррелирует с показателями биотестирования. Динамика содержания химических веществ в пробах природной воды в исследованные периоды подтверждает сезонную динамику токсичности природных вод по итогам биотестирования.

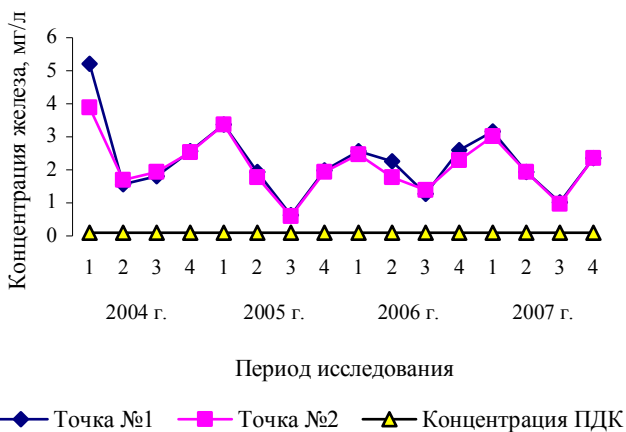
В период исследования 2004—2007 гг. превышение ПДК в течение всего исследованного периода отмечалось по таким показателям, как нефтепродукты, аммоний, медь, железо, фенолы, а также по таким показателям, как ХПК, АПАВ (рис. 23—26).

Нефтепродукты выше нормативов ПДК определялись редко в 20% отобранных проб, превышение норм было незначительным (0,006—0,007 мг/л). Коррелятивной зависимости токсичности воды для *S. affinis* с количеством нефтепродуктов в данный период исследования не отмечено. Превышение нормативов ПДК по аммоний-иону отмечено в 42% случаев. В 62% проб меди определялось от 0,002 до 0,005 мг/л, аналогичное превышение уровней ПДК регистрировалось по содержанию количества фенолов (от 0,002 до 0,004 мг/л), однако корреляционной зависимости степени токсичности вод с количеством фенолов не отмечено. Количество железа в тестируемой воде в 100% случаев превышало допустимые пределы. Превышение нормативов ПДК по марганцу

отмечено в 100% случаев за исследованный период, резкие скачки количества марганца в водах реки Оби отмечаются преимущественно в зимний период, в первых кварталах года.

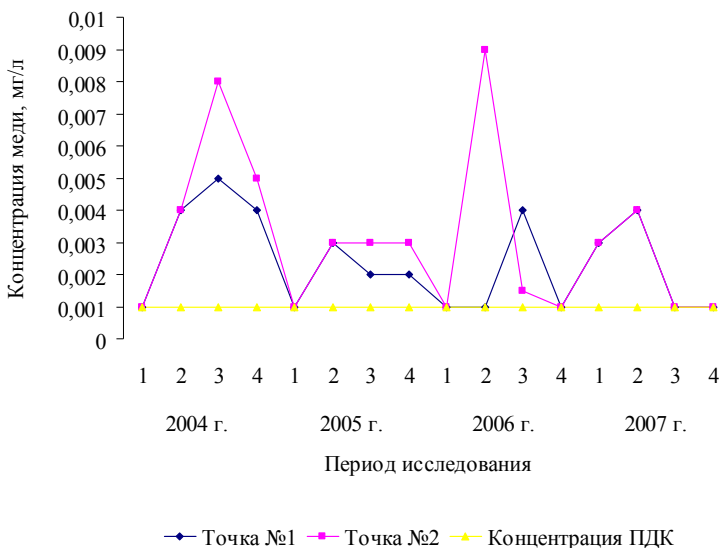


**Рис. 23.** Концентрация аммония в водах реки Оби в период исследования по результатам химического анализа 2004—2007 гг.

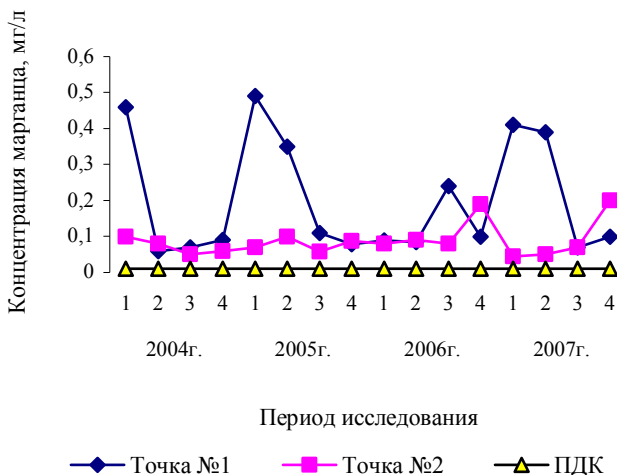


**Рис. 24.** Концентрация железа в водах реки Оби в период исследования по результатам химического анализа 2004—2007 гг.





**Рис. 25. Концентрация меди в водах реки Оби в период исследования по результатам химического анализа 2004—2007 гг.**



**Рис. 26. Концентрация марганца в водах реки Оби в период исследования по результатам химического анализа 2004—2007 гг.**

Результаты анализов и расчетов дают основания утверждать, что железо, аммоний, медь, нефтепродукты, нитриты, отрицательно коррелируют с показателями биотестирования тест-объектов, т.е. при повышении количества данных веществ в пробах воды плодovitость угнетается. Марганец, цинк, фенолы, нитраты, фосфаты при повышении концентрации, наоборот, способны вызывать стимулирующий эффект.

### 3.4. Статистическая обработка результатов экспериментов

При обработке данных исследования токсичности вод по критерию выживаемости использовалась математическая модель повторяющихся независимых экспериментов с двумя исходами (модель Бернулли). Каждая особь на протяжении 96 часов имеет вероятность выживания  $p$  и вероятность гибели  $q = 1 - p$  независимо от других особей. Значение вероятности  $p$  зависит от свойств окружающей среды и приблизительно равно 1, если водная среда нетоксична. В случае, когда вода токсична, значение  $p$  будет значительно меньше 1.

Для оценки вероятности  $p$  применяется формула:

$$p = \frac{\text{количество выживших дафний}}{\text{исходное количество дафний}} \quad (10).$$

При этом суммировали данные по каждой повторности.

Кроме того, необходимо произвести тест на статистическую однородность для каждой повторности с использованием значения параметра  $p$ , вычисленного ранее, с целью отсутствия ошибок при проведении эксперимента в каждой повторности. Для этого проверяли, лежит ли количество выживших дафний для каждой повторности в пределах, рассчитанных по критерию Стьюдента: от  $np - t_{0,05;n-1}\sqrt{np(1-p)}$  до  $np + t_{0,05;n-1}\sqrt{np(1-p)}$ , где  $n = 10$  — количество особей в повторности, значение  $p$  вычислено ранее, а  $t_{0,05;n-1} = 2,262$  находится из таблицы распределения Стьюдента для  $n-1=9$  степеней свободы и уровня значимости 5%. При этом верхняя и нижняя границы округляются до ближайшего целого числа (значения меньше 0 и больше 10

заменяются на 0 и 10 соответственно). Проба считается токсичной, если значение параметра  $P$  ниже 0,5.

Для обработки данных исследования токсичности вод по критерию плодовитости использовали функцию ТТЕСТ программы Excel из пакета Microsoft Office. Эта функция возвращает вероятность, соответствующую критерию Стьюдента, и используется, чтобы определить, насколько вероятно, что две выборки взяты из генеральных совокупностей, которые имеют одно и то же среднее.

В качестве первой выборки используются данные, полученные в контрольной группе. Вторую выборку составляют данные из опытной группы. В качестве дополнительных параметров задаем: хвосты = 2 (используется двустороннее распределение) и тип теста = 3 (двухвыборочный тест с неравными дисперсиями).

Если результат вычисления функции ТТЕСТ меньше 0,05, что соответствует уровню значимости 5%, то различие уровней загрязненности для контрольной группы и опытной группы статистически достоверно. Если значение больше 0,05, то это означает, что различие между контрольной и опытной группами мало и может появиться в силу случайных причин.

Для оценки токсичности пробы сравниваются показатели средней плодовитости самки для контрольной и опытной группы. Считается, что проба оказывает токсичное действие, если показатель отличается в два и более раз.

В качестве основных статистических характеристик выбраны среднее значение и стандартное отклонение (вычисляемые с помощью функций СРЗНАЧ и СТАНДОТКЛОН программы Excel. Если значения стандартного отклонения в опытной группе значительно больше, чем в контрольной группе, то это свидетельствует о том, что имеются причины, объясняющие существенную вариацию в данных по опытной группе. Для проверки этого явления вычислим 95%-доверительные интервалы для среднеквадратического отклонения в контрольных группах по формуле

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{0,025;n-1}^2}} < \sigma < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{0,975;n-1}^2}}.$$

Здесь  $n = 4$  — количество опытов (поколений),  $s^2$  — квадрат стандартного отклонения, оцененного по выборке,

$\chi_{0,025;n-1}^2 = 9,348$ ,  $\chi_{0,975;n-1}^2 = 0,216$  — значения квантилей распределения  $\chi$ -квадрат, найденные по таблицам,  $\sigma$  — истинное значение среднеквадратического отклонения (для генеральной совокупности).

Оценка зависимости токсичности природных вод от химического состава проводилась с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel, методом корреляционного анализа.

Расчеты токсикологических экспериментов для дафний и цефиодафний проводятся по методике определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости (ФР. 1. 39. 2001. 00286; ПНД Ф Т 14.1: 2: 3: 4:6 — 2000).

Оценка достоверности различий биопараметров в хроническом опыте с использованием тест-объектов *D. magna* и *C. affinis* при проведении анализов вод реки Оби в период 2004—2007 гг. проводилась с использованием критерия Стьюдента. Первоначально рассчитывался показатель достоверности ( $T_g$ ), который впоследствии сравнивался с критерием Стьюдента. Если рассчитанное  $T_g \geq T_{st}$ , то изменение в плодовитости тест-объектов достоверны, а не случайны. В этом случае принимали, что исследуемая вода оказывает хроническое токсическое действие. Если  $T_g \leq T_{st}$ , то выявленные различия в плодовитости тест-объектов в тестируемой воде и контроле недостоверны, следовательно, исследуемая вода не оказывает хронического токсического действия.

Корреляционную зависимость количества молодежи тест-объектов с количеством химических веществ в исследуемых пробах проводили с использованием функции КОРРЕЛ программы Excel. Связь между показателями биотестирования и химического анализа воды может быть отрицательной и положительной: когда значения одной переменной убывают, значения другой возрастают. Это показывает отрицательный коэффициент корреляции, при положительной корреляции при увеличении одного параметра второй тоже увеличивается. Достоверность коррелятивной зависимости определяли, рассчитывая  $t$ -критерий и сравнивая его с табличным ( $t_{st}$ ) значением. При  $t > t_{st}$  для данной доверительной вероятности наличие корреляции можно считать статистически достоверным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокие концентрации в воде водоемов Нижневартковского района гуминовых кислот, ионов аммония, железа и марганца, а также части фенолов, образующихся при разложении растительных остатков, не зависят от антропогенной нагрузки и вызваны влиянием природных факторов, в частности, условиями формирования водотоков на территории района. Антропогенными загрязнениями водоемов Нижневартковского района являются: углеводороды нефти, поступающие в водоемы и на площадь водосбора при авариях нефтепроводов, при горении факелов, разливах содержимого шламовых амбаров, со сточными водами; тяжелые металлы, СПАВ, полиакриламиды и другие компоненты буровых растворов; минеральные соли, входящие в состав пластовых и подтоварных вод, а также жидкой фазы буровых растворов

Определение хронической токсичности по результатам исследования экспериментов с 2002 по 2007 гг. было проведено по достоверному отклонению от контроля и стимуляции плодовитости (норма < 30%). В исследуемой воде хроническую токсичность вызывают токсичные вещества антропогенного и природного происхождения. Эти вещества вызывают как угнетение тест-объектов, так и положительную тест-реакцию, вызывающую стимулирование плодовитости.

Эффект стимулирования плодовитости в опытах с тест-объектами *D. magna* наблюдался в 28% случаев, в опытах с тест-объектами *C. affinis* — в 61% случаев. Результаты экспериментов с использованием *D. magna* в 33% случаев подтверждают результаты экспериментов с использованием *C. affinis*, что доказывает необходимость проведения токсикологических экспериментов на нескольких тест-объектах.

Анализ токсичности воды в восьми точках исследования показал, что в 39% исследований отмечена токсичность воды в период с июля по сентябрь, в период с января по июнь вода оказывала токсичное действие на тест-объекты в 22% опытов, в осенне-зимний период с октября по декабрь отмечена токсичность в 15% опытов. За период исследования показатель выживаемости не опускался ниже 80%.

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 «поведение» химических элементов в природной среде, влияния на живые объекты, как прямого, так и косвенного. В связи с чем в настоящее время очевидна необходимость биологического тестирования, отражающего реакцию живых объектов на антропогенное воздействие. В целом для более точного определения качества окружающей природной среды необходимо введение биологического тестирования наряду с химическими анализами как на предприятиях, так и в лабораториях, осуществляющих контроль качества окружающей природной среды; необходимо разработать нормативы ПДК с учетом климатических особенностей региона и фоновых концентраций веществ, разработать методики полевого биотестирования.

Интерпретация результатов токсикологических опытов довольно сложна, т.к. стандартными методами гидрохимического анализа не учитывается характер комбинированного взаимодействия веществ в пробах, не все химические вещества определяются. Биотестирование проходит в лабораторных «идеальных» условиях, которые не соответствуют природным условиям существования популяций, не учитывается температурный фактор, не учитывается сезонная динамика, результаты оцениваются относительно лабораторной популяции организмов. При тестировании по критериям выживаемости тест-объектов контрольные повторности, по сути, служат для того, чтобы можно было удостовериться в правильности поставленного опыта; в том случае, если выживаемость в контрольной группе ниже 90%, результаты опыта недействительны. Плодовитость же оценивается относительно контрольной группы, причем никаких ограничений нет, в связи с чем предлагается введение «идеального» показателя уровня плодовитости для контрольных и экспериментальных самок. В среднем показатели плодовитости контрольных самок более стабильны, нежели показатели плодовитости экспериментальных, однако предел вариаций очень широк в обеих группах, следовательно, предлагается сравнивать экспериментальные показатели не только с контрольным, но и с «идеальным» показателем плодовитости

(средним показателем плодовитости контрольных самок). Исследователями замечено, что плодовитость *D. magna* в ряду поколений не является постоянной величиной [Алымова, 1975; Исакова, Строганов, 1975]. В природных условиях сезонные изменения численности планктонных ракообразных обусловлены как изменениями факторов среды (температура, свет, обеспеченность пищей) в течение года, так и внутрипопуляционными взаимодействиями.

Исследования на лабораторной культуре в разные сезоны года дают основание утверждать, что такой показатель, как плодовитость, находится в зависимости от времени года и степени токсичности воды, выживаемость же от времени года не зависит, а имеет прямую связь с качеством воды.

Полученные результаты биотестирования трудно соотнести с силой воздействия какого-либо конкретного фактора. Аспектно данный вопрос возможно разрешить методами математического анализа, в частности, корреляционного. Результаты анализов и расчетов корреляционной зависимости дают основания утверждать, что железо, аммоний, медь, нефтепродукты, нитриты, отрицательно коррелируют с показателями биотестирования тест-объектов, т.е. при повышении количества данных веществ в пробах воды плодовитость угнетается. Марганец, цинк, фенолы, нитраты, фосфаты при повышении концентрации, наоборот, способны вызывать стимулирующий эффект.

Таковы, по нашему мнению, основные проблемы, которые комплексно должны решаться в ближайшем будущем в области научно-теоретических и практических исследований с целью повышения качества окружающей природной среды, сохранения естественных экологических систем.

Некоторые из отмеченных вопросов не вошли в данную работу, так как являются предметом специального анализа, другая часть вопросов найдет свое разрешение в последующих исследованиях, основой которых послужат полученные результаты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Авакян З.А. Сравнительная токсичность тяжелых металлов для некоторых микроорганизмов // Микробиология. 1967. № 3. С. 805—807.

Аверьянов А.Г. К вопросу об оценке воздушной среды при наличии нескольких вредных компонентов // Гигиена и санитария. 1957. № 8. С. 64—67.

Алимарин И.П., Ушаков Н.Н. Справочные таблицы по аналитической химии. М., 1960. С. 104.

Алымова Т.П. Влияние хронического фенольного отравления на биологию дафний // Формирование и контроль качества поверхностных вод. Киев, 1975. Вып. 1. С. 34—39.

Базиневиц Н.И., Гребенщиков О.С., Тишков А.А. Географические закономерности структуры и функционирования природных экологических систем. М., 1986. С. 296.

Баканов А.И., Гапеева М.В., Томилина И.И. Оценка качества донных отложений водохранилищ Верхней Волги с использованием элементов триадного подхода // Биология внутренних вод. 2000. № 1. С. 102—109.

Бархатова О.А. Сравнительная токсикорезистентность *Epischura bacalensis* и *Daphnia magna* в присутствии и отсутствии пищи: Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2000. С. 156.

Безрукова Н.В. Взаимосвязь химического состава промышленных возвратных вод и их токсичность для гидробионтов (на примере Нижнего Новгорода): Дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2000. С. 182.

Бейко О.А., Головки А.К., Горбунова Л.В. Химический состав нефтей Западной Сибири. Новосибирск, 1988. С. 288.

Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963. С. 152.

Блохина Н.П., Помазкова Г.И., Стом Д.И. О влиянии полифенолов на креветок // Гидробиологические и ихтиологические исследования в Восточной Сибири. Иркутск, 1978. Вып. 2. С. 193—198.

Ботаника с основами экологии: Учеб. пособие для студентов пед. ин-тов по спец. № 2121 «Педагогика и методика начального обучения» / Л.В.Кудряшов, М.А.Гуленкова, В.Н.Козлова, Г.Б.Родионова. М., 1979. С. 320.



Брагинский Л.П. Биологические тесты как метод индикации токсичности водной среды // Проблемы аналитической химии. М., 1977. Т. 5. С. 27—30.

Брагинский Л.П., Щербань Э.П. Острая токсичность тяжелых металлов для водных беспозвоночных при различных температурных условиях // Гидробиологический журнал. 1978. № 6. С. 86—92.

Брагинский Л.П. Оценка качества вод природных водоемов по токсикологическим показателям // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. Л., 1981. С. 201—206.

Брагинский Л.П. Теоретические аспекты проблемы «нормы и патологии» в водной экотоксикологии // Теоретические вопросы водной токсикологии. Л., 1981. С. 29—40.

Брагинский Л.П., Щербань Э.П. Биологическое тестирование токсичности Килийского рукава Дуная // Гидробиология Дуная и лиманов северо-запада Причерноморья. Киев, 1986. С. 140.

Брагинский Л.Л., Буртная И.Л., Щербань Э.П. Токсичность синтетических моющих средств для массовых форм пресноводных беспозвоночных // Экспериментальные исследования влияния загрязнений на водные организмы. Апатиты: Кольский филиал АН СССР, 1979. С. 24—30.

Быков М.И. Об учете комбинированного действия веществ в сточных водах // Токсикологический вестник. 1996. № 2. С. 23—24.

Волков И.В., Заличева И.Н. Эколого-токсикологические принципы регионального лимитирования содержания металлов в поверхностных водах // Гидробиологический журнал. 1993. Т. 29. Вып. 1. С. 52—58.

Волцит О.В., Черняковский М.Е. Природа России: жизнь животных. Беспозвоночные. М., 1999. С. 768.

Григорьев Ю.С. Методические рекомендации по проведению практических работ по экологии на базе учебно-экологической лаборатории. Красноярск, 1999. С. 30.

Гудкова Н.С. Чувствительность к пестицидам некоторых высших ракообразных Волгоградского водохранилища и прилегающих водоемов: Тр. компл. экспедиции Саратов. ун-та по изучению Волгоградского и Саратовского водохранилищ, 1979. № 8. С. 71—75.

Действие растворенных нефтепродуктов на некоторые виды черноморских рыб в онтогенезе / Г.И.Ковалева, Т.Р. Бахашвили и др. // Материалы Всесоюзного симпозиума по изучению Черного и Средиземного морей, использованию и охране их ресурсов. Киев, 1973. Ч. 4. С. 51—56.

Дивавин И.А. Влияние нефти и фенола на некоторые свойства нуклеиновых кислот черноморских креветок // Биология моря. 1975. № 3. С. 62.

Дивавин И.А., Ерохин В.Е. Изменение биохимических показателей некоторых прибрежных гидробионтов Баренцева моря при экспериментальной нефтяной интоксикации // Гидробиологический журнал. 1978. Т. 14. № 5. С. 73—77.

Докучаев В.В. Учение о зонах природы. М., 1948. С. 64.

Ермаков Н.В. Медицинские свойства различных пленкообразователей и их смесей // Медицинская паразитология. 1943. № 3. С. 42—54.

Жмур Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России. М., 1997. С. 117.

Жмур Н.С. Токсикологический мониторинг источников загрязнения водных объектов // Токсикологический вестник. 1999. № 3. С. 7—13.

Злочевская И.В. Токсическое действие комплексного соединения свинца с DL-цистеином на *Aspergillus niger* // Микробиология. 1968. № 5. С. 848—854.

Золотев Ю.А. Методология экоаналитического контроля // Журнал аналитической химии. 1999. Т. 54. № 3. С. 229.

Ивлева И.В. Биологические основы и методы массового культивирования беспозвоночных. М., 1969. С. 170.

Исакова Е.Ф., Строганов Н.С. Влияние триэтиловохлорида, трипропилово хлорида и трибутиловохлорида на низших ракообразных // Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. М., 1975. С. 104—122.

Исакова Е.Ф. Сезонные изменения фактической плодовитости *Daphnia magna* в лабораторной культуре // Гидробиологический журнал. 1980. Т. 16. Вып. 4. С. 86—89.

Исакова Е.Ф. Реагирование некоторых низших ракообразных на химическое загрязнение воды: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1982. С. 150.

Итоги и перспективы применения методов биотестирования для оценки токсичности возвратных вод: Нижегородский опыт / Д.Б.Гелашвили, Ю.Ф.Лукичев, М.Е.Безруков, Н.В.Лисенкова, А.А.Силкин, В.В.Логинов // Экология и промышленность России. М., 1998. С. 30—36.

Каган Ю.С., Штабский Б.М. Проблема изучения и оценки комбинированного действия ксенобиотиков // Токсикологический вестник. 1996. № 5. С. 2—9.

Камшилов М.М. Буферность живой системы // Журнал общей биологии. 1973. Т. 34. Вып. 2. С. 174—194.

Камшилов М.М. Экологические аспекты загрязнения водных объектов и принципиальные пути борьбы с ними // Гидробиологический журнал. 1979. Т. 15. Вып. 1. С. 7—10.

Караваева Н.А. О процессах прогрессивного заболачивания в почвенном покрове тайги Западной Сибири. М., 1969. С. 69—81.

Кацнельсон Б.А., Новиков С.М. Методические подходы к изучению комбинированного действия промышленных вредных веществ // Гигиена и санитария. 1986. № 8. С. 59—63.

Квасников Е.И., Ключникова Т.М. Микроорганизмы — деструкторы нефти в водных бассейнах. Киев, 1981. С. 132.

Кербабаев Э.Б., Мальцман Т.С. Сравнительная оценка действия некоторых фосфорорганических пестицидов на водных животных // Вопросы водной токсикологии. М., 1970. С. 116—121.

Ковалева Г.И. Некоторые физиолого-биохимические особенности реакции рыб на действие малых концентраций растворенных нефтепродуктов // Экологическая физиология рыб. 1976. С. 54—65.

Количественная токсикология / А.А.Голубев, Е.И.Люблина, Н.А.Толоконцев, В.А.Филов. Л., 1973. С. 287.

Колосова Л.В., Строганов Н.С. Анализ механизма действия некоторых пестицидов на дафний по биологическим показателям // Экспериментальная водная токсикология. 1973. С. 134—145.

Комбинированное действие синтетических пиретроидов и фосфорорганических соединений / Ю.С.Каган, О.Б.Леоненко,

Л.М.Сасинович, В.Г.Авраменко // Токсикологический вестник. 1993. № 3. С. 15—16.

Копанев В.А. О расчете ожидаемого аддитивного эффекта комбинированного или комплексного действия ядов // Гигиена и санитария. 1990. № 6. С. 59—61.

Коскова Л.А., Козловская В.И. Токсичность синтетических поверхностно-активных и моющих средств для водных животных (Обзор) // Гидробиологический журнал. 1979. № 1. С. 77—84.

Котов А.М. Изменение некоторых показателей углеводного обмена в крови у смариды и морского языка при экспериментальном отравлении растворенными нефтепродуктами // Гидробиологический журнал. 1976. № 6. С. 84—88.

Кравченко М.Е. Исследование влияния дисперсантов нефти и нефтепродуктов на сине-зеленые водоросли: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1977. С. 150.

Крестьянинов П.А. Токсические комбинированные эффекты тяжелых металлов при их определении биологическим методом анализа на бактериях: Дис. ... канд. биол. наук. Н.Новгород, 2002. С. 150.

Куликов М.А., Малашенко Ю.Р. Упрощенный способ оценки точности проведения теоретической кривой летальности // Фармакология и токсикология. 1966. Т. 29. № 5. С. 621—624.

Лазарев Н.В. Общие основы промышленной токсикологии. М.: Л., 1938. С. 338.

Лазарева Л.П. Изменения биологических параметров при хроническом воздействии низких концентраций меди и никеля на *Daphnia magna* Straus // Гидробиологический журнал. 1985. Т. 21. Вып. 5. С. 53—56.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980. С. 293.

Лезин В.А. Тюлькова Л.А. Озера Среднего Приобья // Комплексная характеристика. Тюмень, 1994. С. 146.

Лесников Л.А. О типах действия сточных вод на водоемы и водные организмы // Вопросы рыбного хозяйства на внутренних водоемах СССР. Л., 1969. С. 265—276.

Лесников Л.А. Основные задачи, возможности и ограничения биотестирования // Теоретические вопросы биотестирования / Под ред. В.И.Лукияненко. Волгоград, 1983. С. 3—12.

Лесников Л.А. Сравнение различных методик проведения водно-токсикологических экспериментов // Изв. НИОРХ. 1976. С. 3—7.

Лившиц П.З. О вычислении средней смертельной дозы // Фармакология и токсикология. 1966. Т. 29. № 1. С. 113—118.

Линник П.Н. Формы миграции тяжелых металлов и их действие на гидробионтов // Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1986. Вып. 2. С. 144—154.

Мазманиди Н.Д. О симптоматологии отравления гидробионтов нефтью // Рыбное хозяйство. 1974. № 9. С. 28—32.

Макрушин А.В. Опыт использования в биотестировании разных видов ветвистоусых ракообразных // Влияние биологически активных веществ на гидробионтов: Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. Л., 1988. Вып. 287. С. 92—95.

Максимов В.Н. Специфические проблемы изучения комбинированного действия загрязнителей на биологические системы // Гидробиологический журнал. 1977. Т. 13. № 4. С. 34—45.

Мерц В. Современные обобщенные показатели при мониторинге природных и сточных вод // Журнал аналитической химии. 1994. Т. 49. № 6. С. 557—566.

Методическое руководство по биотестированию воды. РД-118-02-90. М., 1991. С. 71.

Методологические проблемы применения биологических тест-объектов в экоаналитике / Д.Б.Гелашвили, А.А.Туманов, М.Е.Безруков, Н.В.Лисенкова, О.К.Барина, Н.П.Крестьянинов // Аналитическая химия. М., 1999. Т. 54. С. 909—917.

Мошковский Ш.Д. Функциональные кривые и типы экспериментов количественной химиотерапии // Медицинская паразитология. 1941. № 10. С. 204—216.

Невмержецкий Н.С. Структурный анализ // Токсикологический вестник. 1996. № 1. С. 15—19.

Никаноров А.М. Гидрохимия. Л., 1989. С. 352.

Никаноров А.М., Жулидов А.В. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. Л., 1991. С. 311—312.

Орлова В.В. Западная Сибирь. Л., 1962. С. 360.

Осипова Н.И. Определение малых количеств вещества с помощью некоторых биологических объектов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Горький, 1969. С. 136.

Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб водных объектов для анализа на загрязненность. ГОСТ 17.1.5.04-81. М., 1981. С. 12.

Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества воды водоемов водотоков. ГОСТ 17.1.3.07-82. М., 1982. С. 12.

Петин В.Г., Сынзыныс Б.И. Комбинированное воздействие факторов окружающей среды на биологические системы: Учеб. пособие для студентов специальности 013100 «Экология». Обнинск: ИАТЭ, 1998. С. 74.

Пиковский Ю.И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде. М.: МГУ, 1993. С. 206.

Плотников В.В. Экология Ханты-Мансийского автономного округа. Тюмень, 1997. С. 288.

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.3-99. Токсикологические методы контроля: Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. М., 1999. С. 31.

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.4-99. Токсикологические методы контроля: Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости цериодафний. М., 1999. С. 31.

Прикладные аспекты аппаратурного биотестирования воды / А.В.Пожаров, Ю.А.Рахманин, С.А.Шелемотов, Р.И.Михайлова // Гигиена и санитария. 1994. Вып. 8. С. 18—21.

Прозоровский В.Б. О выборе показателя выносливости при токсикологических исследованиях // Фармакология и токсикология. 1967. Т. 30. № 2. С. 240—243.

Протасов В.Ф., Матвеев А.С. Экология: Термины и понятия. Стандарты, сертификация. Нормативы и показатели: Учеб. и справоч. пособие. М., 2001. С. 208.

Ривьер И.К., Флеров Б.А. Действие полихлорпинена на некоторые биологические показатели и структуру популяции // Экспериментальная водная токсикология. 1973. № 5. С. 117—133.

Рыбак Е.И., Лисункин Ю.И., Калинин О.М. Нахождение 50% и других доз методом стохастической аппроксимации // Фармакология и токсикология. 1966. Т. 29. № 3. С. 368—370.

Сапрыкина Е.А. Влияние температурного режима и некоторых антропогенных факторов водной среды на жизнедеятельность дафний: Автореф. дис. канд. ... биологических наук. Борок, 2000. С. 21—22.

Сафонова Т.А. Накопление ртути и других тяжелых металлов водорослями и водными растениями. Поведение ртути и других тяжелых металлов в экосистемах. Новосибирск, 1989. С. 64—87.

Солнцева Н.П. Добыча нефти и геохимия природных ландшафтов. М., 1998. С. 376.

Состояние окружающей среды Ханты-Мансийского автономного округа в 2000 г.: Обзор. Ханты-Мансийск, 2001. С. 314.

Состояние окружающей природной среды и природных ресурсов в Нижневартовском районе в 2000—2002 гг.: Обзор. Нижневартовск, 2003. Вып. № 5. С. 126.

Сравнительная оценка токсического действия загрязняющих веществ на некоторые виды зоопланктонных организмов / А.О.Гроздов, А.М.Ибрагим, С.А.Патин, С.А.Соколова // Экспериментальные исследования влияния загрязнений на водные организмы. Апатиты: Кольский филиал АН СССР, 1979. С. 15—18.

Старков В.Д., Тюлькова Л.А. Геология и геоморфология. Тюмень, 1996. С. 378.

Степанов А.М. Концепция ПДК: за и против // Биологические науки. 1989. № 9. С. 61—67.

Строганов Н.С. Методика быстрого определения токсичности водной среды. Вестник МГУ. Сер. биология. 1968. № 3. С. 40—46.

Строганов В.С. Методика определения токсичности водной среды // Методика биологических исследований / Под ред. В.С.Строганова. М., 1971. С. 14—60.

Строганов Н.С. Принципы оценки нормального и патологического состояния водоемов при химическом загрязнении // Теоретические вопросы водной токсикологии. Л., 1981. С. 16—29.

Строганов Н.С. Токсическое загрязнение водоемов и деградация водных экосистем // Водная токсикология. М., 1976. С. 5—47.

Основные принципы биотестирования сточных вод и оценка качества вод природных водоемов / Н.С.Строганов, О.Ф.Филленко, Г.Д. Лебедева и др. // Теоретические вопросы биотестирования // Под ред. В.И.Лукьяненко. Волгоград, 1983. С. 21—29.

Толкачева (Александрова) В.В. Оценка загрязненности озера Самотлор // Успехи современного естествознания [Электронный ресурс]: Режим доступа: [www.gae.ru](http://www.gae.ru). 2004. № 10. С. 81—83.

Толкачева (Александрова) В.В. Оценка токсичности нефти Самотлорского месторождения методом биотестирования //

Эколого-географические проблемы природопользования нефтегазовых регионов: Теория, методы, практика: Матер. II Междунар. научно-практической конференции (Нижевартовск, 22—24 октября 2003 г.) / Отв. ред. Ф.Н.Рянский, С.Н.Соколов. Нижневартовск, 2003. С. 452.

Толкачева (Александрова) В.В. Оценка токсичности природных вод методом биотестирования // Александр фон Гумбольдт и проблемы устойчивого развития Урало-Сибирского региона: Матер. российско-германской конф. Тюмень; Тобольск, 20—22 сентября 2004 г. Тюмень, 2004. С. 404.

Толоконцев Н.А. О некоторых методах количественной оценки токсичности химических веществ // Применение математических методов в биологии. Л., 1964. Т. 3. С. 135—164.

Трахтенберг И.М. Проблемы нормы в токсикологии. М., 1991. С. 145.

Троли П. Факториальная экология. Киев, 1989. С. 232.

Труды NDI. Пути и средства достижения сбалансированного эколого-экономического развития в нефтяных регионах Западной Сибири. Нижневартовск, 1997. Вып. 1. С. 24—25.

Трунова О.Н. Химические загрязнения и их воздействие на биологические факторы самоочищения. Биодegradация химических загрязнителей в водной среде // Биологические факторы самоочищения водоемов и сточных вод. Л., 1979. С. 81—93.

Туманов А.А., Постнов И.Е. Водные беспозвоночные как аналитические индикаторы // Гидробиологический журнал. Киев, 1983. Т. XIX. № 5. С. 3—16.

Тюлькова Л.А. Озера Среднего Приобья // Гидрология и гидробиология Западной Сибири. Л., 1975. С. 98.

Федоренко В.И. Методика оценки комбинированного действия вредных веществ в токсиколого-гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. 1987. № 10. С. 56—58.

Федоров В.И. Оценка приоритета в ряду загрязнителей // Всесторонний анализ окружающей природной среды: Труды III Советско-американского симпозиума. Ташкент, 1977. С. 139—145.

Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию / Пер. с нем. М., 1997. С. 232.

Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Предсказание токсического эффекта загрязняющих веществ на гидробионтов в отдаленный



период на основе острых опытов // Теоретические вопросы водной токсикологии. Л., 1981. С. 121—137.

Филенко О.Ф. Водная токсикология. М., 1988. С. 156.

Филенко О.Ф., Лазарева В.В. Влияние токсических агентов на общебиологические и цитогенетические показатели у дафний // Гидробиологический журнал. 1989. Вып. 3. С. 56—60.

Флеров Б.А., Лапкина Л.Н. Избегание растворов некоторых токсических веществ медицинской пиявкой // Информационный бюллетень. 1976. № 30. С. 48—52.

Франке З., Франц П., Варнке В. Химия отравляющих веществ. Ч. 2. М., 1973. С. 40.

Хоружая Т.А. Оценка экологической опасности. Обеспечение безопасности, методы оценки рисков, мониторинг. М., 2002. С. 208.

Чувствительность биологического и тонкослойно-хроматографического методов определения остатков пестицидов / А.С.Седых, П.В.Попов, Г.М.Абеленцева и др. // Проблемы аналитической химии. Т. 2. Методы анализа пестицидов. М., 1972. С. 130—135.

Школьный экологический мониторинг: Учебно-методич. пособие / Под ред. Т.Я.Ашихминой. М., 2000. С. 468.

Щербань Э.П. Сравнительная оценка токсического действия пестицидов и тяжелых металлов на популяции ветвистоусых раков // Формирование и контроль качества поверхностных вод. Киев, 1975. Вып. 1. С. 81—89.

Щербань Э.П. Токсичность ионов некоторых тяжелых металлов для *Daphnia magna* Straïis в зависимости от температуры // Гидробиологический журнал. 1977. Т. 13. Вып. 4. С. 86—91.

Щербань Э.П. Сравнительная оценка эффективности биотестирования на различных видах *Cladocera* // Гидробиологический журнал. 1992. Т. 28. Вып. 4. С. 76—81.

Эколого-токсикологическая ситуация в водной среде / Л.П.Брагинский, Ф.Я.Комаровский, Э.П.Щербань, П.Н.Линник и др. // Гидробиологический журнал. 1989. Т. 25. Вып. 6. С. 91—101.

Экспериментальное тестирование токсичности водной среды и повышение чувствительности биологических тестов / Л.П.Брагинский, В.Д.Береза, Т.И.Биргер, Ф.Я.Комаровский,

А.Я.Маляревская, Э.П.Щербань // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л., 1979. С. 324—336.

Andelman I.B., Suess M.Y. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the water environment // Bull. Wld. Heth. Org., 1970. № 3. P. 479—508.

Anderson B.G. The apparent thresholds of *Daphnia magna* for chlorides of various metals when added to lake Erie water. Trans. Amer. Fish. Soc., 1950, 78. P. 9.

Baldwin W.S., Milan D.L., Leblanc D.A. Physiological and biochemical perturbations in *Daphnia magna* following exposure to the model environmental estrogen dethylstilbestrol // Environ. Toxicol. and Chem. 1995. 14. № 6. P. 945—952.

Baudouin A.F., Scoppa P. Metodi biologici per la determinazione della qualita della acqua: influenza del pH dell acqua di diluizione. Boll. Soc. ital. biol. Sper, 1975. № 8. P. 30.

Bertran P.E., Hart B.A. Longevity and reproduction of *Daphnia pulex* exposed to cadmium contaminated food of water. Environ. Pollut. 1979. № 4. P. 295—305.

Beurskens J.E.M., Winkels H.J., Wolf J.de and Dek C.G.C. Trends of priority pollutants in the Rhine during the last years // Water Sci. Technol. 1994. P. 77—85.

Biesinger K.E., Christensen G.M. Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *Daphnia magna*. J. Fish. Res. Board Can., 1972. P. 1691—1700.

Blac J.A., Roberts R.F., Jonson D.M. et al. The significance of physicochemical variables in aquatic bioassay of heavy metals. Bioassay Techn. and Environ. Chem. Ann Arbor, 1973. P. 259—275.

Blokker P. Die Ausbreitung von Öl auf Wasser. "Deutsche" Gewässerkundliche Mitteilungen. 1966. № 4. S. 112—114.

Burton G.A. Jr., Stemmer B.I., Winks K.L. A. Multitrophic level evaluation of sediment toxicity in Wankegen and Indiana harbors// Environ Toxicol. Chem. 1989. V. 8. P. 1057—1066.

Cairns J., Heath A.G. Jr., Parker B.G. The effects of temperature upon the toxicity of chemical to aquatic organisms. Hydrobiologia, 1975. P. 135—171.

Carter I.W., Cameron I.L. Toxicity bioassay of heavy metals in water using *Tetrahymena pyriformis*. Water Res., 1973. P. 951—961.

Darwazch H.A., Mulla M.S. Biological activity of organophosphorus compounds and synthetic pyrethroides against immature mosquitos. *Mosquito News*, 1974. № 2. P. 151—155.

Dawson F.H., Robinson W.N. Submerged macrophytes and the hydraulic roughness of a lowland chalkstream // *Verh. Intern. Verein. Limnol*, 1994. № 22. P. 1944—1948.

Dryl S. Response of eiliate protozoa to experimental stimuli. *Acta protozool.*, 1970. № 23. P. 325—352.

Frear D., Boyd J. Use of *Daphnia magna* for the microbioassay pesticides. 1. Development of standardized techniques for rearing *Daphnia* and preparation of dosage-mortality curves for pesticides. *J. Economic Entomology*. 1967. № 5. P. 1228—1236.

Gacher R., Lum-Shue-Chan, Chan I. Complexing capacity of the nutrient medium and its relation to inhibition of algae photosynthesis by copper. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 1973. № 2. P. 252—261.

Giesy J.P., Hoke R.A. Freshwater sediment quality criteria toxicity assessment // *Sediment Chemistry and toxicity of in — place Pollutants*. Boca Raton, F J, Lewis Publister, 1996. P. 265—348.

Hansen I.C. and Bonde G.I. Microbiological determination mercury in traceamounts // *Revue internationale oceanographie medicale*. 1969. V. 15—16.

Javier R., Bluzat J.R., Rodrigues-Ruiz F.I., Seuge I. Toxicite aigue de 5 agents polluants sur 4 especes d'invertebres habitant les eaux douces. *C. r. Acad. sci.t* 1976. № 9. P. 1089—1092.

Kawtski A., Schmulbach J. C. Toxicity of aldrin and dieldrin to the freshwater Ostra-cod *Chlamydotheca arcuata*. *J. Economic Entomol.* 1971. № 5. P. 1082—1085.

Knapek R., Lacota St. Einige Biotests zur Untersuchung der toxischen Wirkuge von Pestiziden un Wasser. *Tagungsber. Acad. Landwirtschaftswass. DDR*, 1974. № 126. S. 105—109.

Lake P.S., Swain R., Mills B. Lethal and sublethal effects of cadmium on freshwater crustaceans. *Austral. Water Resour. Council. Techn. Pap.*, 1979. № 37. P. 3—17.

Lay I.P., Schauerte W., Miller A., Klein W., Korte F. Influence of Beusene on the Phytoplankton and *Daphnia pulex* in Compartments of an Experimental Pond, *Ecotoxicol, Environ*, 1985. P. 218—227.

Leppakoski E.I., Linstrom L.S. // *J Fish. Res. Board. Can.* 1987. V. 35. № 5. P. 766.

Maki A.W., Bishop W.E. Acute toxicity studies of surfactants to *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*. Arch. Environ. Contam. and Toxicol., 1979. № 5. P. 599—612.

Methoden zur Bestimmung der Toxizität. In: Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung. Band 2. Jena, 1970. S. 206—209.

Miura Takashi R. M. Insect developmental inhibitors. Effects of candidate mosquito control agents on monotarget aquatic organisms. Environ. Entomol., 1974. № 4. P. 631—636.

Muirhead-Thomson R. C. Relative susceptibility of stream macroinvertebrates to temephos and chlorpyrifos, determined in laboratory continuous flow-system. Arch. Environ. Contam. and Toxicol., 1979. № 2. P. 129—137.

Nakatani J. Effects of various chemicals on the behaviour of *Paramecium caudatum*. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., 1970. Ser. 6, 17. № 3. P. 401—410.

Nuzzi R. Effekt of water soluble extracts of oil on phytoplankton. — Proc. Joint Conf. Prer. and Contr. Oil Spills, Washington, "DC", 1978. P. 809—913.

Phillips D.J. Use of biological indicator organisms to quantitate organochlorine pollutants in aquatic environment. A review.— Environ. Pollut., 1978. № 3. P. 205—229.

Pietrowicz-Kosmynska D. The influence of definite ionic medium on the negative chemotaxis in *Stentor coeruleus*. Acta protozool., 1971. № 15—21. P. 305—322.

Pietrowicz-Kosmynska D. The potassium-calcium equilibrium and chemotoxic sensitivity in *Stentor coeruleus*. Indeed, 1972. № 22—26. P. 349—363.

Qureshi S.A., Saksena A.B., Singh V.P. Acute toxicity of some heavy metals to fish food organisms. Int. Environ. Stud., 1980. № 3. P. 325—327.

Schweyer P. Test de toxicité de effluents. Circ. informs techn. Cent. doc. sider. 1974. № 2. P. 2619—2623.

Sleigh M.A. Some factors affecting the excitation of contraction in *Spirostomum*. Acta protozool., 1970. № 23—30. P. 335—352.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Глава 1. ОБЩИЕ ПРОБЛЕМЫ И ПОДХОДЫ К УРОВНЮ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГИДРОСФЕРЫ .....	5
1.1. Основные группы веществ загрязняющих водоемы и их влияние на водные экосистемы .....	5
1.2. Биотестирование как современный метод оценки качества окружающей природной среды .....	9
1.3. Нормирование качества природной среды .....	14
Глава 2. ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ КАК АНАЛИТИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ .....	19
2.1. Живые организмы различных систематических групп, используемые в качестве аналитических индикаторов .....	19
2.2. Методы биотестирования с использованием <i>Daphnia magna</i> и <i>Ceriodaphnia affinis</i> .....	25
Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ВОД МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ .....	35
3.1. Физико-географическая характеристика района исследования .....	35
3.2. Сезонная динамика хронической токсичности природных вод .....	39
3.3. Зависимость токсичности природных вод от химического состава.....	68
3.4. Статистическая обработка результатов экспериментов.....	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	77
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	80

*Научное издание*

*Александрова Виктория Викторовна*

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА БИОТЕСТИРОВАНИЯ  
В АНАЛИЗЕ ТОКСИЧНОСТИ ПРИРОДНЫХ  
И СТОЧНЫХ ВОД  
(на примере Нижневартовского района Тюменской области)**

**Монография**

Редактор *Ш.А.Амади*  
Компьютерная верстка *А.З.Насибуллиной*  
Художник обложки *Л.П.Павлова*

Изд. лиц. ЛР № 020742. Подписано в печать 29.09.2009  
Формат 60×84/16. Бумага для множительных аппаратов  
Гарнитура Times. Усл. печ. листов 6,0  
Тираж 500 экз. Заказ 941

*Отпечатано в Издательстве  
Нижневартовского государственного гуманитарного университета  
628615, Тюменская область, г.Нижневартовск, ул.Дзержинского, 11  
Тел./факс: (3466) 43-75-73, E-mail: izdatelstvo@nggu.ru*



