



# Биодиагностика

И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ:  
ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ, КРИТЕРИИ  
И ЭТАЛОНЫ СРАВНЕНИЯ В ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

## Biodiagnostics

and assessment of environmental quality:  
approaches, methods, criteria and reference  
standards in ecotoxicology

**Материалы международного симпозиума  
и молодежной школы**

Москва, 25-28 октября 2016 г. МГУ



Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова:  
Факультет почвоведения  
Биологический факультет  
Музей земледения  
Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова  
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

**Биодиагностика и оценка качества  
природной среды: подходы, методы, критерии  
и эталоны сравнения в экотоксикологии**

**Biodiagnostics and assessment of environmental quality:  
approaches, methods, criteria and reference  
standards in ecotoxicology**

Москва, 25-28 октября 2016 г.  
МГУ

**Материалы международного симпозиума**

Москва  
ГЕОС  
2016

УДК 574.2:574.22/615.9

ББК 26.323

Б 14

*Организаторы международного симпозиума*  
Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Московский государственный университет  
имени М.В. Ломоносова» (МГУ)  
Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова (РНИМУ)  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

*Симпозиум организован при поддержке*  
*Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 16-04-20772г и 16-34-10434 мол-г),*  
*Международного общества токсикологии и химии окружающей среды (SETAC)*

*Отв. редакторы: В.А. Терехова, О.Ф. Филенко, С.А. Шоба*  
*Редакционная коллегия*

*Д.М. Гершкович, М.В. Евдокимова, К.А. Кыдралиева,*  
*О.В. Николаева, М.И. Панова, С.В. Пацаева, М.А., Пукальчик,*  
*П.В. Учанов, Е.В. Федосеева, О.С. Якименко*

**Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы, МГУ, 25–28 октября 2016 г. – М.: ГЕОС, 2016. – 434 с.  
ISBN 978-5-89118-725-2**

Сборник включает материалы Международного симпозиума «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии», посвященного проблемам биоиндикации и биотестирования негативных воздействий на почвы, наземные и водные экосистемы. В сборнике представлены сообщения известных специалистов-экологов и молодых ученых из 10 стран: России, Эстонии, Казахстана, Кыргызстана, Германии, Великобритании, США, Турции, Китая, Индии. Особое внимание уделено методологии экологической оценки и концепции экологического нормирования, источникам воздействий, подлежащим контролю, и их влиянию на экологическое качество почв, водной и воздушной сред. Широко представлены результаты зоо-, фито- и микробиотической и молекулярно-генетической индикации природных сред в естественных, агро- и урбозекосистемах. Обсуждается информативность и воспроизводимость результатов биотестирования в разных областях применения, подходы к интеграции данных химических, токсикологических и экологических исследований для построения системы экологического нормирования. Затронуты проблемы прогноза возможных последствий антропогенного влияния на окружающую среду. В материалах международной молодежной школы, проводимой в рамках симпозиума, отражены результаты исследований по оценке биобезопасности продуктов и отходов современных технологий. Учитывая актуальность, теоретическую и практическую значимость рассмотренных вопросов сборник будет интересен экологам всех направлений.

**Biodiagnostics and assessment of environmental quality: approaches, methods, criteria and reference standards in ecotoxicology. Book of Abstracts of the International Symposium, October 25-28, 2016, Moscow, Russia, GEOS, 2016. – 434 p.**

The issue includes Proceedings of the International Symposium "Biodiagnostics and evaluation of quality of the environment: approaches, methods, criteria and reference standards in ecotoxicology", devoted to the problems of bioindication and bioassay of negative impacts on soil, terrestrial and aquatic ecosystems. The collection contains the reports of known environmental specialists and young researchers from 10 countries: Russia, Estonia, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Germany, UK, USA, Turkey, China and India. Particular attention is paid to the methodology of environmental assessment and the concept of environmental regulation, exposure sources to be monitored, and their impact on the environmental quality of soil, water and air environments. Widely presented results of indications of natural environments in natural, agricultural and urban ecosystems with zooplankton, phytoplankton, microbial and molecular-genetic bioassay. The informative value and the reproducibility of bioassay results in different fields of application, approaches to the integration of chemical data, toxicological and environmental studies for the construction of ecological rationing system under the discussion. Touched upon the problems of forecasting the possible consequences of human impact on the environment. The Proceedings of Symposia include abstracts of Young School focused on assessment of biosafety of products and wastes of traditional and recent technologies. Taking into account timeliness, theoretical and practical significance of the problems, the issue will be of interest for ecologists of all fields of study.

ISBN 978-5-89118 725-2

© Московский государственный университет  
имени М.В. Ломоносова, 2016  
© Симпозиум «Биодиагностика-2016»

## Предисловие

Прошло более трех лет со времени проведения Международной конференции «Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред» (февраль, 2013 г). Интерес, вызванный прошедшей конференцией, побудил организаторов провести новый форум по этой актуальной проблеме.

Настоящий симпозиум «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии», организованный в период 25–28 октября 2016 г. в стенах Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, предоставляет возможность специалистам встретиться и обменяться информацией и мнениями, сформированными за последние годы. Материалы симпозиума представляют собой своего рода обобщение произошедшего в нашей и некоторых других странах в области биодиагностики, дают возможность специалистам сопоставить актуальность различных направлений проблемы, оценить успехи начинающих, молодых и известных исследователей, наметить дальнейшие пути развития идеи контроля качества среды по биологическим и экологическим показателям.

Доклады представлены по следующим направлениям:

- Методология биодиагностики,
- Биотестирование в нормировании и токсикологическом контроле;
- Биоиндикация и химический анализ в экологическом мониторинге.

Получено более 170 сообщений, авторами которых явились специалисты из более чем из 40 городов России, Эстонии, Казахстана, Германии, Киргизии, Индии, Китая, США, Турции, Великобритании.

Методология биодиагностики ставит острые вопросы принципов отбора и применения биологических и экологических систем в нормировании качества среды, токсикологическом контроле, биоиндикации. Намечаются подходы к системе экологического нормирования качества среды. Обсуждаются проблемы стандартизации методов и измерений. Наряду с широкой постановкой фундаментальных проблем, на симпозиуме представлены сообщения по особенностям действия разнообразных веществ и проб водной и почвенной среды из региональных экологических систем на широкий круг тест-организмов, оцениваемых с применением традиционных и новых методов исследования.

Сообщения на симпозиуме представлены в форме устных докладов и стендовых презентаций. Актуальные вопросы поставлены для обсуждения в форме дискуссий на круглых столах: «Фитотестирование: проблемы и решения» и «Экологическая оценка по реакции бактерий: биолюминесценция и субстратная специфичность», которые посвящены обмену информацией и согласованию позиций по этим широко применяемым в контроле среды методическим приемам.

В рамках симпозиума проведены мастер-классы по использованию некоторых видов тест-культур в токсикометрии и по методам математического анализа результатов. Особое внимание уделено обсуждению проблемы аттестации биотехнологической коллекции стандартизованных тест-культур, необходимых для практического контроля токсичности объектов окружающей среды.

Активное участие в организации симпозиума приняли члены международного Общества токсикологии и химии окружающей среды – Society of Environmental



Toxicology and Chemistry (SETAC). Совет SETAC Europe делегировал своих представителей для участия в этом научном форуме. SETAC способствует вовлечению в мировое научное сообщество экологов разных направлений. Важной ценна поддержка грантами SETAC для молодых ученых.

Идея создания регионального отделения SETAC на территории России и сопредельных государств, закреплённая в резолюции международной конференции «Биодиагностика–2013» 4-6 февраля 2013г., была реализована в 2014 г.

Мы надеемся, что региональное отделение – SETAC Russian Language Branch, созданное на территории России и сопредельных государств, будет расти, развиваться, как и другие региональные отделения, станет эффективной информационной площадкой, способствующей не только упрочению международных связей ученых, но и внесет свой вклад в решение многих вопросов по оптимизации управления природоохранной политикой.

*Филенко Олег Федорович,  
доктор биологических наук, профессор,  
руководитель лаборатории водной токсикологии  
биологического факультета МГУ, член Совета SETAC RLB*  
*Терехова Вера Александровна ,  
доктор биологических наук, руководитель  
лаборатории экотоксикологического анализа почв  
факультета почвоведения МГУ, президент SETAC RLB*

---

**Welcome to the International Symposium “Biodiagnostics and Environmental Quality Assessment: Approaches, Methods, Criteria and Reference Standards in Ecotoxicology”, BIODIAGNOSTICS 2016.**

The Symposium, co-organised by the Russian Language Branch of SETAC Europe, the Lomonosov Moscow State University and Institute of Ecology and Evolution RAS, offers a modern and updated view of a variety of topics in ecotoxicology and related sciences. In addition, constitutes a significant effort in bringing forward the activities of SETAC Europe at the regional level. We recognize this as a strategic activity in our long range planning, what ensures the growth of our society. By implementing the activities in the Russian region, SETAC outreach acquires a further dimension, not only in basic and applied science, but also in regulatory aspects of environmental quality.

*Jose Julio Ortega-Calvo  
SETAC Europe President*

Dear Participant,

**A warm welcome to the International Symposium “Biodiagnostics and Environmental Quality Assessment: Approaches, Methods, Criteria and Reference Standards in Ecotoxicology”, BIODIAGNOSTICS 2016.**

As the Executive director of SETAC Europe I am delighted to see how the SETAC Russian Language Branch has taken off and succeeds to make a bridge between the Russian speaking scientific community and the broader community of environmental scientists united in SETAC.

This symposium jointly organized with the Lomonosov Moscow State University, the A.N Severtsov Institute of Ecology and Evolution, the Pirogov Russian National Research medical University and the Russian Foundation for Basic Research, is another landmark in the further development of SETAC-RLB.

SETAC's mission is to support the development of principles and practices for protection, enhancement and management of sustainable environmental quality and ecosystem integrity. As anywhere in the world, Russia and the surrounding region are facing environmental threats that need to be recognized and quantified before risk management actions can be taken. This symposium will provide an important contribution to answering the question how environmental impacts should be measured.

SETAC provides a forum where scientists, managers, and other professionals exchange information and ideas for the development and use of multidisciplinary scientific principles and practices. It is our hope that the results of the scientific discussions taking place at this symposium find their way to the decision-makers when it comes to shaping new policies in support of a sustainable environment. This vision is reflected in our slogan “*Environmental quality through science*®”.

A special welcome also to the participants of the student workshop. With this workshop organised parallel to the symposium you will have the unique possibility to sound out your ideas with leading environmental scientists. And vice versa... Remember; similar to how you can learn from them, they can learn from you. From your new and fresh ideas and your view on the world and on the science. Students have a special place in SETAC. Taking care of the environment is taking care of the future. And the future is you.

I wish you all an interesting, productive, and inspiring meeting.

Dr. Bart Bosveld  
Executive director SETAC Europe

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ

Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Кондакова Л.В.

Вятский государственный университет, г. Киров, Россия; ecolab@gmail.ru  
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

## Аннотация

Для оценки состояния природных и трансформированных экосистем разрабатываются и активно внедряются эффективные и приемлемые по исполнению в полевых и лабораторных условиях экспресс-методы биодиагностики. Поиск эффективных биоиндикаторов биологического мониторинга почв проводится по показателям: численность и биомасса, видовое разнообразие почвенных водорослей и цианобактерий; активность ферментов, групповой анализ альго-цианобактериальных комплексов, соотношение в популяциях микромицетов форм с окрашенным и бесцветным мицелием, позволяющих делать комплексную оценку состояния почвенной среды. Разработан метод биотестирования по дегидрогеназной активности цианобактерий тетразольно-топографическим методом, основанным на определении соотношения в популяции цианобактерий живых (с наличием формазана) и мёртвых (без формазана) клеток. Разрабатывается метод количественного учёта формазана в клетках цианобактерий с помощью спектрофотометрии. Аттестована методика биоиндикации состояния почвы по соотношению в популяции микромицетов форм с окрашенным (меланизированным) и бесцветным мицелием. Создана система комплексного биотестирования загрязнённых сред с использованием в качестве тест-организма различных штаммов цианобактерий по следующим показателям: интенсивность биофлуоресценции, перекисное окисление липидов, концентрация хлорофилла и феофитина, активность каталазы и дегидрогеназы, концентрация глутатиона.

**Ключевые слова:** методы биоиндикации, биотестирования, почвенные и водные экосистемы, трансформированные экосистемы, адаптационные реакции, биосорбционная способность, водоросли, цианобактерии, микромицеты, поллютанты

## Введение

Коллективом лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ для оценки состояния природных и трансформированных экосистем на территории Кировской области разрабатываются и активно используются методы биоиндикации и биотестирования. Объектами исследования являются почвенные, водные экосистемы и растительность на территории в районе Кирово-Чепецкого промышленного комплекса, полигона захоронения пестицидов, территории в районе хранения и уничтожения химического оружия, а также урбанизированные территории. Мониторинговые исследования проводятся с целью оценки экологического состояния данных территорий, выявления адаптационных реакций микроорганизмов, их биосорбционной способности к различным поллютантам.

Первое направление исследования связано с изучением роли и места водорослей, цианобактерий и микроскопических грибов в функционировании почвенных биоценозов природных и техногенно-преобразованных территорий. Изучен вклад фототрофных микроорганизмов в создание первичной продукции, их роль в пищевых цепях почвенных беспозвоночных, ход аутогенных и сезонных сукцессий. Изучен характер адаптивных реакций альгомикологических комплексов на воздействие поллютантов различной химической природы, что позволяет использовать данные груп-

пы микроорганизмов для биоиндикации биотестирования состояния почв. Детально изучены в качестве биоиндикаторов уникальные природные комплексы – биопленки с доминированием цианобактерий.

Второе направление связано с изучением роли цианобактерий, цианобактериальных биоплёнок и растительно-цианобактериальных комплексов в становлении суспрессивности почвы, обусловленной очисткой почвы от химического (тяжёлые металлы, пестициды, фосфорорганические соединения) и биологического (фитопатогены) загрязнения. Подобные биоремедиационные способности цианобактерий базируются на их сорбционных, деструкционных возможностях, а также способности вырабатывать и выделять в окружающую среду широкий спектр биологически активных веществ антагонистической направленности.

### **Материалы и методы**

Для оценки состояния антропогенно-нарушенных почв разрабатываются и активно используются методы биоиндикации по следующим организмам и параметрам их состояния:

1. Альгоиндикация, которая основана на выявлении и сравнении видового состава альгофлоры фоновых и загрязнённых территорий. Критерием степени нарушения почвенных ценозов является уровень снижения видового разнообразия водорослей и цианобактерий.

2. Групповой анализ фототрофных сообществ "цветения" почвы, основанный на выявлении группового состава водорослей и цианобактерий, формирующих плёнки "цветения". Критерием неблагополучия биологического состояния почвы является монофикация сообществ с выпадением отдельных групп фототрофных микроорганизмов.

3. Характеристика альго-микологических комплексов на основе определения количественных показателей (численность и биомасса клеток водорослей, длина мицелия и биомасса микромицетов) водорослей и микрогрибов. Критерием нарастающего биологического кризиса почвы является увеличение в структуре альго-грибной биомассы доли грибов.

4. Микологический анализ, основанный на оценке сравнительного вклада в структуру популяций грибов с окрашенным (меланинсодержащим) мицелием и бесцветным мицелием. Свидетельство надвигающегося кризиса – увеличение доли тёмноокрашенных микромицетов.

5. Сукцессионный анализ, который основан на изучении динамики развития наземных фототрофных микробных сообществ в моделируемых условиях. По характеру и уровню развития различных комплексов микроорганизмов позволяет оценить силу воздействия поллютантов при их различной концентрации.

6. Выявление специфических микробных комплексов. Индикация неблагополучного состояния почвы по развитию в ней комплексов организмов, усиливающих фактор химического прессинга.

7. Оценка состояния различных групп организмов непосредственно в реальной почвенной обстановке с использованием ГИС.

Используются методы биотестирования:

1. Методика определения перекисного окисления липидов в культурах цианобактерий по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом.

2. Определение содержания хлорофилла а и феофитина по монохроматической методике на спектрофотометре Specol-1100 при двух длинах волн - 750 и 665 нм.

3. Определение интенсивности биохемиллюминесценции почвенных цианобактерий в условиях загрязнения ТМ с помощью регистрации кинетической кривой спонтанной люминолнезависимой хемиллюминесценции.

4. Тетразольно-топографический метод определения жизнеспособности клеток цианобактерий по показателю образования в живых клетках кристаллов формазана красного цвета из бесцветного 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида.

5. Метод количественного определения формазана в культуре *Nostoc linckia* на приборе Spocol-1100 с предварительным разрушением клеточной стенки цианобактерий.

### Результаты

В ходе исследований выявлено, что длительное воздействие поллютантов на загрязнённых территориях приводит к стабилизации структурно-групповых особенностей альго-цианобактериальных группировок по таксономическому составу, что проявляется на уровне видовой обилия водорослей и цианобактерий, своеобразия экологической структуры, представленной жизненными формами, количественного обилия фототрофов и микромицетов. В наиболее загрязнённых почвах в альго-цианобактериальном комплексе происходит перераспределение таксонов в пользу *Cyanobacteria*. При интенсивном загрязнении почвы соединениями свинца, мышьяка, МФК, пиррофосфата натрия в микробных комплексах стремительно возрастает вклад микромицетов в сложение суммарной биомассы.

Анализ видовой состава альгофлоры свидетельствует о том, что наиболее устойчивыми видами, толерантными к любым загрязняющим веществам в изученных экосистемах, являются *Nostoc commune*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *N. punctiforme*, *Trichromus variabilis*, *Phormidium autumnale*, *Ph. uncinatum*, *Ph. boryanum*, *Leptolyngbya foveolarum*, *L. fragile*, *Microcoleus vaginatus* (Cyanophyta); *Chlamydomonas gloegama*, *Chlorell vulgaris*, *Bracteacoccus minor*, *Stichococcus chodatii* (Chlorophyta); *Hantzschia amphioxys*, *Luticola mutica* (Bacillariophyta). Данные виды могут служить биотехнологической основой создания микробных препаратов, предназначенных для биоремедиации загрязнённых территорий. Наряду с толерантными видами, в каждом педоценозе выявлены специфические виды. Максимальное представительство специфических видов из отдела *Cyanophyta* характерно для почв объекта хранения и уничтожения химического оружия и почв территории г. Кирова. Создание базы данных по специфическим видам служит основой определения пределов толерантности конкретных видов к конкретным поллютантам.

Реакция микрофототрофов на воздействие токсикантов в режиме "доза-эффект" в серии модельных лабораторных и полевых опытах показала, что при внесении в почву таких соединений, как хлорид мышьяка, МФК, пиррофосфат натрия, азид натрия происходит снижение доли эукариотных водорослей в структуре популяций микрофототрофов с одновременным возрастанием процентного содержания цианопрокариот. Данные результаты свидетельствуют о потенциальных возможностях цианобактерий в ремедиации загрязнённых почв.

Установлена экологическая роль природных биоплёнок с доминированием *Nostoc commune*. Выявлен видовой и групповой состав, количественные характеристики биоплёнок *N. commune*, взятых из различных техногенных экотопов. Основную структуру биоплёнок слагают водоросли и цианобактерии с общей численностью до 3 млрд. кл./г и численностью сапротрофных микроорганизмов свыше 5 млн КОЕ/г. Выявлен высокий уровень биосорбции ТМ из почвенной и водной сред биоплёнками *N. commune*, которые представляют собой длительно вегетирующие наземные многовидовые цианобактериальные сообщества, способные к самовосстановлению по-

сле механического разрушения, что свидетельствует об их высокой экологической пластичности в природе. Для оценки токсичности ТМ доказана возможность использования метода количественного определения формазана в клетках почвенных ЦБ *N. linckia*. Данные методики можно использовать для создания тест-системы на присутствие ионов меди и никеля.

Применение популяций ЦБ как биоремедиаторов, способных к детоксикации поллютантов, и биотесторов, высоко чувствительных к наличию загрязняющих веществ, определяется плотностью их популяций и степенью агрегированности клеток: в форме биоплёнок цианобактерии – организмы-деструкторы и сорбенты поллютантов; культуры диффузные с малым титром – идеальные организмы для биотестирования.

Разработанный тетразольно-топографический метод биотестирования среды с использованием различных штаммов ЦБ показал высокую чувствительность этих микроорганизмов к разнообразным поллютантам минерального и органического происхождения, их концентрации, возможность определять уровень загрязнения и степень токсичности по жизнеспособности клеток ЦБ.

Выявлены штаммы цианобактерий, используемые для подавления грибных инфекций декоративных, злаковых, бобовых, овощных культур, а также сеянцев и саженцев сосны и ели. Доказана в полевых условиях эффективность растительно-цианобактериального комплекса горчица белая + *Fischerella muscicola* в очистке почвы от ионов меди.

### Заключение

Комплексное изучение водорослей, цианобактерий и микроскопических грибов в почвах природных, агрогенных, урбанизированных и техногенно-преобразованных территорий позволяет уточнить роль данных организмов в создании плодородия почв, устойчивости почвенных ценозов к действию стрессовых факторов, проводить диагностику экологического состояния почвы по характеру ответных реакций отдельных организмов и их комплексов. С этой целью проводится разработка новых методов биоиндикации и биотестирования в оценке состояния почвенной среды с использованием альгомикологических и растительно-цианобактериальных комплексов. Природные свойства водорослей и микроскопических грибов к биосорбции и антагонистической активности позволяют выйти на путь их практического использования путём создания биопрепаратов способствующих очистке почв от различных видов загрязнения.

### Цитируемая литература

1. Биоиндикаторы и биотестсистемы в оценке окружающей среды техногенных территорий /под общ. ред. Т.Я. Ашихминой и Н.М. Алапыкиной. - Киров: О-Краткое, 2008. – 336 с.
2. Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока /под ре. Т.Я. Ашихминой, Л.И. Домрачевой. - Киров: Изд-во ВятГУ, 2012. – 282 с.
3. Домрачева Л.И., Горностаева Е.А. Реакция альго-цианобактериальных комплексов на возрастающие концентрации ионов меди в почве под различными сельско-хозяйственными культурами /Ж. Теоретическая и прикладная экология, 2016, № 1, С. 38-43.
4. Фокина А.И., Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Горностаева Е.А., Огородникова С.Ю. Тяжёлые металлы как фактор изменения метаболизма у микроорганизмов (обзор) / Ж. Теоретическая и прикладная экология, 2015, № 2. С. 5-18.
5. Ефремова В.А., Кондакова Л.В. Эколого-таксономическая структура альгогруппировок почв г. Кирова / Ж. Теоретическая и прикладная экология. 2013, № 2, С. 61-67.
6. Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Дабах Е.В., Елькина Т.С. Сравнительный анализ специфики почвенных альгомикологических комплексов в зоне действия объекта хранения и уничтожения химического оружия "Марадьковский". 2012, № 4, С. 73-78.

7. Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Березин Г.И. Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов (обзор) /Ж. Теоретическая и прикладная экология. 2012, № 3, С. 4-18.
8. Горностаева Е.С., Злобин С.С., Сунцова Е.С., Елькина Т.С., Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я. Микробиологический статус почв в зоне действия Кирово-Чепецкого химического комбината /Ж. Теоретическая и прикладная экология. 2012, № 3, С. 90-95.
9. Кондакова Л.В. Сравнительный анализ альгофлоры почв экологически опасных объектов на территории Кировской области /Ж. Теоретическая и прикладная экология. 2011, № 3, С. 52-58.
10. Домрачева Л.И. Использование организмов и биосистем в ремедиации территорий /Ж. Теоретическая и прикладная экология. 2009, № 4. С. 4-16.
11. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах. 2008, № 2, С. 23-28.

## **BIOLOGICAL METHODS OF ANALYSIS IN THE ASSESSMENT OF NATURAL AND TRANSFORMED ECOSYSTEMS.**

Ashikhmina T.Ya., Domracheva L.I., Kondakova L.V.

To assess the status of natural and transformed ecosystems a wide range of rapid biodiagnostic methods effective and suitable for the implementation in the field and laboratory conditions is developed and actively implemented. The search for effective bioindicators of biological soil monitoring is carried out on indicators of: abundance and biomass, species diversity of soil algae and cyanobacteria; enzyme activity, group analysis of alga-cyanobacterial complexes, the ratio of forms with colored and colorless mycelium in populations of microfungi, allowing to make a comprehensive assessment of the condition of soil environment. It is developed a bioassay method for evaluation of dehydrogenase activity of cyanobacteria based on the determination of the ratio in the population of living cyanobacteria cells (with the presence of formazan) and the dead ones (without formazan) with use of tetrazolium chloride. The method of quantitative accounting of formazan in cells of cyanobacteria using spectrophotometry is in progress. Method of bioindication of soil condition on ratio of forms with colored (melanized) and colorless mycelium in the population of microfungi is already certified. It is created a system of integrated bioassay of contaminated environment using as test organisms of different strains of cyanobacteria on the following parameters: the intensity of bio-chemiluminescence, lipid peroxidation, chlorophyll and pheophytin concentration, the activity of catalase and dehydrogenase, glutathione concentration.

## **ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА В ЗОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА СЕРНОЙ КИСЛОТЫ КОНТАКТНЫМИ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

**Бардина Т.В., Чугунова М.В., Бардина В.И.**

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН,  
Санкт-Петербург, Россия; bardinatv@mail.ru

### **Аннотация**

Рассмотрена возможность применения контактных методов биотестирования для определения токсичности почв промышленной зоны, расположенной вокруг отвала отходов производства серной кислоты (пиритного огарка) без инженерных средств защиты. Оценку токсичности почв проводили в лабораторных условиях с помощью аттестован-



ной методики биотестирования с использованием в качестве тест - организма семян пшеницы, а также микробного и ферментативного биотестов. Проведенные исследования показали высокую чувствительность и эффективность примененных контактных методов биотестирования при выявлении уровня токсичности почв вблизи зон длительного хранения промышленных отходов.

**Ключевые слова:** токсичность, биотестирование, тест-организмы, протеазная активность, микроорганизмы, контактный метод

### **Введение**

Отвалы с длительным хранением промышленных отходов являются источником повышенной экологической опасности. Они оказывают существенное влияние на все компоненты окружающей природной среды в результате накопления в своей толще больших количеств токсичных веществ, образующихся в ходе биохимического разложения отходов. Особенно подвержена этому загрязнению почва, которая аккумулирует загрязняющие вещества, а потом распределяет их по другим компонентам среды. В Ленинградской области такие отвалы в большинстве случаев эксплуатируются без средств инженерной защиты и иногда расположены в водоохраных зонах.

Для решения вопроса дальнейшего использования территории вблизи объектов прошлого экологического ущерба по видам разрешенного землепользования необходима оценка загрязнения почвенного покрова. Провести ее только на основе результатов химического анализа практически невозможно, так как химико-аналитический контроль не может выявить реальную токсичность загрязненных почв, а лишь показывает наличие концентрации загрязнителей, которые сравниваются с существующими санитарно-гигиеническими нормативами (ПДК и ОДК). Эту проблему можно решить, если в систему экологического контроля ввести методы биотестирования, позволяющие получить интегральную экотоксиколо-гическую оценку почв зоны влияния промышленных объектов [1].

По мнению исследователей для адекватной оценки токсичности почв с помощью биотестирования не достаточно тестировать только водную вытяжку (элюатное биотестирование), а необходимо применять и субстратное, иначе контактное, биотестирование [2; 3]. Этот способ обеспечивает непосредственный контакт тест-организма с исследуемым образцом и, таким образом, позволяет установить уровень воздействия твердых загрязнителей.

В связи с этим целью наших исследований было установление уровня токсичности почв, находящихся в зоне длительного влияния отвала, образующегося при промышленном производстве серной кислоты, с помощью методов контактного биотестирования.

### **Материалы и методы**

Исследования проводились в Ленинградской области на территории вокруг отвала, сложенного токсичными отходами производства серной кислоты: огарки серного колчедана, промышленный шлак, вторичные метаболиты. Складирование прекращено в 1978 году. Отвал высотой 8 м сложен слабо уплотненным техногенным грунтом. Отходы в отвале имеют сложный компонентный состав с преобладанием железа и набора металлов, характерных для сульфидных железных руд [4].

Объектами исследования служили почвы, прилегающие к отвалу. Пробы почв были отобраны с 6-ти мониторинговых площадок. Отбор проб почв для экотоксикологической оценки осуществлялся в соответствии с государственными стандартами (ГОСТ 17.4.4.02-84) из горизонтов 0-5 и 5-20 см.

Методы исследования почв включали определение физико-химических показателей, а также определение валовых форм тяжелых металлов методом масс-спектрометрии и содержания органических токсикантов методом газовой хроматографии.

Работы по биотестированию выполнялись в лабораторных условиях. Уровень токсичности почв определяли тремя контактными методами с использованием в качестве тест-культур высших растений, природного комплекса микроорганизмов, содержащегося непосредственно в почвенной пробе, а также почвенных ферментов – протеаз.

Фитоксичность почв определялась по методике, разработанной нами в НИЦЭБ РАН, включенной в Федеральный Реестр [5]. Тест-организмом служили семена пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*). Степень токсичности устанавливали на основании определения изменения всхожести семян ( $N_1$ ) и роста корней ( $N_2$ ) по сравнению с контрольной пробой.

Микроорганизмы являются чуткими индикаторами биологического состояния почв и могут служить оптимальными тест-культурами для контактного биотестирования [2, 3]. Уровень токсичности исследованных почв с помощью микроорганизмов определяли на основе статистически значимых изменений интенсивности их почвенного дыхания (ПД) по сравнению с контрольным субстратом ( $N_3$ ). Интенсивность почвенного дыхания загрязненных и контрольных проб устанавливали по количеству выделившегося  $CO_2$  адсорбционным способом [6]. В лабораторных условиях был также проведен ферментативный биотест по сравнительному изучению активности протеаз исследованных и контрольных почв ( $N_4$ ). Уровень протеазной активности фиксировали по расщеплению желатинового слоя фотопленки [7]. Результаты данного аппликационного метода проходили компьютерную обработку.

При проведении контактного биотестирования большое значение имеет выбор контроля. Согласно методикам контрольная проба должна не подвергаться техногенному воздействию и по физико-химическим и физическим свойствам являться природным аналогом испытуемых почв. С учетом этого при биотестировании изучаемых почв в качестве контроля была использована чистая незагрязненная почва, отобранная вне зоны воздействия отвала.

## Результаты

### Результаты химического анализа

В результате проведения химического анализа было установлено, что исследованные почвы вокруг отвала загрязнены тяжелыми металлами (ТМ) 1,2,3 классов опасности. Содержание металлов в почвах в среднем составляло: свинца - 2,6 ПДК, цинка - 3,9 ОДК, меди - 2,6 ОДК, а также мышьяка - 26,3 ПДК. Коэффициент суммарного загрязнения ( $Z_c$ ) почв ТМ и мышьяком составил 29,9 ед., что позволяло отнести их к категории «умеренно опасных» согласно СанПиНу 2.1.7.1287-03. Содержание таких органических загрязнителей, как 3,4 бенз(а)пирен, нефтепродукты, полихлорированные бифенилы, в почвах не превышало принятые нормативы. Исследованные почвы обладали кислой реакцией (рН 2,5-4,9), обусловленной окислением серы в составе отходов (табл. 1).

## Результаты контактного биотестирования

Таблица 1. Значения кислотности и фитотоксичности почв

№ площадки, глубина, см	pH водный	Всхожесть N <sub>1</sub> , %	Длина корня N <sub>2</sub> , %	Степень токсичности почвы
1,0-5	2,45	-62,9	-90,4	II
1,5-20	2,55	-99,4	-97,5	II
2,0-5	3,25	-65,7	-88,3	II
2,5-20	3,07	-22,9	-84,8	II
3,0-5	2,70	-52,5	-77,7	II
3,5-20	2,80	-55,0	-78,7	II
4,0-5	4,80	-14,3	-44,2	IV
4,5-20	4,92	-8,6	-47,9	IV
5,0-5	2,95	-17,5	-87,8	II
5,5-20	3,07	-32,5	-88,3	II
6,0-20	2,90	-81,7	-58,4	III

Примечание: n=3, P= 0,95, N, % -степень изменения тест-функции по сравнению с контролем; II- опасно токсичные, III- умеренно токсичная, IV- малотоксичная, V-практически не токсичная почва.

По результатам контактного фитотестирования опасная степень токсичности (II), была выявлена на большинстве мониторинговых площадок (табл.1). Исключение составила площадка №4, где зафиксирована слабая степень фитотоксичности (IV), что обусловлено, по всей вероятности, меньшей, чем в остальных пробах, кислотностью.

В результате проведения ферментативного биотеста было выявлено, что активность протеаз, участвующих в процессах превращения азотсодержащих органических веществ и обеспечивающих появление в почве доступных для растений форм азота, значительно подавлена и составляет 2,5-4,0% от контроля (табл. 2). Это может быть связано с кислой реакцией почвенной среды, вызванной ее загрязнением токсикантами.

Как показывают данные, приведенные в таблице 2, дыхательная активность микроорганизмов всех исследованных почв, находящихся в зоне влияния промышленных отходов была значительно ниже, чем в контроле. Ее снижение в зависимости от выбранной площадки и глубины взятия образца варьировала в пределах 29,3-62,9%. Известно, что критический порог устойчивости почвенных систем составляет потерю не более 30% биоорганического потенциала от фонового или контрольного уровня [8]. Таким образом, Результаты свидетельствуют о значительной деградации микробоценозов исследованных почв, что в свою очередь указывает на низкую устойчивость изученных почвенных систем в целом к токсическому воздействию загрязняющих веществ, содержащихся в промышленных отходах.

### Заключение

Результаты выполненных токсикологических исследований с помощью предложенных контактных методов биотестирования показали высокую чувствительность примененных биотест-систем к присутствию токсикантов в почвенном покрове промышленной зоны.

Таблица 2. Результаты контактных микробных биотестов

№ площадки, глубина, см.	Микробные биотесты	
	Почвенное дыхание N <sub>3</sub> , %	Протеазная активность N <sub>4</sub> , %
1, 0-5	-62,1	3,0
1, 5-20	-59,8	2,8
2, 0-5	-62,9	3,0
2, 5-20	-56,7	2,5
3, 0-5	-46,1	2,8
3, 5-20	-58,7	2,8
4, 0-5	-62,5	3,2
4, 5-20	-37,4	4,0
5, 0-5	-37,9	3,8
5, 5-20	-29,3	4,0
6, 0-20	-40,8	3,2

Примечание: n=4, P= 0,95, N, % -степень изменения тест-функции по сравнению с контролем.

Токсикологический анализ почв, проведенный с помощью авторской методики фитотестирования [5] на семенах пшеницы, выявил наличие опасной степени токсичности почв на мониторинговых площадках в зоне длительного хранения отхода производства серной кислоты.

Применения контактных микробных тестов выявило высокую степень токсичности загрязненных почв для содержащихся в них микробсообществ, что свидетельствует о низкой устойчивости изученных почвенных систем к ингибирующему воздействию токсичных веществ, содержащихся в пиритных огарках.

### Цитируемая литература

1. Бардина Т.В., Кулибаба В.В., Чугунова М.В., Бардина В.И. Диагностика экотоксичности почв промышленных объектов прошлого экологического ущерба с помощью биотест-систем // Проблемы региональной экологии. 2016. №2. С. 20 - 25.
2. Селивановская С.Ю., Галицкая П.Ю. Оценка токсичности почв с использованием контактного метода биотестирования // Токсикологический вестник. 2006. №4. С. 12-15.
3. Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы //Почвоведение. 2011. №2. С. 190-198.
4. Сараев А.К., Симаков А.Е., Питулько В.М., Кулибаба В.В., Токарев И.В., Тезкан Б. Инвентаризация и оценка погребенных объектов прошлого экологического ущерба в почвах и грунтовых водах с использованием новой технологии радиоманнителлурических зондирований // Региональная экология. 2015. №1 (36). С. 7-21.
5. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв. ФР.1.39.2006.02264. СПб. 2009. 19с.
6. Головки Э.А. О методах изучения биологической активности торфяных почв. Мат. научн. конф. по методам микробиологических и биохимических исследований почв. Киев, 28-31 окт., 1971. Киев. 1971. С.68-76.
7. Мишустин Е.Н., Востров И.С. Аппликационные методы в почвенной микробиологии // Микробиологические и биохимические исследования почв. Киев. 1971. 110с.
8. Яковлев А.С., Евдокимова М.В. Экологическое нормирование почв и управление их качеством // Почвоведение. 2011. №5. С. 582-596.

# THE STUDY OF THE SOIL TOXICITY IN THE AREA OF LONG-TERM IMPACT OF SULFURIC ACID PRODUCTION WASTE BY THE CONTACT BIOASSAY METHODS

**Bardina T.V, Chugunova M.V., Bardina V.I., Kapelkina L.P.**

St.-Petersburg Scientific Research Center for Ecological Safety RAS

The possibility of using of the contact bioassay methods to determine the toxicity of the industrial zone soils, located around the blade of the sulfuric acid production waste (roasted pyrite) without environmental engineering is discussed. The assessment of soil toxicity was carried out in the laboratory by a certified bioassay method using the wheat seeds as a test - organism, plus by microbial and enzymatic biotests.

Studies have shown the high sensitivity and efficiency of bioassay contact methods in detecting the soil toxicity level near the zones of long-term industrial waste storage.

**Keywords:** soils, industrial wastes, toxicity, contact bioassay methods, test –organisms, phytotesting, proteasic activity, microorganisms

## БИОИНДИКАТОРЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДОЕМОВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

**Бахвалова Е.В.<sup>1</sup>, Донских В.А.<sup>1</sup>, Горская В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>АО "Научные приборы", Санкт-Петербург, Россия; bakhvalova@sinstr.ru

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

### Аннотация

На сегодняшний день существенно возрастает уровень антропогенных воздействий на водные объекты. Благодаря способности аккумулировать различные химические элементы водными растениями становится возможным использование метода биоиндикации для решения задач экологического мониторинга водоемов. Нами были исследованы различные группы макрофитов водоемов Ленинградской области и показано, что содержание микроэлементов в биомассе зависит от экоморфологических особенностей видов. Показано, что степень загрязнённости исследуемых водоемов низкая.

**Ключевые слова:** биоиндикаторы, рентгенофлуоресцентный анализ, экология, элементный состав

### Введение

Водные объекты, как естественного происхождения, так и искусственно созданные, являются важной составляющей современного урболандшафта. Они в той или иной степени могут испытывать негативное воздействие человеческой деятельности. Для контроля над состоянием водоемов целесообразно предложить в качестве индикатора макрофиты и их сообщества. Макрофитная растительность является одной из самых перспективных групп для фитомониторинга (оценки состояния природной среды по ботаническим признакам). Поглощение макрофитами различных химических элементов, в том числе и металлов, способствует очищению природных вод, так как в отличие от микрофитов в макрофитах химические элементы закрепляются надолго. Кроме того, макрофиты образуют биоценозы с участием животных фильтраторов, которые способны переводить многие загрязнения в неактивную форму. Макрофиты препятствуют чрезмерному развитию микрофитов, вызывающих цветение воды, что влечет за собой ухудшение ее качества.

Трудность использования водных растений для индикации загрязнения определяется сложной зависимостью их состава от условий среды (вода, взвесь, донные

осадки), компоненты которой влияют на растения разных экологических групп по-разному. Кроме того, сложность использования макрофитов для биоиндикации связана еще и с тем, что их химический состав в значительной мере определяется биогеохимической специализацией, а также с большими отличиями в уровнях накопления тяжелых металлов растениями разных видов в связи со специализацией и наличием или отсутствием пределов поглощения микроэлементов (барьерностью и безбарьерностью видов).

Микроэлементный состав биоиндикаторов позволяет оценить биогеохимический фон и, кроме того, наиболее адекватно отражает текущее состояние водоема и динамику загрязнения во времени и пространстве.

### **Материалы и методы**

Нами было исследовано содержание элементов в золе водных растений озера Суури Ленинградской области, залива Лахта Нижне-Свицкого государственного заповедника и Северного пруда Елагина острова Санкт-Петербурга. Исследования проводились на водоемах в период максимального развития растительности (июль – начало августа). В качестве индикаторов загрязнений исследованных водоемов выбраны *Carex acuta*, *Phragmites australis*, *Scirpus sylvaticus*, *Nuphar lutea*, *Sparganium emersum*, *Potamogeton natans*, так как эти растения в течение длительного времени широко распространены на исследуемой территории. Классификацию растений проводили согласно Вейсбергу [1].

Количественное определение элементов в золе проводили методом рентгенофлуоресцентного анализа. Метод основан на зависимости интенсивности характеристических линий рентгеновской флуоресценции химических элементов от их массовой доли в пробе. Анализируемую пробу облучают первичным рентгеновским пучком, возбуждая в ней флуоресцентное (вторичное) излучение, в том числе излучение характеристических линий определяемых элементов. Регистрирующим устройством служит полупроводниковый энергодисперсионный детектор.

Измерения проводили на спектрометре «РЕАН» (АО «Научные приборы») и анализаторе «ПАНДА» (АО «Научные приборы»).

Универсальный рентгенофлуоресцентный энергодисперсионный анализатор «РЕАН» позволяет одновременно определять все элементы в диапазоне от  $C^6$  до  $U^{92}$ . Измерения легких элементов проводятся в атмосфере гелия или вакуума. Время анализа от 5 секунд. Диапазон определяемых концентраций от первых ppm и до 100%. В «РЕАН» применена специальная геометрия рентгенооптической схемы для минимизации фоновой составляющей (как рассеянного первичного излучения, так и элементов конструкции камеры). Пределы обнаружения большинства элементов составляет  $10^{-2} - 10^{-5}$  % (масс.). Спектрометр «РЕАН» позволяет анализировать образцы в твердом, порошкообразном, жидком состоянии, а также нанесенные на поверхность или осажденные на фильтры. В спектрометре «РЕАН» установлен автоматический пробоподатчик, который позволяет в автоматическом режиме анализировать до 144 образцов.

Компактный рентгенофлуоресцентный анализатор «Панда» позволяет одновременно определять все элементы в диапазоне от  $Al^{13}$  до  $U^{92}$ . Отличительной характеристикой «Панда» является возможность его использования в учебном процессе и для проведения проектных и исследовательских работ. Эргономика прибора обеспечивает простоту работы с ним и надежную защиту от механических повреждений. Безопасность его эксплуатации обеспечивается высокой степенью радиологической

защиты, что подтверждено соответствующим экспертным заключением. На корпусе прибора располагаются только кнопки включения/выключения прибора, а все управление осуществляется с помощью компьютера.

Для расчета концентраций использовали безэталоный метод фундаментальных параметров, реализуемый программным обеспечением спектрометра и анализатора. Данный метод не требует каких-либо дополнительных измерений, в частности, измерений спектров стандартных образцов.

### Результаты

В результате проведенного исследования показано, что накопление химических элементов в макрофитах различается для гигрофитов, гелофитов и гидрофитов. В результате проведенного анализа выявлена тенденция, что концентрации химических элементов меняются от мелководных прибрежных частей водоемов, где произрастают гелофиты (гигрофиты), близкие по эколого-морфологическим особенностям к наземным растениям (тростник, осока), до глубинных зон, с условиями местообитания и особенностями строения растений, схожими с морскими. Например, миграция кальция особенно разнообразна – это главный элемент живого вещества. Кальциевая геохимическая функция растений и животных исключительно велика [2]. В гидрофитах с плавающими листьями, таких как кубышка и рдест его больше, чем в гелофитах и гигрофитах оз. Суури. Результаты подтвердили ранее отмеченные закономерности, что химические элементы в большей степени накапливаются в погруженных макрофитах и в меньшей степени в гидрофитах с плавающими листьями и гигрофитах [3]. Однако калия в гидрофитах меньше, вероятно в результате его слабой миграции из-за сорбции глинами и активного потребления живыми организмами. Различие в степени накопления у растений одной группы может быть объяснено их морфологическим строением: чем оно более тонкое и хрупкое, тем больше его способность поглощать химические элементы из водной среды. Железо – один из наиболее важных элементов, который участвует в образовании хлорофилла при фотосинтезе, поэтому его содержание больше, чем других микроэлементов. Следует отметить, что валовое содержание микроэлементов в *Potamogeton natans* существенно выше не только по сравнению с такими гигрофитами и гелофитами как *Phragmites australis*, *Scirpus sylvaticus*, *Carex acuta*, но и *Nuphar lutea*. Возможно причина в том, что рдест является разнолистным гидрофитом и имеет длинные ползучие корневища и плавающие надводные и подводные листья. По достоверным показателям нескольких авторов эти растения отличаются более высокими концентрациями химических элементов по сравнению с кувшинковыми [3].

Таким образом, содержание элементов в растениях зависит от особенностей миграции микроэлементов в биосфере, а также с необходимостью элементов для жизнедеятельности растения, обусловленного его строением и особенностями обитания.

Для выявления особенностей накопления химических элементов растениями разного систематического положения нами были рассчитаны коэффициенты биологического накопления к кларку в литосфере ( $K_{бн1}$  – отношение содержания химического элемента в золе растения к его содержанию в почве или горной породе), для каждого отдельно взятого макрофита и для каждого химического элемента, соответственно [4]. При расчетах использованы данные по Д.М. Малого [5]. Коэффициенты титана и железа менее единицы. Титан является техногенным загрязнителем, и его отсутствие свидетельствует об относительном благополучии водоемов. Поступление железа в растение идет по барьерному типу, поэтому даже значительная концентрация его в почве не приводит к повышенному накоплению этого элемента в макрофитах [6].



Коэффициент биологического накопления (Кбн1) выявил общие закономерности видовой специфики аккумуляции химических элементов макрофитами: в изученных водоемах накапливались такие элементы как Mn, Ni, Cu, Zn, Sr.

Коэффициенты биологического накопления для элементов залива Лахта значительно выше, чем для аналогичных элементов в других водоемах. Коэффициенты биологического накопления к почве близки для всех озер. Следовательно, можно сделать вывод о высоком накоплении химических элементов в регионе залива Лахта.

Способность высших водных растений накапливать вещества в концентрациях, превышающих фоновые значения, позволила использовать их в системе мониторинга и контроля за состоянием окружающей среды. Для объективной оценки загрязнения водоемов использовали коэффициенты концентрации – отношение содержания элемента в исследуемом объекте к его фоновому содержанию в соответствующих компонентах окружающей среды [4].

В *Carex acuta* накапливаются все микроэлементы, особенно рубидий и титан, которые в два-три раза превышают фоновые концентрации. Остальные элементы либо соответствуют фоновым, либо меньше. *Scirpus sylvaticus* накапливает только цинк, который в три раза превышает концентрации фоновых местообитаний. Коэффициент суммарного загрязнения составил 6,4 для *Carex acuta*; 4,9 для *Scirpus sylvaticus* и 3,1 для *Phragmites australis*, что свидетельствует о слабой степени загрязнения водоема.

### Заключение

При оценке экологического состояния водных объектов было выявлено, что из трех изученных водоемов Северный пруд Елагина острова испытывает наибольшее антропогенное воздействие, которое удалось выявить с помощью метода биогеохимической индикации. Однако степень загрязнения низкая. На заливе Лахта прослеживается аккумуляция химических элементов, которая обусловлена региональными особенностями биогенной миграции элементов на данной территории. Озеро Суури соответствует в среднем эталонным параметрам.

Полученная характеристика изученных водоемов может служить отправной точкой для проведения экологического мониторинга, а также планировать мероприятия по их охране. Это особенно важно в связи с тем, что водная растительность водоемов Ленинградской области многообразна и в настоящее время привлекает внимание ввиду разработки проектов сохранения и восстановления биологического разнообразия достаточно обширной в географическом плане территории.

### Цитируемая литература

1. Вейсберг Е.И. Жизненные формы и экологические группы макрофитов предгорных озер южного урала (Челябинская область)// Изв. Челябинского научного центра: 2004, Т. 24, №3. С 111-116.
2. Перельман А.И., Касимов Н.С. Геохимия ландшафта: Учебное пособие. Издание 3-е, переработанное и дополненное М.: Астрель – 2000, 1999. – 768 с.
3. Лычагина Н.Ю., Касимов Н.С., Лычагин М.Ю. Биогеохимия макрофитов дельты Волги. М.: Географический ф-т МГУ, 1998. 84 с. Выпуск 4 Москва 1998
4. Терехина Н.В. Методические указания к проведению фитогеохимических исследований: учебно-методическое пособие. – СПб, 2010. – 25с.
5. Малюга Д.П. Биогеохимический метод поисков рудных месторождений. М. 1963
6. Уфимцева М.Д., Терехина Н.В. Фитоиндикация экологического состояния урбогеосистем Санкт-Петербурга. – СПб.: Наука, 2005. – 339с.

# BIOINDICATORS FOR LENINGRAD REGION WATERBODIES ECOLOGICAL MONITORING

Bakhvalova E.V., Donskikh V.A., Gorskaya V.A.

JSC "Scientific Instrumets", Saint-Peterburg, Russia

Saint Petersburg State University, Institute of Earth Sciences, Saint-Petersburg, Russia

To date, the level of anthropogenic impacts on waterbodies significantly increased. With the ability of the water plants to accumulate the various elements, bioindication method is possible to use for solving environmental monitoring of waterbodies. Different groups of macrophyte of the Leningrad Region waterbodies were investigated. The content of microelements in their biomass depends of the ecomorphologically features species. The contamination degree of the studied waterbodies is low.

## БИОИНДИКАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ФИТОПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВ

**Бобырев П.А.**

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова; pbobyrev11@gmail.com

### Аннотация

В данной работе дается краткое описание метода ЛЭН, рассчитываемых методом величин и результаты апробации метода на данных по фитопланктону Рыбинского водохранилища за 2011 год. На основании полученных результатов проведена сравнительная оценка биоиндикационного потенциала различных индикаторов.

**Ключевые слова:** биоиндикация, метод ЛЭН, быстрая флуоресценция, водные экосистемы

### Введение

В отличие от лабораторных данных, полученных на монокультуре растительных организмов, натурные данные получены в условиях сложного видового состава и совокупного действия множества физико-химических факторов. Из-за этого зависимости значений характеристик фитопланктона от значений фактора имеют нефункциональный и «размытый» вид. Такой вид данных накладывает некоторые требования к методам исследования зависимостей характеристик фитопланктона, используемых в качестве биоиндикатора, от действия факторов.

Одним из таких методов является метод локальных экологических норм (метод ЛЭН). Метод ЛЭН [1, 2] позволяет:

- выявить существенные для экологического неблагополучия факторы среды,
- ранжировать их по вкладу в частоту случаев неблагополучия,
- рассчитать величины границ классов качества для индикаторов и факторов, т.н. границ нормы индикаторов (ГНИ) и границ нормы факторов (ГНФ),
- оценить достаточность программ наблюдения за потенциально опасными факторами среды,
- сопоставить индикационный потенциал различных биологических показателей.

ГНФ отделяет рассчитанные «недопустимые» значения фактора от «допустимых», а ГНИ – «благополучные» значения индикатора от «неблагополучных». Таким образом, оценку воздействия факторов на индикаторы можно проводить как по ГНФ, что соответствует предельно допустимым концентрациям (ПДК), полученным для

натурных данных, так и по ГНИ, основываясь на состоянии непосредственно индикаторных организмов.

Сравнение индикаторов может быть произведено по т.н. биоиндикационному потенциалу, под которым мы понимаем совокупность характеристик биологического показателя, обеспечивающую его эффективность в качестве индикатора состояния экосистемы, а именно высокое количество существенных факторов среды, т.е. тех, для которых показатель является индикатором; большую среднюю по всем существенным для индикатора факторам силу связи между индикатором и факторами; значительную долю случаев неблагоприятных состояний экосистемы, за которые ответственны существенные для индикатора факторы.

### **Материалы и методы**

Данные были получены в июне-октябре 2010 года и в мае-сентябре 2011 года в рейсах по Рыбинскому водохранилищу.

Первичными измеряемыми характеристиками послужили:

- Солевой состав вод ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , сумма ионов).
- Содержание биогенных элементов (нитриты, нитраты, аммоний, общий азот, фосфаты, общий фосфор).
- Содержание органических веществ (органический углерод во взвеси).
- Физические характеристики (температура, электропроводность, цветность).
- БПК<sub>5</sub>, ХПК (биологическое потребление кислорода за пять суток и химическое потребление кислорода соответственно).
- Кислотность и щелочность.
- Содержание нефтепродуктов.
- Численность, объем и биомасса видов и отделов фитопланктона.
- Фоновый и максимальный уровни флуоресценции.
- Характеристики кривых индукции фотосинтеза (только 2011 год).

Во всех пробах определяли переменную флуоресценцию растворенного органического вещества (РОВ) и фитопланктона. Были измерены и рассчитаны следующие показатели:  $F_0$  – фоновый уровень флуоресценции в пробе,  $F_m$  – максимальный уровень флуоресценции в пробе,  $F_{\text{РОВ}}$  – уровень флуоресценции РОВ;  $F_0 \text{ фито} = F_0 - F_{\text{РОВ}}$  – фоновый уровень флуоресценции фитопланктона,  $F_m \text{ фито} = F_m - F_{\text{РОВ}}$  – максимальный уровень флуоресценции фитопланктона.

В 2011 году также снимали кривые индукции флуоресценции.

В качестве индикаторов состояния фитопланктона также были использованы следующие величины:

-Средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой с подсветкой и без.

В качестве биоиндикационных показателей рассматривали общую численность ( $N_{\text{общ}}$ ) и биомассу ( $B_{\text{общ}}$ ) водорослей в пробе, численность и биомассу отделов Cyanophyta, Bacillariophyta, Chlorophyta, Cryptophyta, Dinophyta, Chrysophyta, Euglenophyta, Xanthophyta ( $N_{\text{Cyan}}$  и т.д.;  $B_{\text{Cyan}}$  и т.д.), индекс Симпсона для всей пробы и отделов водорослей (индекс Симпсона и индекс Симпсона'), показатели переменной флуоресценции.

*Метод локальных экологических норм и основные рассчитываемые величины*

Метод основан на компьютерном анализе взаимного распределения биологических и физико-химических характеристик, а именно на поиске таких ГНФ и ГНИ,

чтобы благополучные значения индикатора соответствовали допустимым значениям фактора, а недопустимые значения фактора – неблагоприятным значениям индикатора. Для случая наличия как верхних, так и нижних границ нормы фактора, положение границ проиллюстрировано на рис. 1.

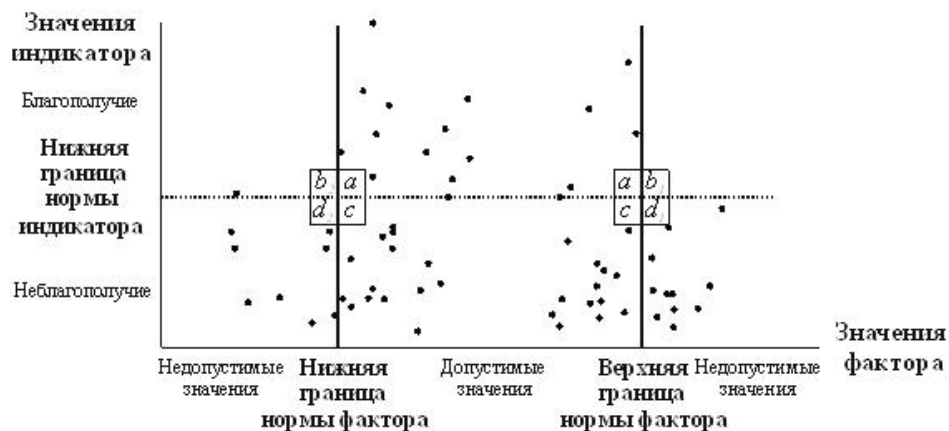


Рисунок 1. Классы значений индикаторы и фактора при одновременном воздействии нескольких факторов среды. Области «a», «b», «c», «d» обозначают качественные классы на диаграмме: «a» – благополучие индикатора при допустимых значениях фактора, «b<sub>1</sub>», «b<sub>2</sub>» – благополучие индикатора при недопустимых значениях фактора (слишком высоких и слишком низких соответственно), «c» – неблагоприятие индикатора при допустимых значениях фактора, «d<sub>1</sub>», «d<sub>2</sub>» – неблагоприятие индикатора при недопустимых значениях фактора (слишком высоких и слишком низких соответственно).

Алгоритм метода ЛЭН состоит в переборе различных положений ГНИ и ГНФ на диаграммах сопряженности между индикатором и фактором и выборе таких границ, при которых выполнены условия «пустоты» области «b», достаточного количества всех наблюдений и наблюдений в областях «a» и «d».

Для каждого фактора возможно рассчитать полноту его вклада в степень «неблагополучия» значений индикаторной характеристики как долю наблюдений «недопустимых» по фактору и «неблагополучных» по индикатору среди всех «неблагополучных» значений по индикатору (при любых значениях всех факторов).

Для каждого индикатора возможно рассчитать показатель достаточности программы наблюдений за факторами, которые потенциально могли бы привести к экологическому неблагоприятию. Чем выше величина достаточности программы наблюдений, тем выше доля факторов, включенных в программу наблюдений, среди причин экологического неблагоприятия индикатора. Низкая величина достаточности свидетельствует о высоком неблагоприятном влиянии на значения индикатора факторов, отсутствующих в программе наблюдений.

## Результаты

После первичной обработки, включающей в себя проверку на нормальность распределений и удаление выпадающих значений, удаление функциональных зависимостей между значениями индикатора и фактора, редукцию числа переменных методом корреляционного анализа, проверку однородности данных за разные временные промежутки по отношению к климатическим характеристикам и выявление

влияния погрешностей отбора и обработки проб, данные были проанализированы при помощи метода ЛЭН. Для установления принадлежности значений индикаторов к группам, однородным по отношению к климатическим характеристикам, была проведена проверка гипотезы о принадлежности данных к единой выборке за два года при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. По результатам применения критерия были выделены три группы, впоследствии анализируемые раздельно: данные за 2010 год, данные за 2011 год и данные за 2010 и 2011 годы совместно для индикаторов и факторов, принадлежащих к единой генеральной совокупности за два года. Соответственно, результаты расчетов, такие как границы классов качества, определенные существенные для индикаторов факторы, полноты и проч. также скомпонованы в три группы. Для примера рассмотрим результаты для группы 2011 года.

Расчеты проводили в Программе по установлению границ качественных классов [3], реализующей алгоритмы метода ЛЭН.

Найденные для каждого из индикаторов существенные факторы, границы нормы, полноты факторов, доверительная вероятность результата для 2011 года приведены в таблице 1 для разных временных групп. Факторы ранжированы по полноте, т.е. упорядочены в порядке убывания их вклада в общее неблагоприятие исследуемой экосистемы.

*Таблица 1.* Границы классов качества по биоиндикаторам и физико-химическим факторам, существенным для неблагоприятия этих биоиндикаторов, рассчитанные по данным 2011 года. Единицы измерения границ нормы факторов и индикаторов следующие: температура – градусы Цельсия; электропроводность – мкСм/см; щелочность – мг/л;  $C_{орг}$  – мг С/л во взвеси; цветность – градусы по С-Со шкале; БПК<sub>5</sub>, ХПК – мг О<sub>2</sub>/л; нефтепродукты – мг/л;  $NH^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $N_{общ}$  – мг N/л;  $PO_4^{3-}$ ,  $P_{общ}$  – мг P/л;  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HCO_3^-$ , сумма ионов – мг/л, содержание хлорофилла «а», «b», «с», чистого хлорофилла «а», феопигментов – мкг/л, численность – количество клеток\*1000/л, индекс сапробности – баллы, биомасса – мг/л, ассимиляция углекислоты, скорость фотосинтеза в поверхностном слое воды – мкг С/л сутки, интенсивность флуоресценции – относительные единицы. Пустые ячейки означают отсутствие найденной верхней или нижней ГНФ.

Индикатор	Нижняя ГНИ (в скобках – верхняя)	Фактор	Нижняя ГНФ	Верхняя ГНФ	Полнота фактора	Доверительная вероятность результата
$B_{Васил} / B_{общ}$	0.11	ХПК		40	0.32	0.975
		Цветность		65	0.32	0.995
		$Ca^{2+}$		32.1	0.27	0.995
		$C_{орг}$		0.9	0.27	0.975
		Электропроводность		186.7	0.27	0.995
		Сумма ионов		183	0.24	0.995
		$HCO_3^-$		126	0.22	0.995
		$Na^+$		2.99	0.22	0.995
		БПК <sub>5</sub>	1.65		0.19	0.995
$F_m$ фито	0.62	Температура воды	24.50		0.50	0.990
		Электропроводность		170.30	0.38	0.955

Индикатор	Нижняя ГНИ (в скобках – верхняя)	Фактор	Нижняя ГНФ	Верхняя ГНФ	Полнота фактора	Доверительная вероятность результата
		Щелочность	97.60		0.35	0.980
		C <sub>орг</sub>	0.90		0.32	0.995
		Mg <sup>2+</sup>	6.56		0.29	0.980
		Температура воздуха	24.20		0.26	0.980
		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		13	0.21	0.995
Средняя скорость из- менения флуоресцен- ции на всей кривой без подсветки	0.47	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.04		0.40	0.995
		pH	8		0.34	0.995
		HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		124	0.31	0.965
		БПК <sub>5</sub>		2.84	0.31	0.960
		ХПК		43.20	0.31	0.995
		Температура воды		25.30	0.24	0.995
		K <sup>+</sup>	1.17		0.23	0.995
		P <sub>общ</sub>	0.06		0.20	0.995
Средняя скорость из- менения флуоресцен- ции на всей кривой с подсветкой	0.22	Температура воды		21.50	0.45	0.980
		Na <sup>+</sup>		2.53	0.39	0.995
		pH	8		0.38	0.995
		P <sub>общ</sub>	0.07		0.31	0.995
		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	9.60		0.31	0.985
		Сумма ионов		185	0.24	0.995
		HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		126	0.24	0.995
		Щелочность		109.80	0.24	0.995
		N <sub>общ</sub>	0.74		0.22	0.995
		ХПК		44.70	0.18	0.995
Индекс Симпсона'	0.94	БПК <sub>5</sub>	1.65		0.37	0.960

Полученные зависимости легко интерпретировать. Например (табл. 1), высокие значения флуоресценции фитопланктона (более 0.62) наблюдаются при температуре воды выше 24.5<sup>o</sup>C, а низкие значения флуоресценции соответствуют температуре ниже 24.5<sup>o</sup>C, причем 50% неблагоприятных наблюдений могут быть объяснены именно этим фактором (значение полноты равно 0.5) Другими словами, метод ЛЭН дает строгую количественную интерпретацию границам качественных классов.

Оценка экологического состояния водоема может быть проведена как по биологическим показателям с помощью ГНИ (проверка принадлежностей значений биоиндикаторов к тому или иному классу качества), так и по физико-химическим показателям с помощью ГНФ (проверка того, превышают ли значения факторов допус-

тимый уровень воздействия, или нет, что соответствует практике оценки по нормативам ПДК), причём результаты оценки будут совпадать.

### *Сравнение биоиндикаторов*

Биоиндикаторы были сопоставлены по количеству найденных существенных факторов, достаточности программы наблюдения и средней силе связи между значениями индикатора и фактора (табл. 2). Данный набор довольно разнородных критериев позволяет сравнить биоиндикаторы с разных сторон.

*Таблица 2.* Сравнение индикаторов по числу найденных существенных факторов, достаточности программы наблюдений и силе связи в 2011 году

Биоиндикатор	Число существенных факторов	Достаточность программы наблюдения	Средняя сила связи
Средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой с подсветкой	10	0.80	0.15
$B_{\text{Vасил}}/B_{\text{общ}}$	9	0.74	0.16
Средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой без подсветки	8	0.75	0.15
$F_m$ фито	7	0.81	0.16
Индекс Симпсона'	1	0.46	0.17

Из таблиц видно, что по критерию количества найденных существенных факторов индикаторы варьируют в пределах группы (от 1 до максимум 10 существенных факторов). Это говорит о том, что есть как «универсальные» по количеству найденных факторов индикаторы, так и очень специфичные по отношению к действию факторов индикаторы, реагирующие лишь на несколько факторов. Можно заметить, однако, что эти «специфичные» индикаторы отнюдь не являются «плохими» в биоиндикационном смысле, поскольку средние достаточности программы наблюдения по действующим на них факторам относительно невысоки (0.46 для индекса Симпсона'), что говорит о большом числе факторов, действующих на данные биоиндикаторы, но не включенных в программу мониторинга.

Выделено три биоиндикатора, обладающих наибольшим количеством действующих на них существенных факторов среды: средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой с подсветкой, относительная биомасса диатомовых водорослей и средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой без подсветки (10, 9 и 9 соответственно). Можно видеть, что по отдельности три наиболее универсальных индикатора демонстрируют также и высокую среднюю достаточность программы наблюдения (0.80, 0.74, 0.75 соответственно), что говорит о том, что данные индикаторы обладают высоким биоиндикационным потенциалом в данных условиях, т.е. их использование в качестве индикаторов состояния фитопланктона Рыбинского водохранилища целесообразно при существующей программе мониторинга.

Средняя сила связи между значениями индикатора и факторов во всех случаях изменяется незначительно и лежит в диапазоне от 0.15 до 0.17. Выбранная в ходе исследования высокая доверительная вероятность результатов ( $\geq 0.95$ ) обеспечивает во всех случаях удовлетворительную среднюю силу связи. Индикатор «Средняя ско-



рость изменения флуоресценции на всей кривой с подсветкой» обладает высокой (0.80) достаточностью программы наблюдений и большим количеством найденных существенных факторов (10), что вкупе с приемлемой средней силой связи (0.15) позволяет рекомендовать данный биофизический показатель как эффективный биоиндикатор состояния фитопланктона Рыбинского водохранилища среди рассмотренных.

Весьма показательным является то, что среди «лучших» индикаторов присутствуют как биофизические, так и гидробиологические индикаторы, что свидетельствует о нежелательности полного отказа от одного из подходов.

### **Заключение**

Существующая проблема нормирования неблагоприятных воздействий на природные водные экосистемы находит решение с помощью различных подходов, например биоиндикации, биотестирования, лабораторных экспериментов, с привлечением широкого спектра показателей, основную массу которых можно отнести к гидробиологическим. С появлением биофизических методов исследования фитопланктона все более доступными становятся показатели быстрой флуоресценции растительных организмов. В большинстве случаев подобные показатели регистрируют состояние организмов значительно быстрее, точнее и проще, чем гидробиологические, а современная приборная база с высокой степенью вовлеченности компьютерных технологий дает возможность оперативной обработки получаемой информации.

Инструментальность, точность и быстрота биофизических тестов позволяет использовать их в качестве предпочтительного метода анализа экологического состояния водных объектов. Гидробиологические подходы к биоиндикации, тем не менее, могут выявить дополнительные существенные для возникновения экологического неблагополучия факторы среды. Так, индикатор «Средняя скорость изменения флуоресценции на всей кривой с подсветкой» обладает высокой достаточностью программы наблюдений и большим количеством найденных существенных факторов, что вкупе с приемлемой средней силой связи позволяет рекомендовать данный биофизический показатель как эффективный биоиндикатор состояния фитопланктона Рыбинского водохранилища среди рассмотренных индикаторов.

Работа частично поддержана РФФИ (проекты № 14-04-00143, 15-04-02601)

### **Цитируемая литература**

- 1 А.П. Левич, Н.Г. Булгаков, Д.В. Рисник и др., Компьютерные исследования и моделирование, 5 (3), 451 (2013).
- 2 А.П. Левич, Н.Г. Булгаков, В.Н. Максимов, Д.В. Рисник, Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. М.: Товарищество научных изданий КМК, 32 (2011).
- 3 И.А. Гончаров, А.П. Левич, Д.В. Рисник, Программа установления границ качественных классов для количественных характеристик систем и установления взаимосвязи между характеристиками (Программа установления ГКК). Роспатент, № 2012616523; 2012.

# THE BIOINDICATIONAL POTENTIAL OF BIOPHYSICAL AND HYDROBIOLOGICALS METHODS OF PHYTOPLANKTON COMMUNITY ASSESSMENT

**Bobyrev P.A.**

In the article, a brief review of method of local ecological norms is given along with the estimated parameters. The method is applied to the data on phytoplankton community of Rybinsk Reservoir in 2011. Based on the results obtained, the comparative analysis of bioindicational potential of different bioindicators is performed.

## МИГРАЦИЯ ОСНОВНЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ С ГРАВИТАЦИОННОЙ ВЛАГОЙ В ПОЧВАХ ЛЕСНЫХ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПОДЗОНЫ ХВОЙНО-ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ

**Бурова Е.К., Смирнова И.Е., Копчик Г.Н.**

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; energizer356@gmail.com

### Аннотация

Для полного осознания законов биосферы необходимо понимать количественные и качественные показатели, характеризующие процессы создания живого вещества, пути его трансформации, процессы обмена, как между компонентами, так и между экосистемами. Важной частью является перемещение элементов в почвах и вынос их за пределы экосистемы. Количество биогенных элементов питания определяет скорость роста и состояние растительного покрова. Лизиметрические методы исследований позволяют количественно оценить значение потоков гравитационной воды в переносе веществ и энергии в почве, потерю питательных веществ из корнеобитаемого слоя. Целью исследования является анализ содержания основных биогенных элементов, мигрирующих в составе гравитационных вод в почвах лесных биогеоценозов подзоны хвойно-широколиственных лесов, в зависимости от особенностей растительности и сезона года. В данном исследовании мы выясняем концентрации элементов для нормального функционирования экосистем и, таким образом, получаем характеристику фоновых эталонных биогеоценозов, которые в дальнейшем можно использовать для определения критических уровней воздействия на среду путем сравнения данных из ненарушенных биогеоценозов с нарушенными. Район исследования расположен на Звенигородской биологической станции им.С.Н.Скадовского и входит в зону подтайги с хвойно-широколиственными лесами. Почвы на выбранных участках относятся к подзолистым и дерново-подзолистым и расположены под тремя разными фитоценозами: березово-еловый лес, елово-липовый лес и сосново-еловый лес. Отбор лизиметрических вод проводится с частотой 1 раз в месяц в период с апреля-мая по октябрь-ноябрь. После воды фильтруются через фильтры с диаметром отверстий 0,45 мкм, кондуктометрически измеряется электропроводность и рН, определяется содержание углерода органического вещества и общего азота на TOC-V-CPN analyzer Shimadzu, калия – на пламенном фотометре, фосфатов и аммонийной формы азота – на спектрофотометре Spekol, нитратной формы азота – с помощью восстановления ее до нитритной формы и фотометрического измерения окраски. Выводы: 1. Лизиметрические воды из дерново-подзолистых почв под хвойно-широколиственными лесами слабокислые и кислые и обладают низкой минерализацией. Воды подстилки по сравнению с нижележащими горизонтами содержат наибольшее количество углерода органического вещества, а также минеральных ионов, что вполне закономерно. 2. Концентрации углерода органического вещества в лизиметрических водах за 2014-2015 годы варьируют в пределах 10-108 мг/л, общего азота – 0,4-30,6 мг/л, калия – 0,02-1,3 мг/л, фосфора – 0,02-2,3 мг/л, что соответствует накоплению веществ в опаде, и отличается сильной пространственной и сезонной изменчивостью. 3. Среднегодовые концентрации и потоки элементов в лизиметрических водах из верхнего горизонта возрастают в ряду: березово-еловый лес – сложный сосново-еловый лес –

сложный елово-липовый лес, что обусловлено соотношениями долей опада и отпада хвойных и лиственных пород, а также интенсивностью их поступления и разложения. 4. Все исследуемые элементы (С, N, К, Р) на протяжении всего года наименее миграционно активны под сложным елово-липовым лесом и преимущественно закрепляются в гумусовом горизонте, что отражает особенности генезиса дерново-подзолистых слабодифференцированных почв под влиянием широколиственной растительности и близкого залегания остаточно-карбонатных пород.

**Ключевые слова:** экологический мониторинг; лизиметрические воды; дерново-подзолистые почвы; миграция

## **OFFSHORE DISCHARGES - ENVIRONMENTAL REGULATORY PERSPECTIVE**

**Wadhia Kirit**

Fjords Processing, Flotta, Stromness, Orkney, United Kingdom, KW16 3NP,  
kirit.wadhia@fjordsprocessing.com

The use of chemicals in the oil and gas sector is paramount for effective and efficient production activities.

Chemicals are used in the production process in order to: improve flow of fluids from the reservoir; facilitate the separation of gas, liquid hydrogen, liquid brine and solid materials; prevent (inhibit) the fouling of pipes and equipment; reduce corrosion of facilities; reduce deposited solids. Oilfield production chemicals are diverse, they may be simple inorganic salts or organic solvents, complex organics, polymers, sequestrants or have surface active properties.

Usage in a controlled and sustained manner is the key to utilisation in advantageous, harmonious and productive scenarios. Thus the rationale for introduction of regulations; REACH (Registration, Evaluation, Authorisation & restriction of CHemicals), OCNS (Offshore Chemical Notification Scheme) and OSPAR (Oslo and Paris convention) legislations are a case in point for such impetus to regulate chemicals and discharges.

Prudent use of chemicals is vital in ensuring optimum outcome. This is no truer the case than when dealing with the environment. Pragmatic control is the solution and the objective of environmental regulations; these need to take into account the implications for all pertinent stakeholders.

In context of the petroleum industry, the OSPAR Harmonised Mandatory Control Scheme (HMCS) operates in providing the safety net for protecting the environment from harmful impact from chemicals.

The Harmonised Offshore Chemical Notification Format (HOCNF), the registration system of chemicals underpinning the HMCS, is based on employing data pertaining to Persistence, Bioaccumulation and Toxicity (PBT).

The approach to controlling the use of chemicals based on safety and environmental impact considerations is well and good, but is it adequate? What happens to these chemicals when they have delivered their beneficial value in the production process?

Globally where implemented potential environmental impact of effluent discharge has been predicted or monitored using analytical chemistry. The pertinent questions are:

- Can we monitor all substances (chemicals) that are present?
- Is it feasible to determine all the combined (interactive) effects of all the substances (including naturally occurring)?
- Based on the PBT data of the chemicals can we confidently establish impact of the discharge/effluent?

Perspective of the OSPAR regulatory driver gained from extensive testing implemented using risk-based approach utilising ecotoxicity test data and dispersion modelling will be conveyed. This will include comparison of regulatory approach and environmental quality standards concerning the oil sector from a global perspective; in particular that pertinent to the OSPAR region and regulatory framework applicable in Australian waters.

# ЗНАЧЕНИЕ ВОДОПОДГОТОВКИ ДЛЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-КУЛЬТУР РАКООБРАЗНЫХ

Гершкович Д.М., Мерзеликин А.Ю.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; papirus451@yandex.ru

## Аннотация

На сегодняшний день в нашей стране единой рекомендованной системы подготовки культивационной и лабораторной воды для проведения биотестирования не существует. В работе рассматриваются культивационные среды для ракообразных, рекомендованные отечественными и зарубежными методическими указаниями. Описан опыт использования подготовленной водопроводной (биологизированной) воды и искусственной среды ADaM при проведении токсикологических исследований на ракообразных *Ceriodaphnia affinis* при пожизненных наблюдениях. Обоснована необходимость проведения дальнейших исследований в направлении создания стандартной синтетической среды для проведения биотестирования с использованием ракообразных.

**Ключевые слова:** биотестирование, ракообразные, биологизированная вода, искусственная среда

## Введение

Методики биотестирования, целью которых является выявление отдаленных последствий низкоинтенсивных воздействий физических и химических факторов, подразумевают хронические (долгосрочные) наблюдения за продолжительностью жизни и репродукцией тест-объектов, в том числе в ряду поколений. При многократном повторении таких наблюдений в лабораторной культуре ракообразных зачастую проявляется значительная вариабельность исследуемых показателей жизнедеятельности, что может быть вызвано как фенологическими факторами, так и влиянием неконтролируемых условий среды (Гремячих, Томилина, 2010; Filenko et al., 2011). Снижение числа неконтролируемых факторов среды и стандартизация методов биотестирования с использованием гидробионтов является одной из актуальных задач водной токсикологии.

## Материалы и методы

К ключевым аспектам стандартизации можно отнести проблему водоподготовки, которая играет большую роль при биотестировании, результаты которого во многом зависят от условий культивирования тест-объектов и проведения экспериментов. Методиками биотестирования рекомендованы культивационные среды для гидробионтов, которые готовятся как путем подготовки воды из природных источников, водопроводной и бутилированной воды (Крайнюкова, 1991; Филенко, Соколова, 1998; Жмур, 2007; ГОСТ Р 56236-2014), так и среды на основе дистиллированной воды с добавлением минеральных солей (Weber, 1991; OECD, 2004; ISO 6341:2012).

Перечисленные методические указания рекомендуют контролировать такие показатели качества культивационной воды, как жесткость, pH, содержание кислорода. Диапазон рекомендуемых значений приведенных показателей довольно широк. Например, согласно OECD (2004) значение pH культивационной воды может лежать в пределах 6-9 единиц, жесткости 140-250 мг/л (по CaCO<sub>3</sub>). В соответствии с рекомендациями ISO 6341:2012 значение pH культивационной воды может лежать в пределах 7,0-8,3 единиц, жесткости 80-250 мг/л. Таким образом, культивационная вода, удовлетворяющая требованиям принятых методических указаний, может обладать

различными гидрохимическими свойствами в зависимости от региона и способа ее подготовки в условиях лаборатории.

При анализе литературных данных отмечено, что большинство зарубежных исследователей используют искусственные среды, рекомендованные методиками US EPA (Weber et al, 1991), OECD и ISO. Комплекты для биотестирования в полевых условиях, такие как DAPHTOXKIT F MAGNA (тест-объект *Daphnia magna*) используют искусственную среду, рекомендованную ISO, а OSTRACODTOXKIT F (тест-объект бентосная остракода *Heterocypris incongruens*) - средне жесткую синтетическую воду из методики US EPA. Отечественные исследователи наиболее часто используют подготовленную природную или водопроводную воду (Крайнюкова, 1991; Филенко, Соколова, 1998; Жмур, 2007).

Использование обоих видов культивационных сред имеет как преимущества, так и недостатки. Например, в результате антропогенного воздействия, а также в разные сезоны года состав природной и водопроводной воды изменяется в широких пределах, что может сказываться на сходимости и воспроизводимости результатов хронических опытов. Состав искусственной среды, напротив, практически неизменен. В свою очередь, приготовление искусственных сред требует наличия в лаборатории дистиллированной воды хорошего качества, а также широкого спектра минеральных солей. Среда M4 и M7 (ISO 6341:2012) содержат в своем составе ЭДТА, что исключает возможность исследования с их использованием образцов, содержащих металлы. Кроме того, не все тест-организмы способны расти на описанных в литературе искусственных средах, поэтому помимо синтетических сред описанные методики биотестирования предполагают возможность использования природной и водопроводной воды после ее подготовки.

Помимо культивационной среды выделяют синтетическую среду для приготовления исследуемых растворов при проведении эксперимента, в состав которой входит 4 минеральные соли:  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  и  $\text{KCl}$  (Weber et al, 1991). При исследовании токсичности проб рекомендуют использовать синтетические среды разной степени жесткости на основе указанной рецептуры, соответствующие жесткости исследуемой пробы. Однако, использование такой среды для культивирования ракообразных и проведения хронических экспериментов предусмотрено только в случае, когда тест-организмы способны поддерживать свою жизнедеятельность на данной среде в течение длительного времени. В других случаях для культивации тест-организмов используют природную или водопроводную воду после ее подготовки, а опыты сопровождают двойным контролем: первым контролем служит культивационная вода, вторым – синтетическая среда, используемая для приготовления растворов.

Таким образом, единой рекомендованной системы подготовки культивационной и лабораторной воды в системе биотестирования на данный момент не существует. Вода, соответствующая требованиям принятых методик биотестирования, может характеризоваться различными гидрохимическими показателями в зависимости от региона и способа ее подготовки в лабораторных условиях.

## Результаты

При исследовании продолжительности жизни ветвистоусых ракообразных *Ceriodaphnia affinis* в лабораторной культуре в качестве культивационной среды применялась биологизированная вода, которая представляет собой подготовленную водопроводную воду (Filenko et al., 2011). Для получения биологизированной воды хлорированную водопроводную воду пропускали через систему фильтров механиче-

ской очистки. Затем воду отстаивали в течение двух недель в аквариуме при круглосуточной продувке атмосферным воздухом. Отстоявшуюся воду переливали в следующий аквариум с песчаным грунтом, высшей водной растительностью и системой принудительной фильтрации через пористые наполнители. В течение двух недель вода проходила процесс биологизации и аэрации. Под процессом биологизации подразумевается самоочищение воды с участием нитрифицирующих бактерий, а также насыщение ее метаболитами растений. Насыщенную метаболитами высшей водной растительности воду переливали в третий аквариум, где она также аэрировалась. Воду из данного аквариума воду использовали в экспериментах и для культивирования ракообразных по мере необходимости. Перед использованием воду фильтровали через двойной слой мельничного газа №72 для предотвращения попадания в культивационную среду и исследуемые растворы яиц простейших, коловраток и низших ракообразных. При многократном повторении наблюдений за продолжительностью жизни и плодовитостью в лабораторной культуре *C. affinis* в 2007-2011 гг. проявилась значительная вариабельность исследуемых показателей жизнедеятельности: средняя продолжительность жизни рачков колебалась в пределах от 13,0 до 46,6 суток, максимальная - от 33 до 69 суток (Filenko et al., 2011). Помимо фенологических факторов, нельзя исключать и влияние изменяющегося состава лабораторной воды, приготовленной из водопроводной воды описанным выше способом.

Биологизированная и дехлорированная водопроводная вода использовалась при исследовании эффектов 10-(2',3'-диметилхинонил-6')-децилтрифенилфосфоний: бромида («препарат SkQ1») на показатели продолжительности жизни и плодовитости *Ceriodaphnia affinis* (Гершкович и др., 2013). При проведении данного исследования искусственная среда (M4) не использовалась по причине наличия в ее составе ЭДТА, способного повлиять на активность препарата, исследуемого в исчезающе малых концентрациях. В 5 сериях исследований была использована водопроводная отстоянная вода, приготовленная при принудительной аэрации в течение месяца. В 9 сериях опытов использовалась биологизированная вода. Кроме того, в 11 сериях исследований использовалась смесь описанных вод, приготовленная в пропорции 1:1. В результате исследования был установлен достоверный эффект увеличения средней продолжительности жизни (до двух раз по сравнению с контролем) при постоянном воздействии препарата SkQ1 в концентрации 0,0003 мг/л. Однако величина эффекта препарата при многократном повторении экспериментов была непостоянной. Зависимости продолжительности жизни в контрольной выборке или величины эффекта препарата от типа используемой культивационной воды выявлено не было. При использовании аквариумной и водопроводной воды, а также их смеси эффекты препарата SkQ1 проявлялись в равной степени. Для каждой из использованных культивационных сред можно отметить случаи сниженной, средней и повышенной продолжительности жизни рачков в контрольной выборке.

Среди искусственных сред также известна среда ADaM, созданная специально для пресноводного зоопланктона, где в качестве набора микроэлементов использовали синтетическую морскую соль (Klüttgen, 1994). Среда ADaM показала высокие результаты в «Daphnia Reproduction Test» (репродуктивный тест на *Daphnia magna*), обеспечивая 100% выживаемости и максимальное число молоди на протяжении 21 дня наравне со средой M4 (Elendt, Bias, 1990).

Среда ADaM была использована для проведения хронических токсикологических исследований, целью которых стало сравнение токсикочувствительности и морфофункциональных показателей ракообразных *Ceriodaphnia affinis* на подготовленной водопроводной воде и искусственной среде (Мерзеликин, Гершкович, 2016). В ре-

результате проведенных исследований показано, что искусственная среда ADaM пригодна для ведения синхронизированной культуры ракообразных *C. affinis* в лабораторных условиях. Такие жизненные показатели рачков, как изменение линейных размеров тела, средняя продолжительность жизни и средняя суммарная плодовитость на одну самку при работе на искусственной среде не только не снижаются, но в некоторых случаях значительно повышаются по сравнению с аналогичными показателями, полученными при работе на аквариумной воде. Полученные значения средней продолжительности жизни и плодовитости не выходят за рамки указанных в литературе, что свидетельствует о равной пригодности использованных сред для культивирования *C. affinis*. Эффекты воздействия бихромата калия в хроническом эксперименте (концентрации 0,01 и 0,03 мг/л) чаще проявлялись при работе на среде ADaM. При проведении острых экспериментов с бихроматом калия полулетальные концентрации за 24 и 48 часов при работе на искусственной среде также были ниже, чем при работе на аквариумной воде, что также свидетельствует о большей чувствительности рачков, либо о более высокой степени биодоступности токсиканта. Таким образом, искусственная среда ADaM может быть применима для нужд биотестирования и других токсикологических исследований с использованием ракообразных. Кроме того, благодаря постоянству состава, она является перспективной для целей стандартизации условий проведения экспериментов. К недостаткам описанной искусственной среды можно отнести использование в ее составе синтетической морской соли неизвестного состава.

### Заключение

Вероятное повышение сходимости и воспроизводимости результатов, полученных при работе с искусственными средами, может быть проверено в последующих исследованиях. Поскольку состав культивационной среды может влиять на чувствительность тест-организмов к токсическому воздействию (Мерзеликин, Гершкович, 2016), а также на биодоступность токсических соединений в водной среде, особую актуальность приобретает унификация используемых в биотестировании сред.

### Цитируемая литература

1. Гершкович Д.М., Исакова Е.Ф., Филенко О. Ф., Самойлова Т.А., 2013. Повышение жизнестойкости рачков *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg с применением 10-(2', 3'-диметилхинонил-6')-децилтрифенилфосфоний бромид // Вестник Московского Университета. Серия 16: Биология. 2013. №.
2. С. 27–30. 2. ГОСТ Р 56236-2014 Вода. Определение токсичности по выживаемости пресноводных ракообразных *Daphnia magna* Straus. М.: Стандартиформ. 2015. 40 с.
3. Гремячих В. А., Томила И. И., 2010. Закономерности накопления соединений ртути планктонными ракообразными *Ceriodaphnia affinis* // Гидробиологический журнал. 2010. № 4. с. 65–74.
4. Жмур Н.С. 2007. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. (ФР 1.1.39.2007–03–223). 2–е изд., испр. и доп. М.: АКВАРОС, 2007. 56 с.
5. Мерзеликин А.Ю, Гершкович Д.М. 2016. Значение водоподготовки при культивировании *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg 1900 для целей токсикологических исследований // «Экология родного края»: проблемы и пути их решения. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием Книга 1. (28–29 апреля 2016 г.). Киров: ООО «Радуга-ПРЕСС», 2016. 446 с.
6. Крайнюкова А.Н. (ред.), 1991. Методическое руководство по биотестированию воды РД 118–02–90. М.: Госкомприрода СССР, 1991. 48 с.
7. Филенко О.Ф., Соколова С.А. (ред.), 1998. Методические указания по установлению экологорыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. 145 с. 32.



8. Elendt B. P., Bias W. R., 1990. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna* // *Water Research*. – 1990. Vol. 24. №. 9. PP. 1157–1167.
9. Filenko O. F., Isakova E. F., Gershkovich D. M., 2011. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg in a laboratory culture // *Inland water biology*. 2011. T. 4. №. 3. PP. 283–286.
10. ISO 6341:2012. Water Quality Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) Acute Toxicity Test // British Standards Institution, London. 2012.
11. Klüttgen B., Dülmer U., Engels M. and Ratte H.T., 1994. ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton // *Water research*. 1994. Vol. 28. №. 3. PP. 743–746.
12. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). Test №. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. OECD Publishing, 2004.
13. Weber C. I. et al. (ed.), 1991. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, 1991. P. 1–275.

## **IMPORTANCE OF WATER TREATMENT FOR TOXICOLOGICAL STUDIES USING TEST-CULTURES OF CRUSTACEANS**

**Gershkovich D.M., Merzelikin A.Yu.**

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Today in our country a single recommended system of water treatment for cultivation and laboratory water for bioassay does not exist. The paper discusses the cultivation mediums for crustaceans recommended in Russian and foreign guidelines. Described the experience of using prepared tap (bio-) water and the synthetic medium ADaM during toxicological studies on crustacean *Ceriodaphnia affinis* with lifelong observations. The necessity of further research in the direction of creating a standard synthetic medium for bioassay using crustacean was shown.

## **ОБОСНОВАНИЕ МОДЕЛИ РОСТА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НА МНОГОКОМПОНЕНТНОМ СУБСТРАТЕ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ И НОРМИРОВАНИИ КАЧЕСТВА КОМПОНЕНТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**Глазунов Г.П., Гендугов В.М., Евдокимова М.В., Титарев Р.П., Шестакова М.В.**

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; glazng@mail.ru

### **Аннотация**

В данной работе известный подход, основанный на предварительном обезразмеривании переменных модели, позволил обоснованно упростить дифференциальные уравнения в частных производных, описывающие биологические объекты с определенными соотношениями пространственных масштабов, скоростей миграции веществ и характерных времен функционирования, и найти аналитические решения для некоторых задач макроскопической биологической кинетики, включая задачи роста биомассы клеточных популяций в неподвижной и слабо подвижной многокомпонентных средах.

**Ключевые слова:** биокинетика, модель роста, дозовая зависимость, экологическое нормирование

### **Введение**

Отсутствие системного подхода к моделированию закономерностей динамики биомассы и жизненных проявлений клеточных популяций порождает произвол в выборе моделей. В то же время моделирование биологической кинетики в рамках законов сохранения потоков массы с использованием предварительного упрощения системы определяющих дифференциальных уравнений, основанного на методах

теории подобия и анализа размерности, не только существенно снижает произвол в выборе моделей, но и открывает возможности как создания новых моделей, адекватных наблюдаемым процессам, так и обобщения созданных ранее.

### Материалы и методы

В данной работе известный подход, основанный на предварительном обезразмеривании переменных модели, позволил обоснованно упростить дифференциальные уравнения в частных производных, описывающие биологические объекты с определенными соотношениями пространственных масштабов, скоростей миграции веществ и характерных времен функционирования, и найти аналитические решения для некоторых задач макроскопической биологической кинетики, включая задачи роста биомассы клеточных популяций в неподвижной и слабо подвижной многокомпонентных средах.

### Результаты

Решение задачи описания роста популяций клеточных популяций на субстрате с многими компонентами имеет вид:

$q = a \cdot ((tz)^{-b}) \cdot \exp(-k/tz)$ , где  $q$  – показатель роста,  $t$  – время от начала роста,  $z$  – среднее геометрическое из концентраций учтенных компонентов субстрата,  $a$ ,  $b$ ,  $k$  – эмпирические коэффициенты, являющиеся свертками множества стехиометрических коэффициентов химических реакций и биохимических превращений, определяющих рост. В случае постоянства  $z$  эта переменная включается в константы модели роста:

$q = A \cdot ((t)^{-B}) \cdot \exp(-K/t)$ , где  $A$ ,  $B$ ,  $K$  – эмпирические коэффициенты, являющиеся свертками множества стехиометрических коэффициентов химических реакций и биохимических превращений, определяющих рост, и начальных концентраций учтенных компонентов субстрата,  $z$ .

Модель характеризуется наличием шести особых точек, разграничивающих семь фаз роста, характеризующихся собственным набором значений кинетических характеристик (скоростей роста, ускорений роста). При стремлении времени к нулю правая часть также стремится к нулю, поэтому в точке  $t=0$  величина  $q$  доопределяется значением  $q=0$ , что не противоречит общебиологическим представлениям. При стремлении времени к бесконечности правая часть также стремится к нулю, что также не противоречит общебиологическим представлениям. Модель позволяет обоснованно и точно определить границы фаз роста по экспериментальной динамике роста.

В случае постоянства  $t$  эта переменная включается в константы модели:

$q = a \cdot ((z)^{-b}) \cdot \exp(-k/z)$ , где  $a$ ,  $b$ ,  $k$  – эмпирические коэффициенты, являющиеся свертками множества стехиометрических коэффициентов химических реакций и биохимических превращений, определяющих рост, и фиксированного времени наблюдения над ростом,  $t$ .

График уравнения модели, имеющий вид деформированного колокола, характеризуется наличием шести особых точек, разграничивающих семь интервалов в фазовом пространстве зависимости роста от показателя концентрации учтенных компонентов субстрата,  $z$ , характеризующихся собственным набором значений "кинетических" характеристик.

### Заключение

Решение модели, по сути представляющее собой математическое выражение закона толерантности, полезно при анализе дозовых зависимостей и экологическом нормировании.

### Цитируемая литература

1. Гендугов В.М., Глазунов Г.П. Макрокинетическая модель микробного роста на многокомпонентном субстрате / Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение, 2014, № 3, с. 10-16
2. Гендугов В.М., Глазунов Г.П. Макрокинетическое обоснование модели микробного роста в ограниченном объеме при постоянстве условий и одном ведущем компоненте субстрата / Известия РАН. Серия биологическая, № 4, 2013, с. 412-419

### SUBSTANTIATION OF THE MODEL OF CELL POPULATION GROWTH ON A MULTI-COMPONENT SUBSTRATE AND ITS APPLICATION IN THE ASSESSMENT OF THE QUALITY AND STANDARDIZATION OF COMPONENTS OF THE ENVIRONMENT.

Gendugov V.M., Glazunov G.P., Evdokimova M.V., Titarev R.P., Shestakova M.V.

The lack of a systematic approach to mathematical modelling of the dynamics of biomass and other vital manifestations of cells populations results in the arbitrarily selected models of growth. Reduction of arbitrariness in biological processes modeling within the framework of the law of conservation of the mass flow is achieved by means of the similarity theory and dimensional analysis that allow to reduce the general equations to the particular ones having a physical meaning and reflecting the real processes and to facilitate creation of the new models and to generalize the earlier created models. Conversion of the variables in general equations to the dimensionless ones according to the similarity theory and dimensional analysis made the procedure of the model selection more reasonable and objective thus allowing analytical solution to some problems with the special macroscopic biological kinetics, in particular: the dynamics of the biomass of cells populations both in the stationary and the moving environments.

### CHANGES IN CONTENT OF SIX TRACE ELEMENTS IN SCALES OF THE BREAM *ABRAMIS BRAMA* FROM THE MOZHAISK RESERVOIR OVER A QUARTER CENTURY

Golubtsov A.S., Pelgunova L.A., Saltykova E.A., Sokolova E.L., Skomorokhov M.O., Demidova T.B.

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;  
sgolubtsov@gmail.com

#### Abstract

Content of 11 trace elements in scales of the bream (*Abramis brama*) from the Mozhaisk Reservoir collected in the second half of the 1980s were compared to the current values. Concentrations of three elements studied changed severalfold during the past quarter century: that of strontium has decreased, and those of barium and lead have increased. Short-term variations of heavy metal contents have proved to be smaller than the observed longterm differences. We believe that these longterm differences adequately reflect the changes that have occurred in the Mozhaisk Reservoir.

**Keywords:** trace elements, heavy metals, pollution, fresh waters, long-term dynamics, bream

#### Introduction

In contrast to organic compounds, trace elements do not undergo transformation in aquatic food webs and leave biological cycle very slowly. Among trace elements, arsenic, cadmium, chromium, lead and mercury are regarded as the most dangerous toxicants [1].

Some trace elements (such as copper and zinc) are vitally important essential nutrients required for various biochemical and physiological functions. However, extra supply of these micro-nutrients can be toxic to organisms.

Bioconcentration of different trace elements in aquatic organisms can exceed environmental concentrations by orders of magnitude [2]. These elements enter fish organism through direct consumption of water and food as well as via nondietary routes such as uptake through absorbing epithelia [2, 3]. Different organs and tissues of fish accumulate trace elements at different rates [4]. For understandable reasons, data about long-term dynamics of content of trace elements in aquatic organisms from the particular body of water are extremely scarce in literature [5].

This study was aimed at the comparison of content of some trace elements in scales of the bream (*Abramis brama*) collected for age and growth rate investigations from the Mozhaisk Reservoir (Moscow District) in the late 1980s with the modern values in order to estimate the long-term ecotoxicological trends in this body of water.

### **Materials and methods**

Sample of the 1980s consists of 54 specimens (standard length, SL 166-403 mm) collected from November 1986 to September 1989. Modern material includes 45 specimens (SL 206-358 mm) collected in May-November 2015 and eight specimens (SL 260-301 mm) collected in May 2016. Scale samples (200-500 mg) were dissolved fuming nitric acid in the high-pressure microwave MARS (USA) at a maximum pressure of 800 psi at 240 °C. The samples were analyzed as solutions using X-ray fluorescence spectroscopy with a spectrometer PicoTax TXRF (Bruker AXS, Germany) with a monochromatic radiation and optics for total reflection.

All manipulations were performed in disposable plastic utensils with extra-pure chemicals. Selenium was used as an internal standard (five mcg of selenium, GSO 7340-96, was injected into each sample). Since statistical distributions of most parameters studied deviated from normal, non-parametric methods were used.

### **Results and discussion**

For each fish sample data on the content of 11 trace elements – titanium (Ti), chromium (Cr), manganese (Mn), cobalt (Co), nickel (Ni), copper (Cu), zinc (Zn), arsenic (As), strontium (Sr), barium (Ba), and lead (Pb) – were simultaneously obtained. Contents of four of these elements (Ti, Co, Ni and As) was evaluated only for some specimens, because their content in other specimens did not exceed the threshold of spectrometer sensitivity (1 pg/kg). Data on these four elements are not considered in the present communication.

The remaining seven elements (Cr, Mn, Cu, Zn, Sr, Ba and Pb) were detected in the scales of all specimens studied. For most of these elements (excluding Mn) the content in the bream scales significantly changed over a quarter of century (Table 1). Content of two elements (Cr and Ba) decreased, while content of four elements (Cu, Zn, Sr, and Pb) increased.

Surely, there are short-term fluctuations in the content of trace elements. For example, the subsamples of 1986-1987 ( $n = 23$ ) and 1988-1989 ( $n = 31$ ) differed in Zn content (medians 2.72 and 98.9 mg/kg of dry weight, Mann-Whitney U-test:  $p < 0.0005$ ), no difference in content of other elements was found. Between seasonal subsamples of 2015 significant differences in the content of six elements were revealed (Table 2). Short- and

**Table 1.** Content of seven trace elements (mg / kg of dry weight) in scales of the bream (*Abramis brama*) from the Mozhaisk Reservoir collected in 1986-1989 ( $n = 54$ ) and 2015-2016 ( $n = 53$ ).

Trace elements	1986-1989		2015-2016		<i>p</i>
	median	min-max	median	min-max	
Cr	20.45	3.07-189.30	12.70	1.66-65.70	< 0.0008
Mn	22.5	5.19-98.24	19.0	11.40-57.90	0.186
Cu	7.04	0.31-55.41	8.78	3.19-51.30	< 0.05
Zn	53.9	1.12-392.6	151.3	45.0-237.7	< 0.0001
Sr	150.0	99.5-276.6	37.8	32.1-69.7	< 0.0001
Ba	1.82	1.08-5.12	13.06	8.18-22.10	< 0.0001
Pb	0.24	0.06-1.95	2.94	0.74-7.02	< 0.0001

Notes: *p* - significance level of Mann-Whitney U-test; in 2015-2016 for Cu  $n = 51$  and for Pb  $n = 52$ .

long-term differences in content of Cr, Cu and Zn appeared to be quite comparable in magnitude. For three elements (Sr, Ba and Pb), the observed short-term fluctuations were substantially smaller than the long-term differences.

**Table 2.** Content of seven trace elements (mg / kg of dry weight) in scales of the bream (*Abramis brama*) from the Mozhaisk Reservoir collected in July 2015 ( $n = 20$ ) and October-November 2015 ( $n = 18$ ).

Trace elements	July		October-November		<i>p</i>
	median	min-max	median	min-max	
Cr	16.42	6.31-41.50	7.20	2.13-65.70	< 0.02
Mn	19.46	11.90-54.03	17.16	11.98-37.80	0.409
Cu	6.23	3.92-9.13	19.84	11.7-47.10	< 0.0001
Zn	168.75	45.0-211.8	133.05	124.4-194.8	< 0.0001
Sr	38.49	32.4-41.2	33.62	29.8-55.0	< 0.0001
Ba	13.95	11.8-18.1	11.73	10.00-18.2	< 0.005
Pb	3.02	2.31-4.89	2.26	0.74-7.02	< 0.228

Notes: *p* - significance level of Mann-Whitney U-test; for Cu in July  $n = 19$  and October-November  $n = 17$ .

### Conclusion

It is reasonable to suggest that a decrease of Sr content, as well as an increase of Ba and Pb content reflect real changes occurring in the Mozhaisk Reservoir during a quarter of century. Increase in the level of Pb is of special ecotoxicological importance. Until 2010, the Mozhaisk Reservoir had the special status as a source for drinking water supply, but recently this status was withdrawn and the use of motor boats was allowed. Perhaps a sharp increase of lead concentration is caused by these circumstances. Strontium and barium penetrate into aquatic ecosystems mainly with terrestrial runoff and possibly their concentrations in fish tissues are determined by factors that act far beyond the borders of the Mozhaisk Reservoir.

In conclusion, we emphasize that the studies of fish scales and bone collections obtained earlier for the age and growth investigations and kept preserved in some

ichthyological laboratories from previous decades, can be effectively used in the studies long-term dynamics of trace elements in food webs of the targeted bodies of water.

### Acknowledgments

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project № 15-29-02772).

### References

1. Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., Sutton, D. J. 2012. Heavy metal toxicity and the environment. *EXS*, 101:133–164. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4\_6.
2. Алабастр Д., Ллойд Р. 1984. Критерии качества воды для пресноводных рыб. М.: Легк. и пищ. пром-сть, 344 с.
3. Brown D.A., Bay S.M., Hershelman G.P. 1990. Exposure of scorpionfish (*Scorpaena guttata*) to cadmium: effects of acute and chronic exposures on the cytosolic distribution of cadmium, copper and zinc. *Aquatic Toxicology*, 16 (4): 295–310.
4. Попов П.А., Андросова Н.В., Аношин Г.Н. 2002. Накопление и распределение тяжелых и переходных металлов в рыбах Новосибирского водохранилища. // Вопросы ихтиологии. Т. 42. № 2. С. 264–270.
5. Johansen, P., Hansen, M.M., Asmund, G., Nielsen, P.B. 1991. Marine organisms as indicators of heavy metal pollution – Experience from 16 years of monitoring at a lead zinc mine in Greenland. *Chemistry and Ecology*, 5: 35–55.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ПОЧВЕННОЙ МАКРОФАУНЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ Горбунова А.Ю., Коробушкин Д.И., Зайцев А.С., Гонгальский К.Б.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия; anastasiya92\_77@mail.ru

Пожары изменяют физические, химические и биотические условия лесных экосистем. Они также оказывают значительное действие на почвенную макрофауну, включая основных почвенных экосистемных инженеров и регуляторов почвенных процессов в лесных почвах. Однако, в связи с широким спектром признаков, относящихся к макробеспозвоночным, эффект лесного пожара на макрофауну может быть весьма контрастным и до сих пор не оценен. Мы изучили влияние лесных пожаров на таксономическое разнообразие, численность, общую биомассу макрофауны, и биомассу животных из разных функциональных групп (traits). Это исследование мы провели в 20 лесах, сгоревших 5 лет назад, и 20 соответствующих контрольных участках. Исследуемые леса расположены на субмеридиональной трансекте длиной 3000 км в европейской части России. Данная трансекта охватывает пять основных типов леса (средиземноморские и широколиственные леса, южная, средняя и северная тайга).

Численность, биомасса и таксономическое разнообразие макрофауны почвы показали значительную стабильность после пожара и были специфичными для типа леса. Тем не менее, пожары закономерно повлияли на функциональную структуру почвенной макрофауны. Относительно неподвижные таксоны, населяющие верхнюю часть лесной подстилки и питающиеся разлагающимися органическими веществами, испытывают наибольшее влияние от последствий пожара через пять лет после сжигания. Мы пришли к выводу, что сапрофаги, малоподвижные группы почвенной макрофауны, возможно, избегают верхнего слоя почвы как наиболее повреж-

денной границы почвенной экосистемы, на которую пожар оказал влияние. Данная реакция организмов может быть связана с неблагоприятными гидроклиматическими условиями на горелых участках, а также отсутствием необходимых ресурсов. В то же время, поврежденная почвенная поверхность создает барьер на пути распространения малоподвижных почвенных беспозвоночных в связи с их неспособностью быстро переместиться с участка с неблагоприятными условиями. При использовании анализа функциональных групп удается выявить воздействия пожара, которое не выявляется при анализе численности и таксономического состава, что является перспективным подходом в биодиагностике нарушений среды.

## **ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДНЫХ СРЕД МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ: РЕШАЕМЫЕ ЗАДАЧИ И КАК УЛУЧШИТЬ ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ**

**Григорьев Ю.С.**

Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия; gr2897@gmail.com

### **Аннотация**

Биотестирование токсичности воды позволяет оперативно сигнализировать об опасности загрязнителей, попадающих в окружающую среду, что дает возможность предупредить возникновение в ней неблагоприятных экологических ситуаций. Рассмотрены требования к выполнению этого вида биологического анализа.

**Ключевые слова:** биотестирование, токсичность вод, класс опасности отходов, биотесты, условия проведения, воспроизводимость результатов

### **Введение**

Биологические методы оценки состояния окружающей среды при их использовании в экологическом мониторинге наряду с традиционными приемами химического анализа позволяют более комплексно характеризовать качество этой среды. Это достигается благодаря тому, что живые организмы, реагируя сразу на все или большинство загрязнителей, позволяют оценить их реальную экологическую опасность. Методами аналитической химии, даже получив полную информацию о качественном и количественном составе ксенобиотиков в объектах окружающей среды, можно лишь приблизительно установить степень их воздействия на природные экосистемы. Это обусловлено тем, что в большинстве случаев остается неясен характер совместного действия загрязнителей, поскольку влияние каждого из них может взаимно усиливаться, подавляться или просто дополнять друг друга.

Биологический контроль загрязнения окружающей среды включает два методических подхода – это биоиндикация и биотестирование. В основе биоиндикации лежит определение состояния организмов, обитающих в исследуемой среде, тогда как биотестирование проводится с помощью специальных тест-организмов, вносимых в анализируемую среду или ее образцы. Методами биоиндикации можно установить реальную степень воздействия загрязнителей на природные экосистемы и спрогнозировать характер их изменения в будущем. Вместе с тем, дать такие заключения можно только после достаточно продолжительного периода воздействия на объект исследования. Результаты биотестирования позволяют в более короткие сроки определить потенциальную опасность анализируемых проб воды, почвы и воздуха для окружающей среды. При этом биотесты не могут дать точный ответ на вопрос, какое

воздействие выявленная токсичность стоков и выбросов окажет на водные и наземные экосистемы. Главная задача тестов на токсичность – оперативно сигнализировать о степени опасности загрязнителей и таким образом предупреждать возникновение неблагоприятных ситуаций в окружающей среде.

### **Материалы и методы**

В России методы биотестирования получили наиболее широкое применение при установлении класса опасности отходов. В соответствии с вышедшим в 2001 году приказом №511 Министерства природных ресурсов и экологии РФ (документ переиздан в 2014 под № 536) для подтверждения отнесения отходов к 5-ому классу опасности, установленному расчетным методом, из них делается водная вытяжка, которая подвергается биотестированию на токсичность. Для этого рекомендовано использовать не менее двух тест-объектов из разных систематических групп. Указано, что за окончательный результат принимается класс опасности, выявленный на тест-объекте, проявившем более высокую чувствительность к анализируемому отходу.

Трудно не согласиться с последним тезисом данного документа, однако большие сомнения вызывает тот факт, что не регламентировано положение о выборе этих двух тест-организмов. Ясно, что нет такого организма, который бы одинаково реагировал на все поллютанты и тем более на уровне ПДК. Поэтому в зависимости от выбранной пары тест-объектов результат биотестирования токсичности отхода и, следовательно, заключение о его классе опасности будут различными. С любой точки зрения это не допустимый факт. Более того, такой результат анализа компрометирует само использование биотестирования, как наиболее адекватного методического приема при определении возможного вреда отхода для окружающей среды и установлении его класса опасности.

Нам представляется, что проводить биотестирование отходов следует на трех тест-организмах из трех экологических групп, различающихся по способу питания и организации. В первую группу входят дафнии и цериодафнии, во вторую – водоросли хлорелла и сценедесмус и в третью – парамеции и бактерии. Выбор трех тест-организмов по одному из каждой группы позволит более точно устанавливать класс опасности отходов за счет выявления токсичности основных его компонентов и обеспечит лучшую сходимости результатов анализов, выполненных в лабораториях, работающих с разными тест-организмами.

В том же приказе указывается, что «при исследовании водных вытяжек из отходов с повышенным содержанием (содержание сухого остатка в исследуемой водной вытяжке более  $6 \text{ г/дм}^3$ ) применяется не менее двух тест-объектов, устойчивых к повышенному содержанию из разных систематических групп». В этой связи считаем, что солоноводные организмы следует использовать для контроля тех отходов, которые представляют угрозу прямого загрязнения морей или солоноводных водоемов. В случаях возможного влияния соленосодержащих отходов на пресные водные объекты и организмы в местах хранения (на полигонах, амбарах с буровыми растворами, шламохранилищах и др.), биотестирование должно проводиться на пресноводных тест-объектах. Это обусловлено тем, что повышенное содержание солей может само по себе представлять угрозу для пресноводных экосистем.

### **Результаты**

Для получения воспроизводимых результатов биотестирования, выполняемых в разных лабораториях, все условия его проведения должны быть максимально стан-



дартизированы. К ним относятся световой и температурный режимы, газообмен и состав культивационных сред. К сожалению, на практике все эти требования далеко не всегда строго выдерживаются, поскольку многие лаборатории не оснащены оборудованием для обеспечения климат-контроля при культивировании тест-организмов и проведении биотестирования. Относительно газообмена следует указать, что при выращивании автотрофных организмов (водорослей) необходимо не только обеспечить достаточное количество углекислого газа в культивационных средах, но и равное его содержание в контрольных и опытных пробах. Для гетеротрофных организмов точно такие же требования предъявляются к кислороду.

Что касается культивационных сред, то для рачковых биотестов обычно используется отстоянная водопроводная вода. Поскольку в большинстве регионов источником водоснабжения являются природные воды, состав которых значительно различается, то и тест-организмы при проведении биотестирования в этих средах могут находиться в неравных условиях. В результате взаимодействия загрязняющих веществ с компонентами природных вод токсические свойства поллютантов будут проявляться по-разному. Питательные среды, применяемые при культивировании водорослей и других тест-организмов, также могут в той или иной степени изменять биодоступность токсикантов и таким образом влиять на результаты биотестирования. В этой связи уже давно стоит вопрос о нормировании культивационных сред при биотестировании.

Причиной недостаточной воспроизводимости биотестов может быть и значительная сложность в подготовке и проведении таких анализов. При выполнении большого числа этапов токсикологического эксперимента, включающих покомпонентное внесение питательных элементов в среды, соблюдение требований стерильности и др., могут быть допущены ошибки по причине утомления персонала. Решение этой проблемы видится в упрощении самих методик и автоматизации основных процедур в биотестировании.

Важным параметром, влияющим на результаты биотестирования, является его длительность. Считается, что чем дольше тест-организм находится в контакте с анализируемой пробой, тем сильнее проявится токсическое действие содержащихся в нем поллютантов. Часто это так и происходит, однако в ряде случаев большие времена экспозиции могут не дать ожидаемого результата. Дело в том, что тест-организмы, находящиеся в пробе воды, помещенной в замкнутый и ограниченный объем, будут испытывать реальное воздействие токсикантов только в первое время. В последующем, когда большая часть токсических веществ из пробы поглотится организмами и их концентрация в воде снизится вплоть до нулевых значений, продолжение токсикологического эксперимента не приведет к усилению токсического воздействия. Для минимизации данного эффекта надо, чтобы соотношение объема анализируемой пробы к количеству вносимых в него тест-организмов было как можно большим. Тогда, благодаря большому числу молекул, доступных каждому из присутствующих в пробе организмов, токсическое действие загрязнителей будет более значительным. Следует также указать, что при длительном экспонировании могут изменяться физико-химические свойства самой пробы воды, а увеличение сроков выполнения анализа не позволяет оперативно реагировать на возникающие экологические проблемы.

В этой связи хотелось бы также высказать свои соображения относительно понятий острый и хронический опыт в биотестировании. Классически острый эксперимент предполагает установление токсического действия в короткий период времени, тогда как хроническое воздействие выявляется после длительного периода наблюде-

ний. Такой критерий деления этих двух методических приемов подходит при работе с теми тест-объектами, у которых токсический эффект в первом случае определяется по показателю их выживаемости, а во втором - по изменению плодовитости. В это деление не укладываются водорослевые биотесты, поскольку в обоих вариантах опыта токсичность воды обычно оценивается по изменению роста численности клеток водоросли, т.е. их продукционный потенциал. Более того, высокая скорость роста некоторых видов водоросли при создании оптимальных условий позволяет уже в первые сутки получать 5 и более поколений клеток (увеличение их численности в несколько десятков раз). В этом случае существующий критерий деления токсикологических процедур, по-видимому, теряет смысл. На наш взгляд острый и хронический эксперименты в биотестировании правильнее различать не только по их длительности, но и потому в каком поколении тест-организмов выявляется токсическое действие пробы воды. Если оно обнаруживается в первом поколении, то это острая токсичность, если в последующих – то хроническая. Тогда для водорослевых биотестов острая токсичность должна выявляться не по воздействию на рост культуры водоросли, а по изменению функционального состояния ее клеток, например, их фотосинтетической активности. Учитывая высокие продукционные характеристики данных тест-организмов, оба вида токсичности можно установить в течение одних – двое суток.

При биотестировании на водорослях токсичности сточных и загрязненных природных вод в ряде случаев наблюдается стимуляция их роста. Главная причина этого состоит в повышенном содержании в таких водах органических веществ, доступных для тест-организма. В результате перехода водорослевых клеток на миксотрофный тип питания, эти загрязнители повышают продукционную активность тест-организма. Для природного водоема поступление органических веществ, вызывая его эвтрофикацию, может сопровождаться таким неблагоприятным явлением, как «цветение» воды. Поэтому при обнаружении эффекта стимуляция при биотестировании воды на водорослях эти воды надо рассматривать как потенциально опасные и, следовательно, токсичные.

### **Заключение**

Таким образом, биотестирование токсичности воды, в первую очередь позволяет оперативно сигнализировать об опасности загрязнителей, которые сбрасываются в окружающую среду, и тем самым дает возможность предупредить возникновение в ней неблагоприятных экологических ситуаций. При этом проведение такого рода биологического анализа должно соответствовать целому ряду требований и условий выполнения.

### **Цитируемая литература**

1. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. Учеб. пособие для вузов под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Егоровой. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 288 с.
2. Приказ МПР России от 15.06.2001 № 511 «Об утверждении Критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды».
3. Приказ Минприроды России от 04.12.2014 N 536 "Об утверждении Критериев отнесения отходов к I - V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду".

# QUALITY ASSESSMENT OF AQUATIC ENVIRONMENTS METHODS OF BIOTESTING: THE TASKS AND HOW TO IMPROVE THE REPRODUCIBILITY OF THE RESULTS

Grigorev Yu.S.

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

Biotesting of water toxicity allows quickly to obtain information about the danger of pollutants in the environment. This makes it possible to prevent the occurrence in it of unfavorable environmental situations. Requirements to run this kind of biological analysis is considered.

## СОДЕРЖАНИЕ СЛЕДОВЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ СИМПАТРИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЩИПОВОК (TELEOSTEI, COBITIDAE) ИЗ ВЕРХОВЬЕВ ДНЕПРА

Демидова Т.Б., Голубцов А.С., Пельгунова Л.А., Медведев Д.А., Салтыкова Е.А.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), Москва, Россия; demidovatanya@mail.ru

### Аннотация

Методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии определено содержание восьми следовых элементов (Ti, Mn, Ni, Cu, Zn, Sr, Ba и Pb) в мышцах у золотистой щиповки *Sabanejewia baltica*, диплоидных самок и самцов *Cobitis taenia* и триплоидных клональных самок *Cobitis*, совместно обитающих в одной локальности верхнего течения Днепра. Выявлены различия по содержанию меди между триплоидными клональными самками *Cobitis* и диплоидными щиповками *C. taenia* в верховьях Днепра, половые различия по содержанию Pb и Zn у *C. taenia*, межвидовые различия по содержанию Ti, а также связь содержания Cu и Pb с индивидуальным размером рыб. Обсуждаются различия в содержании следовых элементов в качестве свидетельств расхождения экологических ниш у симпатрических форм щиповок.

**Ключевые слова:** диплоидно-полиплоидные комплексы; клональные формы; щиповки; рентгенофлуоресцентная спектроскопия; следовые элементы

### Введение

Сопоставление форм рыб, размножающихся путем гиногенеза и гибридогенеза, с двуполовыми организмами ставит вопрос об экологических аспектах облигатного существования двуполых и близких генетически и, очевидно, экологически однополых форм (Dawley, Bogart, 1989; Avise, 2008). По аналогии с принципом конкурентного исключения (Gause, 1934) для двуполых организмов, экологические ниши однополых форм и симпатричных им родственных двуполых видов (чья сперма необходима для воспроизводства однополых форм) должны расходиться. В литературе имеются прямые указания (Ritterbusch, Bohlen, 2000) на сходство экологических характеристик у клональных и симпатричных им двуполых родственников форм щиповок. Васильев с соавторами (Vasil'ev *et al.*, 2011) указывают, что однополые формы, обитающие совместно с видами, принимавшими участие в их формировании, занимают сходные с родительским видом экологические ниши, тогда как однополые формы, использующие сперму видов щиповок, не принимавших участие в их гибридном формировании, расходятся с этими симпатричными видами по предпочитаемым вне нерестового периода биотопам.

Состав и происхождение однополо-двуполых диплоидно-полиплоидных комплексов рода *Cobitis*, населяющих реки Центральной и Восточной Европы, варьиру-

ет от бассейна к бассейну (Васильев, Васильева, 1982; Васильев, 1990; Vasil'ev *et al.*, 2011; Janko *et al.*, 2012). Согласно данным Васильева с соавторами (Vasil'ev *et al.*, 2011), верховья Днепра населены однополо-двуполым комплексом, включающим двуполоую *Cobitis taenia* и единственную клональную триплоидную форму. Эта форма имеет тригибридное происхождение (*Cobitis taenia*-*C. rossomeridionalis*-*C. elongatoides*) и включает минимум пять независимых клонов (Лебедева, 2007). В западных притоках бассейна Средней Волги обитают совместно обыкновенная и сибирская щиповки, *Cobitis taenia* и *C. melanoleuca*, а также однополая триплоидная и тетраплоидные формы (Vasil'ev *et al.*, 2011).

Биоаккумуляция химических элементов, содержащихся в водоемах в следовых количествах, приводит к тому, что их концентрации в тканях гидробионтов могут на порядки превышать таковые в окружающей среде (Cowx, 1982; Подгурская и др., 2004; Гремячих и др., 2006; Fatima *et al.*, 2014). Хорошо известно, что интенсивность биоаккумуляции различных следовых элементов у представителей разных таксономических групп рыб, обитающих в одном водоеме, может сильно различаться (например, Cowx, 1982; Burger *et al.*, 2002), что очевидно связано с особенностями их физиологии и экологии.

В настоящей работе мы сравниваем содержание ряда следовых элементов в мышечной ткани клональных щиповок тригибридного происхождения (*Cobitis taenia* – *C. rossomeridionalis* – *C. elongatoides*) и бисексуальных обыкновенных щиповок (*Cobitis taenia*), полученных одновременно из небольшого участка верхнего течения реки Днепр, с целью проверки гипотезы о расхождении экологических ниш этих двух форм. Для сравнения привлечены данные по содержанию тех же элементов в мышечной ткани золотистых щиповок *Sabanejewia baltica*, добытых совместно с щиповками клонально-бисексуального комплекса *Cobitis*.

### Материалы и методы

Все исследованные особи отловлены с помощью рамной сети в средней части русла реки. Все пойманные рыбы были доставлены живыми в лабораторию, где рассортированы по родовой принадлежности в соответствии с характером окраски и на самок и самцов по относительной длине парных плавников и отсутствию/наличию органа Канестрини (Васильева, 2004). Для всех самок *Cobitis* были изготовлены хромосомные препараты из клеток передней части почек по стандартной методике (Васильев, 1978) воздушно-сухим методом и подсчитано число хромосом. Из выборки, пойманной в р. Днепр, всего исследовано 8 клональных триплоидных самок *Cobitis* (стандартной длиной  $L_S$  73-85 мм), 16 самок ( $L_S$  68-84 мм) и 27 самцов ( $L_S$  50-66 мм) диплоидной формы *Cobitis*, а также 11 самок ( $L_S$  48-76 мм) и 9 самцов ( $L_S$  48-68 мм) *Sabanejewia baltica*.

У всех щиповок брали навески белых скелетных мышц (около 1 г), высушивали при комнатной температуре. Далее образцы анализировались методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии с помощью спектрометра PicoTax TXRF (Bruker AXS, Германия). В силу отклонений статистических распределений большинства изучаемых показателей от нормального, при анализе применялись непараметрические методы статистики (критерий Манна-Уитни) с использованием пакета программ Statistica 7.0.

### Результаты

Для каждого образца одновременно получали данные по содержанию восьми следовых элементов: титана (Ti), марганца (Mn), никеля (Ni), меди (Cu), цинка (Zn), стронция (Sr), бария (Ba) и свинца (Pb). Содержание этих элементов в мышцах щи-

повок из верховьев Днепра представлено в таблице 1. Никаких различий между интересующими нас группами особей из верхнего течения Днепра по содержанию четырех следовых элементов – Mn, Ni, Sr и Ba – выявлено не было. При этом отрицательная корреляция содержания Ba с размером особей ( $L_S$ ) отмечена у самцов *Cobitis taenia* ( $r_s = -0.42, p < 0.03$ ). Объединенная выборка *Sabanejewia* превосходила объединенную выборку *Cobitis* по содержанию Ti,  $p < 0.04$ .

Клональные триплоидные самки *Cobitis* имели достоверно повышенное содержание Cu в сравнениях как с диплоидными самками и самцами *C. taenia* (Таблица 1,  $p < 0.04$  и  $p < 0.03$ , соответственно), так и с их объединенной выборкой –  $p < 0.02$ . Как у триплоидных, так и у диплоидных самок наблюдалась положительная корреляция содержания Cu с размером особей ( $L_S$ ):  $r_s = 0.77, p < 0.03$  и  $r_s = 0.60, p < 0.02$ , соответственно. Триплоидные самки были слегка крупнее диплоидных, но недостоверно. Как триплоидные, так и диплоидные самки, были существенно крупнее самцов *C. taenia*, распределения длин у них даже не перекрывались (см. Материалы и методы). Будучи существенно мельче и тех, и других самок *Cobitis*, самцы имели промежуточные значения содержания Cu в мышцах (Таблица 1), поэтому повышенное содержание Cu у триплоидных самок вряд ли можно объяснить только их крупным размером. Самцы *C. taenia* имели повышенное содержание Zn в сравнениях как с диплоидными самками *C. taenia* ( $p < 0.02$ ), так и с объединенной выборкой самок *Cobitis* (Таблица 1  $p < 0.02$ ), включавшей и диплоид-

**Таблица 1.** Содержание восьми следовых элементов (мг/кг воздушно-сухой массы) в мышцах золотистой (*Sabanejewia baltica*), двуполой обыкновенной (*Cobitis taenia*) и триплоидной клональной (*Cobitis taenia* – *C. rossomeridionalis* – *C. elongatoides*) щиповок из верхнего течения Днепра ( $m$  – медиана распределения,  $lim$  – пределы варьирования)

Следовые элементы	<i>Sabanejewia baltica</i>				<i>Cobitis taenia</i>				Клональные самки ( $n = 8$ )	
	Самки ( $n = 11$ )		Самцы ( $n = 9$ )		Самки ( $n = 16$ )		Самцы ( $n = 27$ )		$m$	$lim$
	$m$	$lim$	$M$	$lim$	$m$	$lim$	$m$	$Lim$		
Ti	0,102 <sup>1</sup>	0,016–0,426 <sup>1</sup>	0,243 <sup>2</sup>	0,056–1,030 <sup>2</sup>	0,079	0,016–1,700	0,079	0,019–2,060	0,090	0,020–1,100
Mn	56,70	24,60–368,90	43,70	5,98–274,90	69,10	9,80–187,10	41,52	6,99–377,80	29,05	14,82–123,10
Ni	11,60	2,95–162,90	13,60	2,91–56,39	18,00 <sup>3</sup>	6,49–69,20 <sup>3</sup>	17,30	6,98–190,60	11,34 <sup>4</sup>	6,90–30,60 <sup>4</sup>
Cu	29,7	7,5–109,5	27,3	13,1–55,7	22,6	10,9–107,7	25,6	12,2–69,1	33,9	24,8–91,5
Zn	142,4	128,2–161,2	131,7	126,7–165,3	139,7	109,3–182,5	144,2	128,8–180,5	138,8	125,8–158,9
Sr	12,90	11,50–17,60	13,36	10,50–17,20	12,95	10,90–15,30	13,78 <sup>5</sup>	12,34–18,11 <sup>5</sup>	12,75	10,90–15,21
Ba	27,50	14,48–36,80	30,70	25,70–37,05	30,80	15,20–37,20	28,10	12,80–38,70	29,45	12,90–41,50
Pb	1,64	0,63–7,78	1,06	0,51–6,17	1,40	0,70–3,67	1,95	1,00–3,63	1,29	0,87–2,08

<sup>1</sup>  $n = 10$ ; <sup>2</sup>  $n = 8$ ; <sup>3</sup>  $n = 14$ ; <sup>4</sup>  $n = 7$ ; <sup>5</sup>  $n = 26$ , объяснения в тексте

ных, и триплоидных особей. Самцы *C. taenia* имели также повышенное содержание Pb в сравнениях как с диплоидными и триплоидными самками *Cobitis* (Таблица 1,  $p < 0,02$  и  $p < 0,01$ , соответственно), так и с их объединенной выборкой  $p < 0,002$ . Кроме того, самцы имели более высокий уровень Pb по сравнению с объединенной выборкой самок и самцов *Sabanejewia* ( $p < 0,02$ ). У триплоидных самок *Cobitis* наблюдалась положительная корреляция ( $r_s = 0,72$ ,  $p < 0,05$ ) содержания Pb с размером особей ( $L_S$ ).

В ряде случаев наблюдались корреляции между содержанием тех или иных следовых элементов: у самок *Sabanejewia* содержание Ti положительно коррелировало с содержанием Ba; у самцов *Sabanejewia* содержание Ti положительно коррелировало с содержанием Zn, а содержание Cu – с содержанием Pb. У диплоидных самок *Cobitis taenia* содержание Ba положительно коррелировало с содержанием Mn и Zn, а содержание Ti отрицательно коррелировало с содержанием Mn и Sr. У самцов *Cobitis taenia* содержание Mn положительно коррелировало с содержанием Cu. У триплоидных самок *Cobitis* содержание Cu положительно коррелировало с содержанием Pb, а содержание Zn – с содержанием Ba (у всех  $r_s > 0,5$ ,  $p < 0,04$ ).

### Заключение

Наибольший интерес представляет превосходство по содержанию Cu триплоидных самок *Cobitis* над симпатричными им диплоидными самками и самцами *C.taenia*. При этом и у триплоидных, и у диплоидных самок наблюдалась положительная корреляция содержания этого элемента с индивидуальным размером, но достоверных различий в размере между триплоидными и диплоидными самками не выявлено, а существенно более мелкие самцы *C.taenia* характеризовались промежуточным содержанием Cu. Наиболее вероятное объяснение различий в мышечном содержании Cu – расхождение в интенсивности метаболизма (Masiak *et al.*, 2011). Можно допустить влияние различий в спектрах питания (Gray, Weeks, 2001). Такие различия могут быть опосредованы как размерными различиями форм внутри комплекса, так и расхождением форм по микростациям, или взаимодействием этих двух факторов, поскольку показано, что щиповки более мелкого размера предпочитают более мелкодисперсный субстрат (Slavik *et al.*, 2000). Теоретически трудно допустить полное совпадение спектров питания в природных условиях у особей с разным уровнем метаболизма. Те же объяснения применимы и к выявленным случаям половых различий по мышечному содержанию Pb и Zn, а также к межвидовым различиям по содержанию Ti и Zn.

Таким образом, на основе имеющихся у нас данных (как своих, так и литературных) невозможно с определенностью указать причины выявленных в настоящей работе различий в уровне содержания следовых элементов между симпатрическими формами щиповок. Более того, очевидно, что данные о различиях в содержании следовых элементов не могут заменить непосредственного изучения тех или иных экологических характеристик интересующих нас групп рыб. Тем не менее, различия в содержании меди между триплоидными самками *Cobitis* и диплоидными самками и самцами *C. taenia* могут являться предварительным свидетельством расхождения их экологических ниш.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-29-02772).

## Цитируемая литература

- Avise J.C. Clonality: the Genetics, Ecology, and Evolution of Sexual Abstinence in Vertebrates. Oxford: Oxford University Press, 2008. 237 p.
- Burger J., Gaines K.F., Shane Boring C.S. et al. 2002. Metal Levels in Fish from the Savannah River: Potential Hazards to Fish and Other Receptors // Environ. Res. 2002. V. 89A. P. 85–97.
- Cowx I.G. Concentrations of heavy metals in the tissues of trout *Salmo trutta* and char *Salvelinus alpinus* from two lakes in Northern Wales // Environ. Poll. Ser. A. 1982. V. 29. P. 101–110.
- Dawley R.M., Bogart J.P. (Eds). Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates. Albany, NY: New York State Museum, 1989. 302 p.
- Fatima M., Usmani N., Hossain M.M. et al. Assessment of genotoxic induction and deterioration of fish quality in commercial species due to heavy-metal exposure in an urban reservoir // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2014. V. 67. P. 203–213.
- Gray M.M., Weeks S.C. Niche breadth in clonal and sexual fish (Poeciliopsis): a test of the frozen niche variation model // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2001. V. 58. P. 1313–1318.
- Janko K., Kotusz J., De Gelas K. et al. Dynamic formation of asexual diploid and polyploid lineages: multilocus analysis of *Cobitis* reveals the mechanisms maintaining the diversity of clones // PLoS ONE. 2012. V. 7(9): e45384. doi:10.1371/journal.pone.0045384.
- Maciak S., Janko K., Kotusz J. et al. Standard metabolic rate (SMR) is inversely related to erythrocyte and genome size in allopolyploid fish of the *Cobitis taenia* hybrid complex // Funct. Ecol. 2011. V. 25. P. 1072–1078.
- Ritterbusch D., Bohlen J. On the ecology of spined loach in Lake Müggelsee // Folia Zool. 2000. V. 49 (Suppl. 1). P. 187–192.
- Slavik O., Mattas D., Jiřinec R., Bartoš L., Rebec J. Substratum selection by different sizes of spined loach *Cobitis* sp. // Folia Zool. 2000. V. 49 (Suppl. 1). P. 167–172.
- Vasil'ev V.P., Lebedeva E.B., Vasil'eva E.D. Evolutionary ecology of clonal-bisexual complexes in spined loaches from genus *Cobitis* (Pisces, Cobitidae) // J. Ichthyol. 2011. V. 51. P. 932–940.
- Васильев В.П. Хромосомный полиморфизм у смариды – *Spicara smaris* (Pisces, Centranchthidae) // Зоол. журн. 1978. Т. 57. С. 1276–1278.
- Васильев В.П. Диплоидно-триплоидный комплекс щиповок в р. *Cobitis* (Pisces, Cobitidae) // ДАН РАН. 1990. Т. 312. С. 249–252.
- Васильев В.П., Васильева Е.Д. Новый диплоидно-полиплоидный комплекс у рыб // ДАН РАН. 1982. Т. 226. С. 250–252.
- Васильева Е.Д. Популярный атлас-определитель. Рыбы. М.: Дрофа, 2004. 400 с.
- Гремячих В.А., Гребенюк Л.П., Комов В.Т., Степанова И.К. Накопление ртуты и ее тератогенное действие на личинок *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) // Биология внутр. вод. 2006. № 1. С. 99–107.
- Лебедева Е.Б. Структура и распространение клонально-бисексуальных комплексов рыб р. *Cobitis* (Cobitidae): Автореф. дис. канд. биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН, 2007. 25 с.
- Подгурская О.В., Кавун В.Я., Лукьянова О.Н. Аккумуляция и распределение тяжелых металлов в органах мидии *Srenomytilus grajanus* и *Modiolus modiolus* из районов апвеллингов Охотского и Японского морей // Биол. моря. 2004. Т. 30. № 3. С. 219–226.

## CONTENT OF TRACE ELEMENTS AS INDICATOR OF ECOLOGICAL DIVERGENCE BETWEEN SYMPATRIC SPINY LOACHES (TELEOSTEI, COBITIDAE) FROM THE UPPER DNIPER

**T. B. Demidova, Golubtsov S., L. A. Pelgunova, D. A. Medvedev, E. A. Saltykova**

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The method of X-ray fluorescence spectroscopy determined the content of eight trace elements (Ti, Mn, Ni, Cu, Zn, Sr, Ba and Pb) in muscles of loach species: golden loach (*Sabanejewia baltica*), diploid males and females of *Cobitis taenia* and triploid clonal females (*Cobitis*) living together in the same locality (the upper reaches of the Dniiper). The differences were revealed in Cu content between the clonal triploid *Cobitis* females and diploid *C. taenia* females in the upper reaches of the Dnieper. Intersexual differences in the content of Pb and Zn were revealed between *C. taenia* males and females; interspecific differences in the content of

Ti were revealed between loach species. Also significant relationships between concentrations of Cu and Pb and standard length of the fish were revealed. Discussion is devoted to the possibility of using differences in the content of trace elements as indicators of differences in ecological niches of sympatric loach forms.

## **FROM SOIL TO SOIL: EFFECTS OF TREATED SEWAGE SLUDGE APPLICATIONS ON HEAVY METAL CONTENTS OF CORN AND SECOND CROP WHEAT GRAINS GROWN IN SANDY LOAM SOIL**

**Delibacak Sezai, Ogun Ali Rıza**

Ege University Faculty of Agriculture Department of Soil Science and Plant Nutrition, Bornova, İzmir, Turkey, sezai.delibacak@ege.edu.tr

### **Abstract**

Wastes and by-products, which are organic residual from different processes, have beneficial properties when added to soil. When correctly applied, organic residues can restore soil quality, by balancing pH, increasing soil organic matter (OM), enlarging carbon reservoirs, increasing porosity, soil aggregation and water retention capacity, improving fertility and stimulating microbial communities. Thus, amelioration of soil conditions enables vegetation development, increasing productivity. Treated sewage sludge (TSS) is an ultimate product of municipal wastewater treatment plant and highly enriched in OM. The use of sewage sludge in agriculture is one of the most important alternatives. Applying sewage sludge determines the modification of soil physical, chemical and biological characteristics and getting higher yields, as compared to the unfertilized control. The sewage sludge, rich in organic matter and mineral elements for plants, can be a substitute for the fertilization but also a source of heavy metals pollution for soil, when high rates are applied or when it is used for many years on the same field. In this study, effect of consecutively two years treated sewage sludge (TSS) applications on heavy metal content of corn and second crop wheat grains grown in a sandy loam soil was investigated. The experiment was conducted in the experimental fields of Ege Agricultural Research Institute during 2011-2012 in Menemen-Izmir Turkey. The field study was conducted in 20 plots in a randomized-block design with four replications and five different applications including control, mineral fertilizer, TSS 12.5 t.ha<sup>-1</sup>; 25.0 t.ha<sup>-1</sup>; 37.5 t.ha<sup>-1</sup> as dry matter. Corn (*Zea mays* L. var. ZP 737) was the first crop, wheat (*Triticum durum* L. var. Ege 88) was second crop. The average Cu, Cr, Ni, Pb and Zn concentrations of the corn grains did not increase with consecutively two years TSS applications. But Cu concentration of the second year corn grains increased with consecutively two years TSS applications. Despite these increases all heavy metal concentrations of corn were found under the threshold values for human health. Meanwhile, Cd did not be determined in the corn grains. Cu, Cr, Cd, Ni and Zn concentrations of the wheat grains did not increase with TSS applications. Pb did not be determined in the wheat grains samples. All heavy metal concentrations of corn and wheat grains were found under the threshold values for human health. It is recommended that 37.5 t.ha<sup>-1</sup> TSS of Izmir city can be used once in a 2-year period for improving properties of sandy loam soil under Mediterranean climate, which are characterized by low OM content and high pH for corn and wheat growth without having any heavy metal problems.

**Keywords:** corn, heavy metals, treated sewage sludge, sandy loam soil, wheat

We thank the Scientific and Technical Research Council of Turkey (TUBITAK) for financial support (Project no: 108G167).



# АЛЬГОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ МОСКВЫ

Дорохова М.Ф.

Географический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; dorochova@mail.ru

## Аннотация

Изучен состав и структура сообществ микроводорослей в почвах разных функциональных зон двух административных округов г. Москвы. Установлено, что на ценотическом уровне водоросли являются чувствительными индикаторами общего уровня антропогенного воздействия на почву в условиях города, при этом их состав отражает интенсивность изменения щелочно-кислотных условий и общего содержания водорастворимых солей.

**Ключевые слова:** альгоиндикация, микроводоросли, урбаноземы, антропогенная трансформация

## Введение

Микроскопические фотосинтезирующие организмы – водоросли – являются постоянным компонентом почвенной микробиоты, представляя ее фототрофный блок. Они обладают высокой чувствительностью к трансформации свойств почвы (щелочно-кислотных условий, содержания водорастворимых солей, уровня содержания потенциально токсичных веществ) и быстро реагируют на изменение среды обитания. В трансформированных почвах происходит перестройка видового состава и структуры сообществ водорослей, направление и глубина которой отражают интегральное действие комплекса антропогенных факторов на почву, что лежит в основе метода альгоиндикации. Данные, полученные этим методом, дополняют сведения о геохимическом состоянии почвы и находят применение при оценке состояния городских почв (Москвич, 1972; Кабиров, 1991; Яковлев, 1997; Домрачева и др., 2012). Для индикации состояния почв г. Москвы почвенные водоросли были впервые использованы А.С. Яковлевым (1997). Его исследования показали, что сообщества почвенных водорослей претерпевают существенные структурные изменения, отражающие степень антропогенной трансформации городских почв в разных функциональных зонах мегаполиса. В этой пионерной работе, однако, не рассматривалось влияние такого важного для г. Москвы фактора воздействия на почвенную микробиоту, как антропогенное засоление городских почв вследствие сезонного внесения противогололедных реагентов. Несмотря на перспективность метода альгоиндикации для мониторинга городской среды, подобные исследования в г. Москве больше не проводились, что определяет их актуальность в современных условиях.

Цель данной работы заключалась в выявлении особенностей состава и структуры водорослевых сообществ для индикации основных направлений и степени трансформации почв г. Москвы.

## Материалы и методы

Исследования проведены в Северо-Западном (СЗАО) и Западном (ЗАО) административных округах г. Москвы. СЗАО характеризуется давним промышленным освоением, наличием двух междугородних автостанций и железнодорожного транспорта; в его пределах были изучены промышленная, транспортная и селитебная функциональные зоны. Особенностью функциональной структуры в СЗАО является вклинивание промышленной зоны в жилые кварталы. ЗАО относится к районам с незначительным развитием промышленных производств, основным агентом антропогенного воздействия является автомобильный транспорт; были изучены транспортная и селитебная функциональные зоны. Зимой дополнительным источником

антропогенного воздействия на почвы во всех районах города становятся противогололедные реагенты. Противогололедные смеси в настоящее время используют на автомагистралях, тротуарах в жилых кварталах, в промышленных и даже в рекреационных зонах г. Москвы. Во всех функциональных зонах почвы представлены урбаноземами, которые развиваются под сеянными сорнотравно-злаковыми группировками на газонах.

Фоновые освоенные дерново-подзолистые почвы изучены в Одинцовском районе Московской области. В настоящее время они развиваются под сеянными луговыми сообществами с преобладанием тимофеевки луговой.

Объектом исследования послужили поверхностные (0-5 см) горизонты почв, испытывающие наиболее сильное антропогенное воздействие. Пробы почв с соблюдением стерильности были отобраны весной, после схода снежного покрова, в разных функциональных зонах города и на фоновом участке. Почвенные водоросли изучены общепринятыми в почвенной альгологии методами (Голлербах, Штина, 1969). Экологические характеристики диатомовых водорослей-индикаторов щелочно-кислотных условий и содержания водорастворимых солей взяты из монографии С.С. Бариновой с соавторами (2006).

### Результаты

В фоновых освоенных дерново-подзолистых почвах под луговыми сообществами наиболее разнообразны зеленые и синезеленые водоросли (рис. 1), что свойственно незагрязненным дерново-подзолистым почвам под травянистыми фитоценозами. Развитию синезеленых и диатомовых водорослей способствует отсутствие опада на поверхности почвы весной, поэтому они постоянно входят в комплекс доминирующих видов наряду с нитчатыми зелеными водорослями (Голлербах, Штина, 1969).

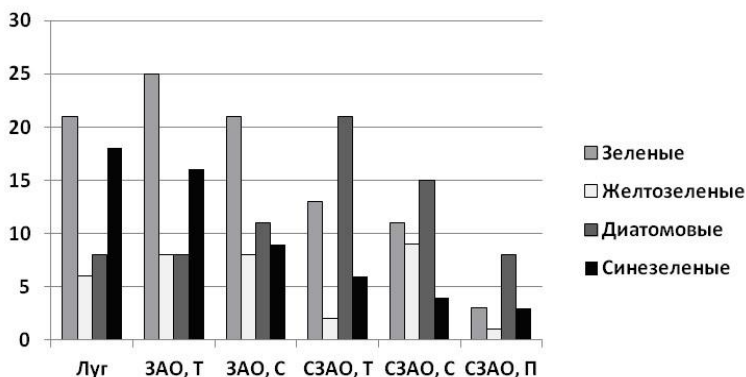


Рисунок 1. Число видов водорослей в фоновых дерново-подзолистых почвах (луг) и в почвах г. Москвы на газонах: Т – транспортная, С – селитебная, П – промышленная функциональные зоны

В городских почвах газонов отсутствие подстилки на поверхности так же, как и в фоновых дерново-подзолистых почвах под луговой растительностью, благоприятствует развитию синезеленых и диатомовых водорослей. В то же время антропогенная трансформация почв в городе (подщелачивание, загрязнение тяжелыми металлами и сезонное засоление) во всех группах водорослей (включая синезеленые и диатомовые) «отбирает» виды, способные расти в условиях городской среды. В урбаноземах появляются виды водорослей, устойчивые к высокому содержанию водорастворимых со-

лей, тяжелым металлам и предпочитающие нейтральную и щелочную среду. При этом чувствительные к антропогенному воздействию виды исчезают, видовой состав водорослей в городских почвах по сравнению с фоновыми освоенными дерново-подзолистыми почвами под луговыми сообществами существенно изменяется. Глубина этих изменений отражается в первую очередь на соотношении основных отделов водорослей в сообществах и их общем видовом разнообразии. Структура водорослевых сообществ, аналогичная таковой в фоновых почвах, сохраняется только в урбано-земах транспортной зоны ЗАО, как и высокий уровень видового разнообразия водорослей (рис. 1), что соответствует наименьшему интегральному антропогенному изменению свойств почв. Нарастание антропогенной нагрузки в изученном ряду городских почв приводит к увеличению разнообразия и роли диатомовых в водорослевых сообществах, что проявляется уже в урбано-земах селитебной зоны ЗАО, но наиболее ярко выражено в урбано-земах СЗАО. В промышленной функциональной зоне СЗАО также в наибольшей степени проявляется уменьшение видового разнообразия водорослевых сообществ. Это свидетельствует о высоком уровне антропогенной нагрузки на почвы, что подтверждают полученные нами данные о химическом составе почв (Дорохова и др., 2015).

О глубине перестройки видового состава сообществ водорослей, обитающих в городских почвах, можно судить по соотношению экологических групп диатомовых водорослей-индикаторов факторов внешней среды. Особенно информативными при этом являются данные о соотношении видов-индикаторов уровня содержания солей и щелочно-кислотных условий, позволяющие выявить многолетнюю интенсивность засоления и изменения pH в городских почвах. Среди видов-индикаторов наибольшее количество данных имеется для диатомовых водорослей (Баринова и др., 2006), поэтому соотношение экологических групп было изучено для комплекса диатомовых водорослей.

В освоенных дерново-подзолистых почвах фонового участка в составе диатомовых водорослей галофильные виды отсутствуют, что свидетельствует о низком содержании в почвах водорастворимых солей. Доля алкалофильных видов диатомовых (предпочитающих щелочную среду) составляет в них 40%, что указывает на периодическое извешивание почв.

Во всех изученных урбано-земах галофильные виды диатомовых водорослей являются характерным компонентом водорослевых сообществ: в селитебной и транспортной зонах ЗАО и СЗАО они составляют 18-33% от общего числа видов диатомовых, а в промышленной зоне СЗАО – 40%. Это свидетельствует о хроническом сезонном засолении почв, подтвержденном данными их химических исследований. Выявлены виды-индикаторы засоления почв - *Luticola ventricosa* (Kütz.) Mann, *Luticola nivalis* (Ehr.) Mann.

В урбано-земах всех функциональных зон ЗАО и СЗАО антропогенное подщелачивание почв вызывает локальное увеличение доли алкалофильных видов выше фоновых значений. Максимальная доля алкалофильных видов диатомовых водорослей (60%) обнаружена вблизи МКАД, в некоторых дворах и в промышленной зоне СЗАО.

## Заключение

1. Антропогенное воздействие на почвы в г. Москве приводит к формированию специфических сообществ почвенных микроводорослей, основу которых составляют виды, устойчивые к засолению почв и подщелачиванию, загрязнению их тяжелыми металлами и другими поллютантами и сильной инсоляции. Интенсивность

интегрального воздействия этих факторов проявляется в таких показателях водорослевых сообществ, как структура и общее видовое разнообразие.

2. Соотношение индикаторных видов диатомовых в сообществах городских почв отражает интенсивность их подщелачивания и сезонного засоления.

3. Совокупность параметров водорослевых сообществ свидетельствует в целом о более интенсивной антропогенной нагрузке на почвы в СЗАО (по сравнению с ЗАО), что соответствует данным о химическом составе изученных городских почв.

4. Результаты показывают перспективность использования почвенных водорослей в качестве биоиндикаторов состояния городских почв.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке Русского географического общества (договор № 07/2014-П1).

### **Цитируемая литература**

- Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив: Pilies Studio, 2006. 498 с.
- Голлербах М.М., Штина Э.А. Почвенные водоросли. Л.: Наука, 1969. 228 с.
- Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Зыкова Ю.Н., Ефремова В.А. Альго-цианомикологические комплексы в городских почвах // Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока / Под ред. Т.Я. Ашихминой, Л.И. Домрачевой. Киров: Изд-во ВятГУ, 2012. С. 120-168.
- Дорохова М.Ф., Кошелева Н.Е., Терская Е.В. Экологическое состояние городских почв в условиях антропогенного засоления и загрязнения (на примере Северо-Западного округа Москвы) // Теоретическая и прикладная экология. 2015, №4. С. 11-20.
- Кабиров Р.Р. Почвенные водоросли техногенных ландшафтов: Дисс.... д.б.н. / Санкт-Петербургский гос. университет, биологический факультет. С.-П., 1991. 345 с.
- Москвич Н.П. Альгологическая характеристика и санитарное состояние городских почв: Дис....к.б.н. Ворошиловград, 1972. 255 с.
- Яковлев А.С. Биологическая диагностика целинных и антропогенно измененных почв: Дисс.... д.б.н. / МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения. М., 1997. 335 с.

## **ALGAE INDICATION OF SOIL CONDITION IN MOSCOW**

**Dorokhova M.F.**

MSU, Moscow, Russia

Composition and structure of microalgae communities in soils of different functional zones of two administrative districts in Moscow were studied. It was found that algae are sensible indicators of anthropogenic impact on soil in urban environment, the composition of algae communities correlate with the intensity of changes in pH conditions and total amount of water-soluble salts.

# ВЛИЯНИЕ ФОСФОГИПСА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дунаева О.Ю., Пукальчик М.А., Каниськин М.А.

Факультет почвоведения, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; olgadunaeva93@mail.ru

## Аннотация

Проведена оценка влияния различных доз фосфогипса (0, 1, 3, 7.5, 14.5, 25 и 40%) на ферментативный комплекс дерново-подзолистых почв в вегетационном опыте. На основании результатов оценки активности уреазы, активности общих гидролаз (ФДА) и фосфатазы через 7 и 28 суток с момента внесения фосфогипса установлено, что 3,25% ФГ в почвах не приводит к нарушению равновесия ферментативного комплекса. Показано, что по степени чувствительности к действию фосфогипса исследованные ферменты можно расположить в следующий ряд: уреазы > кислотная фосфатаза = ФДА.

**Ключевые слова:** нормирование, оценка почв, ферменты, загрязнение

## Введение

Фосфогипс (ФГ) – крупнотоннажный техногенный побочный продукт производства экстракционной фосфорной кислоты (ЭФК), получаемой при разложении фосфоритных и апатитовых руд смесью серной и фосфорной кислот. По составу он более чем на 90% состоит из гипса, в связи с чем может быть использован для производства гипсосодержащей продукции (например, строительных материалов). Для переработки фосфогипса в гипсосодержащую продукцию разработаны в установленном порядке ряд технологических решений, но существующие востребованные объемы продукции из фосфогипса не обеспечивают возможности переработки всего образующегося объема даже наполовину. Поэтому основные количества образующегося фосфогипса подлежат размещению. На территории Российской Федерации крупнейшие объекты размещения ФГ расположены в европейской части вблизи крупных городов: на территории Московской области (г. Воскресенск), Саратовской области (Балаково), в Республике Башкирия (г. Мелеуз), Краснодарский край (Белореченск) и др. Исследования, проводимые различными коллективами ученых по изучению воздействия этих объектов размещения отходов показывают, что токсичные компоненты фосфогипса способны оказывать негативное действие на химические и биологические показатели почв (Воронин и др. 2006; Yakovlev et al. 2013; Плеханова, Аймалетдинов, 2014). Однако влияние ФГ на дерново-подзолистые почвы, занимающие более 15% территории России, изучено явно недостаточно. Целью работы являлось изучение влияния фосфогипса на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте.

## Материалы и методы

В эксперименте использовали фоновые дерново-подзолистые среднесуглинистые почвы, отобранные летом 2016 года в Воскресенском р-не Московской области. Почву отбирали методом «конверта» с участка 10x10 м с глубины 0-20 см, квартовали, усредненный образец доводили до воздушно-сухого состояния, отбирали корни растений, и просеивали через сито 1 мм. Фосфогипс, используемый в экспериментах, представлял собой продукт переработки фосфатного апатитового сырья (хибинского апатита Кировского месторождения). Исследовали варианты внесения ФГ – 0 (контроль), 1.0, 3.0, 7.5, 14.5, 25.0, 40.0 % от массы почвы, что соответствовало 0, 26, 78, 195, 650 и 1040 т/га. Навески почвы массой 0,2 кг помещали в вегетационные сосуды, вносили навески ФГ, тщательно перемешивали шпателем и увлажняли так, что-

бы итоговая влажность субстратов составляла 60 % от ППВ. Контроль влажности опытных емкостей осуществляли весовым методом, потеря веса за счет испарения воды в каждом сосуде не должна была превышать 5%. Повторность каждого опыта – трёхкратная. Полученные смеси инкубировали при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 28 суток. На 7-, и 28-е сутки с момента начала эксперимента серию образцов отбирали для оценки ферментативной активности.

Активность кислотных фосфоэстераз (**фосфатазы**) определяли по методу Tabatabai, Bremner (1969). 1 г почвы помещали в пробирки, вливали 4 мл универсального буферного раствора MUB (pH 6,5) и 1 мл 5 мМ р-ра пара-нитрофенил фосфата натрия. Пробирки закрывали и инкубировали в термостате 2 ч при  $37^\circ\text{C}$ . Образовавшийся в ходе реакции пара-нитрофенол (пНФ) экстрагировали 1 мл 0,5 М  $\text{CaCl}_2$  и 4 мл 0,5 М NaOH. Оптическую плотность получившихся окрашенных растворов определяли после фильтрования проб через фильтр «белая лента» при 405 нм. Показания прибора пересчитывали по калибровочной кривой в  $\text{мкг пНФ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ .

Определение общей гидролазной активности (**ФДА**) проводили в соответствии по методике Якушева, Бызовой (2009). Навески почвы по 1 г помещали в пробирки, после чего приливали по 0,1 мл раствора диацетата флюоресцеина в ацетоне (2 г/л) и 10 мл 0,1 М калий-фосфатного буфера (pH=7,6). Длительность инкубации 1 час при  $30^\circ\text{C}$ , оптическую плотность растворов определяли после центрифугирования (2000 об., 3 мин) на 490 нм. Показания прибора пересчитывали по калибровочной кривой в  $\mu\text{г Флуоресцеина} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ .

Определение активности **уреазы** проводили по методу Kong и др. (2009). К навеске почвы 1 г приливали 2 мл калий-фосфатного буферного раствора (pH 6,7), 0,1 мл толуола и 2 мл 10% р-ра мочевины. Длительность инкубации 48 ч при  $37^\circ\text{C}$ , после чего в пробирки вносили по 4 мл 1 М KCl и 30 минут перемешивали на орбитальном шейкере (180 об/мин). После фильтрования через фильтр «белая лента» 1 мл аликвоты переносили в мерные колбы на 25 мл, в которые вносили дистиллированную воду, 4 мл 1 М NaOH, 1 мл 50% водного раствора сегнетовой соли, 0,4 мл р-ва Несслера и доводили объем до метки. Оптическую плотность измеряли на светофильтре с длиной волны 460 нм. Результаты пересчитывали в  $\mu\text{г NH}_3 \cdot \text{г}^{-1} \cdot 24 \text{ ч}^{-1}$  по калибровочной кривой.

Получившиеся значения оптической плотности корректировали с учетом холостых опытов для почвы после стерилизации ( $150^\circ\text{C}$ , 3 ч) и с учетом влажности образцов.

### Результаты

ФГ не оказывал действие на активность гидролаз, фосфатаз и дегидрогеназ в дерново-подзолистых почвах, между вариантами с внесением и без внесения фосфогипса не отмечено существенных различий в активности этих ферментов (рис. 1 А, Б): варианты с содержанием от 1 до 25% ФГ не отличались от контрольных значений в большинстве вариантов, а в ряде случаев наблюдали стимулирующее влияние. К примеру, в пробах с 1 % и 3% ФГ активность гидролаз, измеренная на 7 сутки, увеличилась на 42-44%, кислотных фосфатаз на 10-33%, а в пробах содержащих более 15% ФГ активность дегидрогеназ увеличилась более чем на 15%. Одной из возможных причин низкой чувствительности этих ферментов к возрастающим дозам ФГ может являться тяжелый гранулометрический состав почвы, который мог обеспечить адсорбции ферментов в межплоскостных пространствах глин и защитить от действия ингибирующих факторов (Zhang et al 2015).

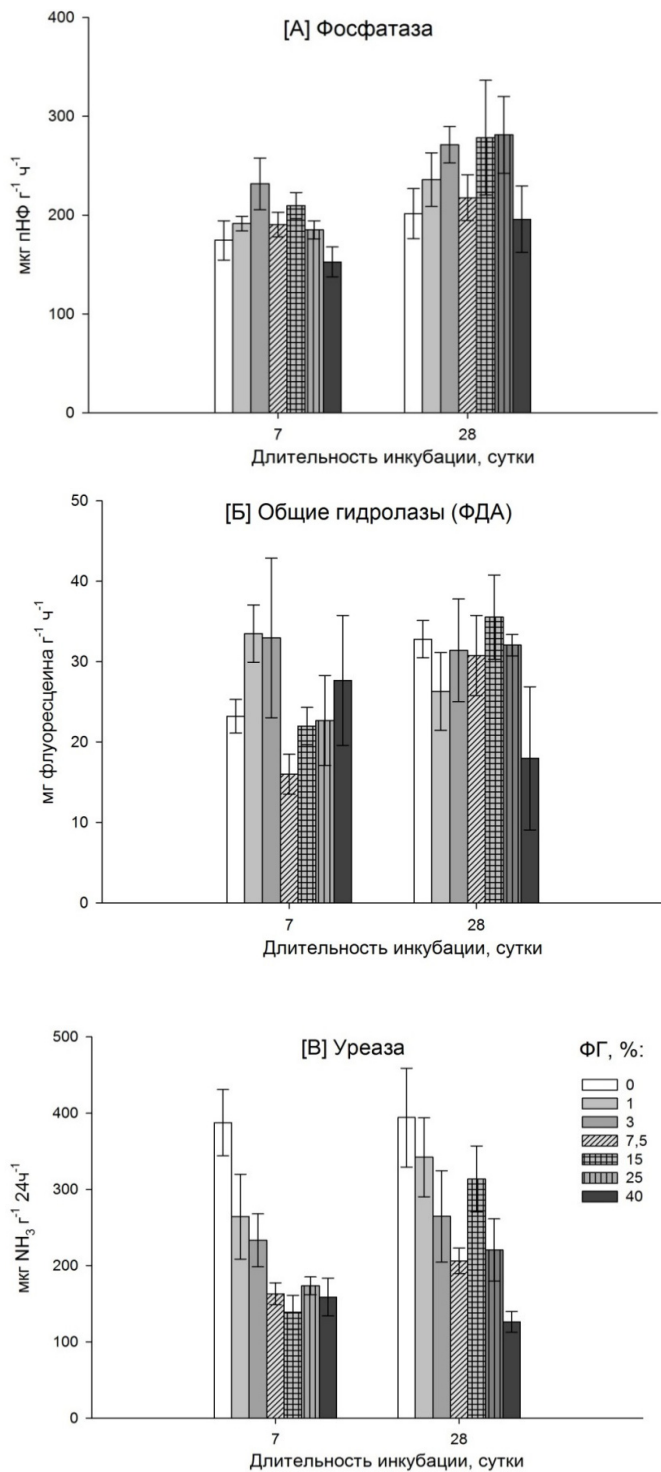


Рисунок 1. Влияние различных доз фосфогипса на ферментативную активность дерново-подзолистых почв в модельном эксперименте: А – активность кислотных фосфатаз; Б – активность общих гидролаз (ФДА); В – активность уреазы.

Среди измеренных показателей наибольшей чувствительностью к внесению ФГ характеризовался показатель активности почвенных уреаз. Уреазы входят в группу амидаз, вызывающих расщепление связей NH–CO в молекулах органического происхождения. В литературе сообщается, что Zn, Pb и Cd, также как и снижение гидролитической кислотности почв, ингибируют активность этого фермента (Kim et al., 2008). Экспериментальные данные выявили достоверное ингибирование активности уреазы ( $p < 0.05$ ) под действием ФГ, относительно контрольных образцов (рис 1 В). Так, при внесении 1% ФГ наблюдали 36% снижение активности уреазы на 7-е сутки, и 33% при внесении 3% ФГ на 28-е сутки эксперимента. В максимальной дозе внесения (40% ФГ) отклонение от контроля составило 59 и 68 % на 7-е и 28-е сутки соответственно.

В расчетах допустимого содержания ФГ в дерново-подзолистой почве мы ориентировались на самый «чувствительный» показатель, при котором наблюдали достоверные изменения относительно контроля – активность уреазы. Результаты расчетов, полученные с использованием регрессионной модели (log-log из пакета программ XLSTAT Ecology, Addinsoft) показали, что при содержании ФГ 3,25% наблюдается достоверное изменение активности уреазы и на 7-е и на 28-е сутки более чем на 20% от контроля ( $EC_{20}$ ).

### **Заключение**

Методами биоиндикации по ферментативному комплексу почв (ферменты, связанные с малыми круговоротами элементов N, P и C) охарактеризована влияние фосфогипса на почвенную биоту. Показано, что по степени чувствительности к действию фосфогипса исследованные ферменты можно расположить в следующий ряд: уреазы > кислотная фосфатаза = ФДА.

### **Благодарности**

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00063 мол\_а.

### **Цитируемая литература**

- Воронин А.А., Протасова Н.А., Беспалова Н.С. Динамика ферментативной активности чернозема обыкновенного в условиях полевого стационарного опыта Федерального полигона «Каменная степь» // Вестник ВГУ. 2006. №2. С. 18-25
- Плеханова И.О., Аймалетдинов Р.А. Влияние отходов производства фосфорных удобрений на экологическое состояние близлежащих территорий. // Проблемы агрохимии и экологии. 2014. №1. С. 50-54.
- Якушев А.В., Бызова Б.А. Гидролазная активность как показатель состояния микробного сообщества вермикомпоста // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. - 2009 - № 2. - С. 41-46.
- Kim B., McBride M.B., Hay A.G., 2008. Urease activity in aged copper and zinc-spiked soils: relationship to CaCl<sub>2</sub>-extractable metals and Cu<sup>2+</sup> activity// Environ. Toxicol. Chem. 27, 2469–2475
- Kong L., Wang Y-B., Zhao L-N., Chen Z-H. Enzyme and root activities in surface-flow constructed wetlands // Chemosphere. - 2009 - Vol. 76. - PP. 601-608. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.04.056
- Tabatabai MA, Bremner JM Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity // Soil Biol Biochem. - 1969 – Vol. 1. – PP 301-307.
- Zhang Q., Zhou W., Liang G., Sun J., Wang X., He P. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment // Applied Soil Ecology–2015–Vol 94. PP 59-71. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.05.005
- Yakovlev, A. S.; Kaniskin, M. A.; Terekhova, V. A. 2013. Ecological evaluation of artificial soils treated with phosphogypsum // Eurasian soil science 46 (6): 697-703. doi:10.1134/S1064229313060124



## ENZYME ACTIVITIES AS AFFECTED BY CONTAMINATION OF SOD-PODZOLIC SOILS WITH PHOSPHOGYPSUM

Dunaeva O.Yu., Pukalchik M.A., Kaniskin M.A.

Faculty of Soil Sciences, MSU, Moscow, Russia

Phosphogypsum (PG) is produced as a solid waste from phosphatic fertilizer plants. The waste slurry is disposed off in settling ponds or in heaps. This solid waste is now increasingly being used as a calcium supplement in agriculture. This study reports the effect of PG amendment on soil enzymes activity such as urease, hydrolysis of the fluorescein diacetate (FDA) and phosphatase over an incubation period of 28 days. We conducted a greenhouse pot experiment with sod podzolic soil to assess the influence of PG (0, 3, 7.5, 10, 14, 25 and 40%). The soil treated with PG significantly decreased the urease activity (up to 50% in the 40% PG) and had no influence on dehydrogenase and acidic phosphatase activities. Considering the activities of the three soil enzymes in the control and amended sets, it appears that 3.25% PG amendment is optimal for soil enzyme activities.

## ЭМБРИОГЕНЕЗ КОНЕЧНОСТЕЙ ЛИЧИНОК ЛЯГУШКИ ТРАВЯНОЙ В НОРМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ТИРЕОИДНЫМ ГОРМОНОМ

Едемская В.А.

ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; veronicha98@yandex.ru

### Аннотация

Доклад посвящен изучению эмбриогенеза личинок амфибий в природных (нормальных условиях) и особенностям этого процесса в экспериментальных водоемах (с добавлением в водную среду тиреоидного гормона в дозе 6мг/л), что и стало целью исследования. Результаты исследования имеют высокую актуальность в связи с возможностью использовать ранний эмбриогенез амфибий как экспресс-тест состояния и качества воды во временных природных водоемах весной, в виде микрокосма в лабораторных условиях с оценкой состояния популяции изучаемых амфибий (плотность, особенности питания и внутривидовой конкуренции) и как модель фундаментальных исследований эмбриогенеза опорно-двигательного аппарата в норме и при воздействии высоких доз гормона. Эмбрионы раскладывались на серии сагиттальных срезов, окрашивались гематоксилин-эозином, анализировались и фотографировались. Далее проводилась окраска ализариновым синим и ализариновым красным. Были сделаны три вида замеров головастика: длина тела (от начала головы до хвоста), длина хвоста, длина задней конечности. На основе полученных замеров вычислялась средняя арифметическая для каждой стадии, ошибка среднего, строились графики. Элементы скелета конечности последовательно проходят стадии развития от мезенхимной (39 стадия) до хрящевой (45 стадия) и начала оксификации (46 стадия). Рост конечностей неравномерный, отмечены периоды стабильного роста – от 43 до 47 стадий. С 48 стадии происходит резкий скачок в размерах (почти в 2 раза). Это может быть объяснено тем, что к 47 стадии основные хрящевые элементы скелета уже сформированы и идет усиленное вытяжение конечностей, прежде чем начнет формироваться молодая костная ткань. Выявлены периоды неравномерного роста личинок, особенности роста и развития при плотном выращивании личинок (замедление роста, отставание гистогенеза), были обнаружены отклонения от нормы в развитии личинок *Rana temporaria* под воздействием тиреоидного гормона: неразделение фаланг пальцев задней конечности, появление слабо развитых закладок дополнительной конечности, что может быть элементом внутривидовой конкуренции за территорию и пищевые резервы. Результаты указывают на важность и актуальность развития изучения эмбриогенеза животных под влиянием гормональных препаратов.

**Ключевые слова:** эмбриогенез, гормональный препарат, эутирокс, амфибии

## Введение

Проблема загрязнения окружающей среды с каждым годом обостряется. Это сказывается на состоянии экосистем и, непосредственно, на водных природных объектах. Следы химических соединений, входящих в состав антидепрессантов, антибиотиков и прочих лекарств находятся повсеместно. Серьезный урон наносят фармацевтические препараты, особенно гормональные, которые попадают в воду через канализацию, или же после отправки их на мусорную свалку смываются дождем в грунт. Хотя медикаменты и используются в малых дозах, но человеческий организм большую их часть не усваивает или разлагает, а выводит наружу. Таким образом, сильнодействующие и химически активные вещества, нехарактерные для "дикой" природы, хоть и в мизерных концентрациях, но попадают на поверхностные воды. Дальнейшее накопление или распад лекарственных препаратов и гормональных веществ в окружающей среде – процесс не изученный до конца, но главное, современные технологии не способны очистить воду от гормонов.

Результаты исследования имеют высокую актуальность в связи с возможностью использовать ранний эмбриогенез амфибий как экспресс-тест состояния и качества воды во временных природных водоемах весной, в виде микрокосма в лабораторных условиях с оценкой состояния популяции изучаемых амфибий (плотность, особенности питания и внутривидовой прессинг) и как модель фундаментальных исследований эмбриогенеза опорно-двигательного аппарата в норме и при воздействии высоких доз гормона.

Лягушка травяная (*Rana temporaria*) является самым распространенным и удобным лабораторным животным, с которым имеют дело работники различных специальностей. Легкость добывания, живучесть, подходящие размеры – вот главные свойства, сделавшие ее издавна излюбленным животным для изучения. Помимо этого, лягушка является прекрасным объектом для исследования эмбрионального развития: формирования, развития и закладки различных систем. Преимуществом этого является возможность исследовать развитие не только путем изучения постоянных эмбриологических препаратов, но и непосредственно визуально оценивать особенности развития.

Эутирокс – препарат гормонов щитовидной железы, синтетический левовращающийся изомер тироксина. В организме человека Эутирокс влияет на обмен веществ, рост и развитие тканей. Применяется с целью восполнения гормонального дефицита щитовидной железы. Малые дозы Эутирокса ускоряют синтез жиров и белков. Средние дозы препарата усиливают развитие и рост тканей и их потребность в кислороде; усиливают обмен веществ (белков, жиров и углеводов); стимулируют работу ЦНС и ЦССС. Большие дозы Эутирокса угнетают работу желез внутренней секреции.

Цель работы заключалась в изучении эмбриогенеза пояса задних конечностей и свободных конечностей лягушки травяной *Rana temporaria* в норме и эксперименте. Для решения поставленной цели были определены задачи:

1. Определить стадии развития головастиков по строению рта и конечностей; проанализировать развитие задних конечностей и их пояса у головастиков лягушки травяной на разных стадиях развития;
2. Изучить эмбриогенез пояса задних конечностей и свободных конечностей головастиков в норме;
3. Выявить возможные аномалии в развитии головастиков в эксперименте.

## Материалы и методы

Исследования проводились методом лабораторной обработки. Объем выборки составил 66 особей для исследования в норме и 30 особей для исследования в эксперименте. Фиксированный материал находился в растворе 10%-го формалина. Производился осмотр внешнего строения (жаберной крышки, жабр - если они есть, ротового аппарата, конечностей) исследуемого материала, в ходе которого были определены стадии развития головастиков. Для определения стадий использовали таблицу из книги Астаурова, Детлафа «Объекты биологии развития». Для стадий 37-48 диагностическими признаками являются строение рта и конечностей.

Приготовление препаратов производилось стандартным методом. По окончании фиксации необходимо удалить из материала излишнее количество фиксирующей жидкости в проточной воде в течение 24-48 часов. Для обезвоживания и уплотнения исследуемого материала использовали батарею спиртов повышающей концентрации (76%, 80% и 96%). Потом материал выдерживали в двух порциях чистого ксилола по полчаса, а затем в смеси парафина с ксилолом по 45 минут; материал помещали в термостат при температуре 37°C, затем последовательно переносили в 1-ый, 2-ой чистый парафин по полчаса. В формочку наливали немного парафина, горячим пинцетом переносили материал и располагали его на дне, доливая остальную часть парафина так, чтобы полностью закрыть объект. Формочку осторожно переносили в холодную воду для более быстрого охлаждения. Затем материал «приклеивали» на деревянный кубик. Для изготовления срезов деревянный кубик закрепляли в блокодержатель микротомы. Получаемые срезы снимали с микротомной бритвы мягкой кисточкой, слегка смоченной водой, или изогнутой препаровальной иглой и переносили их на поверхность воды, нагретой до 40°C, срезы сразу же расправлялись. Затем срезы вылавливали на сухое обезжиренное стекло, для этого его опускали одним концом в чашку с водой (где находятся срезы), подводили под срез и подхватывали последний. Предметные стекла с парафиновыми срезами высушивали в течение 24 часов в термостате при 37 °C. Затем срезы окрашивались гематоксилин – эозином. Окраска проводилась по следующей методике:

1. Перед окраской гематоксилин-эозином удаляли парафин, помещая на несколько минут стекло со срезами последовательно в 3 порции ксилола (хлороформа).
2. Стекло перенесли в абсолютный спирт, затем в 2 порции 96 спирта и одну порцию 70 спирта по 2-5 мин в каждом.
3. Срезы провели через 2-3 порции дистиллированной воды.
4. Окрашивали гематоксилином (2-3 мин).
5. Промывали в дистиллированной воде.
6. Провели через 3-4 порции водопроводной воды и одну порцию дистиллированной.
7. Окрашивали эозином (0,5-2 мин).
8. Промывали в дистиллированной воде.
9. Провели через батарею спиртов 70%, 96%, 96%, 100%.
10. Просветлили в карбол-ксилоле.
11. Провели через 3 порции ксилола.
12. Залили бальзамом.

После окрашивания срезы рассматривались под микроскопом и фотографировались. Проводилась окраска ализариновым синим и ализариновым красным. Головастики омывались от формалина 2 суток в большом объеме воды, выдерживались в растворе ализаринового синего (20 мг ализаринового синего + 60 мл 100 % этанола +

40 мл ледяной уксусной кислоты). Одни сутки головастики отмывались в 100% этаноле, после чего окрашивались в растворе 2% КОН и ализаринового красного. Далее материал проводился через багарею смесей 2% КОН: глицерин в соотношениях 1:1 и 1:3, в каждом – 1 сутки. Затем выдерживались в глицерине до удаления лишнего красителя.

Были сделаны три вида замеров головастиков: длина тела (от начала головы до хвоста), длина хвоста, длина задней конечности. На основе полученных замеров вычислялась средняя арифметическая для каждой стадии, после чего строились графики. Методом окраски тотальных препаратов конечностей личинки (46, 47, 48 стадии развития) альциановым синим и ализариновым красным мы наблюдали процесс оссификации. Данный способ окраски позволяет дифференцировать тонкие границы взаимоотношений хряща и кости за счет сочетаемого воздействия поэтапного окрашивания. У личинок альциановый синий в первую очередь окрашивает молодые хрящевые образования в сине-зеленый цвет, а более зрелые хрящевые структуры приобретают с ним насыщенно синий окрас. У взрослых особей все хрящевые структуры окрашиваются в сине-зеленый цвет. Ализариновый красный задерживается в молодых костных структурах окрашивая их в малиновый.

## Результаты

### *Развитие личинок в норме*

Было исследовано 66 головастиков, относящихся к 6 стадиям. Для всех стадий, рассмотренных в этой работе, диагностическими признаками являются строение ротового аппарата и конечностей:

37 стадия. Внутренняя щель в присоске исчезла. Начало зарастания оперкулярной складки. Правая жабра в виде небольшого пучка, левая тоже укорачивается.

38 стадия. Оперкулярная складка справа заросла. Из оперкулярного отверстия слева видна левая жабра.

39 стадия. Ротовой аппарат: на верхней губе один непрерывный ряд зубчиков, на нижней - один прерывистый и два непрерывных. По наружному краю нижней губы образовались ротовые сосочки. Зачатки задних конечностей в виде небольшого круглого бугорка. Жабры скрыты оперкулярной складкой, иногда в оперкулярном отверстии слева еще виден их маленький фрагмент.

40 стадия. Ротовой аппарат имею тоже строение. Видны остатки присосок в виде бляшек. Зачатки конечностей в виде удлиненного бугорка.

41 стадия. Ротовой аппарат: верхняя губа – 1 непрерывный ряд зубчиков и 1 прерывистый; нижняя губа – 1 прерывистый и 2 непрерывных. Остатки присоски в виде скопления меланина в коже. Зачатки конечностей начинают едва заметно изгибаться.

42 стадия. Ротовой аппарат идентичен предыдущей стадии. Зачаток коленного сустава.

43 стадия. Ротовой аппарат: верхняя губа – 1 непрерывный и 2 прерывистых ряда зубчиков; нижняя губа – 3 непрерывных ряда. Удлинение и более отчетливое изгибание зачатков конечностей. Дистальный конец их уплощается и принимает форму лопаточки. В выборке было выявлено 7 особей, относящихся к данной стадии.

44 стадия. Ротовой аппарат: верхняя губа – 1 непрерывный и 2 прерывистых ряда; нижняя – 4 непрерывных ряда. Зачаток конечности – лопаточка с 3 зубчиками – контуры трех пальцев. Изгиб голеностопного сустава. Обнаружено 4 особи.

45 стадия. Ротовой аппарат тот же. В зачатках конечностей намечаются контуры всех пальцев. 9 головастиков в выборке относилось к 45 стадии.

46 стадия. Ротовой аппарат тот же. Все пять пальцев задних конечностей обособ-

лены. В исследуемой совокупности была выявлена 21 особь, относящаяся к данной стадии.

47 стадия. Ротовой аппарат: верхняя губа – 1 непрерывный и 2 прерывистых ряда; нижняя губа – 3 непрерывных ряда. Задняя конечность четко изогнута на уровне колена, пальцы удлиннились, наметились фаланги. Особенно сильно развит 2-й палец. Формирование голеностопного сустава. Между 1 и 2-м и 2 и 3-м пальцами образовался зачаток межпальцевой перегородки. Обнаружено 15 особей 47 стадии.

48 стадия. Верхняя губа имеет 1 непрерывный и 2 прерывистых ряда зубчиков. Нижняя губа имеет 3 непрерывных ряда. Полностью сформирована межпальцевая плавательная перепонка. Было обнаружено 10 особей данной стадии.

49 стадия. С брюшной стороны сквозь тонкую кожу видны очертания передних конечностей. Задние конечности в коленном суставе согнуты под тупым углом. Частичное исчезновение роговых частей ротового аппарата.

50 стадия. Левая передняя конечность вышла через отверстие в оперкулярной мембране. Ротовое отверстие дугообразно изогнуто; в углах губ видны остатки ротовых сосочков.

51 стадия. Правая передняя конечность прорвала оперкулярную мембрану. Рот удлиняется в латеральном направлении. Окончательно исчезли роговые зубчики и околоротовые сосочки. Начало редукции хвоста.

52 стадия. Редукция хвоста. Длина его равна половине первоначальной (7 мм). Тазобедренный и коленный суставы конечностей согнуты под прямым углом.

53 стадия. Хвост равен 1/5 первоначальной длины (2,8 – 3 мм). Все суставы задних конечностей сгибаются под острым углом.

54 стадия. Конец метаморфоза. Полная редукция хвоста.

Сравнительные характеристики морфометрических параметров головастика на различных стадиях приведены на рисунках 1-3.

На первой и второй гистограммах представлена зависимость длины тела и длины хвоста головастика от стадии их развития. Здесь можно выявить три количественных скачка увеличения длины тела и хвоста головастика (44, 46, 48 стадия развития), и три качественных (43, 45, 47 стадии), в ходе которых идут метаморфические изменения не только данных частей тела, но и других, например, задних конечностей.

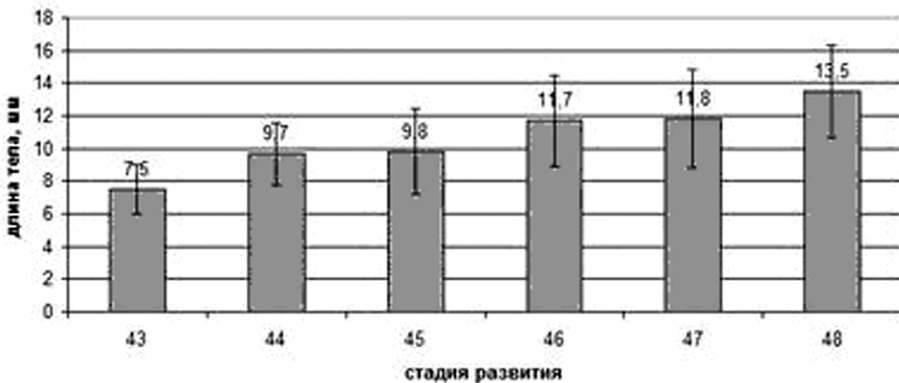


Рисунок 1. Длина тела головастика разных стадий

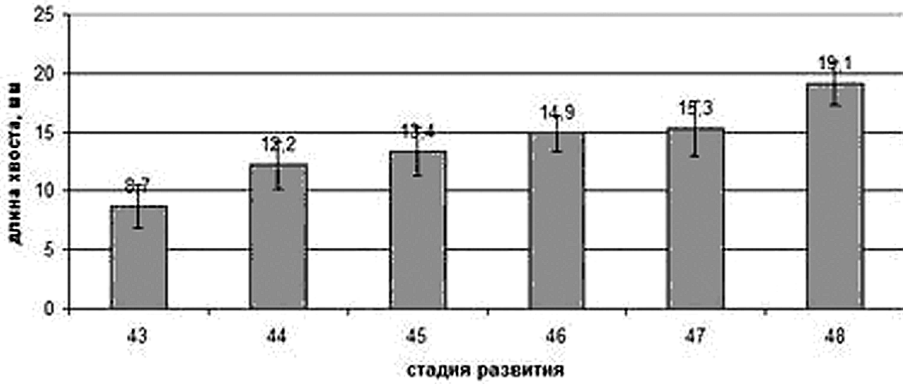


Рисунок 2. Длина хвоста у головастиков разных стадий

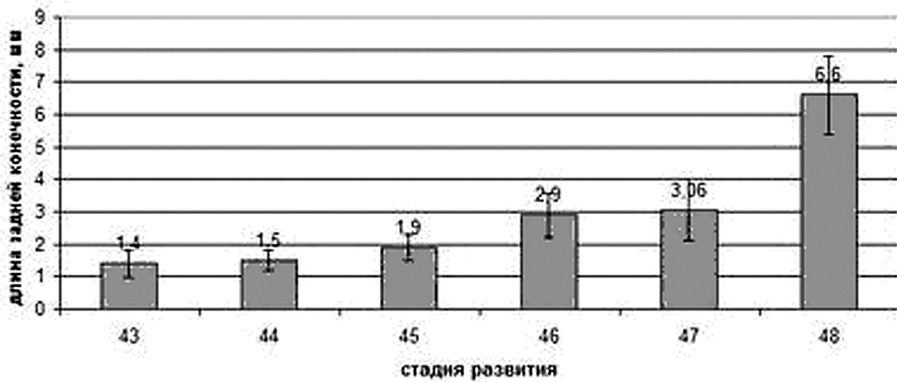


Рисунок 3. Длина задних конечностей головастиков разных стадий

Рисунок 4 демонстрирует зависимость длины задней конечности от стадии. На ней можно выделить два больших количественных скачка (46, 48 стадии), которые так же сопровождаются активным метаморфозом, а именно, на 46 стадии мы наблюдаем, что все пять пальцев задних конечностей уже обособлены, хотя на 45 стадии они намечались лишь в виде контуров, а на 48 стадии задняя конечность уже четко изогнута на уровне колена, пальцы длинные и между ними хорошо заметны перепонки, что так же имеет более высокий уровень развития, чем предыдущая стадия.

Можно сказать, что увеличение длины тела, хвоста и задней конечности, при переходе от стадии к стадии, имеет прямую зависимость, без резких скачков и отставаний, что свидетельствует о нормальном развитии. В среднем за стадию головастики увеличивают длину тела на 12%, длину хвоста на 15%, длину задней конечности на 25% по сравнению с предыдущей стадией.

Длина тела головастиков на разных стадиях развития отличается недостоверно, поэтому мы не можем судить о том, что произошел прирост тела. Это может быть связано с тем, что на данных стадиях в основном идет развитие конечностей, на которые в скором времени выпадет основная роль для передвижения по суше. Что же касается хвоста (рис. 4), то тут мы видим достоверное отличие его длины на следующих стадиях: 43 стадия отличается от 45; 45, 46 стадии отличаются от 48. Такое от-

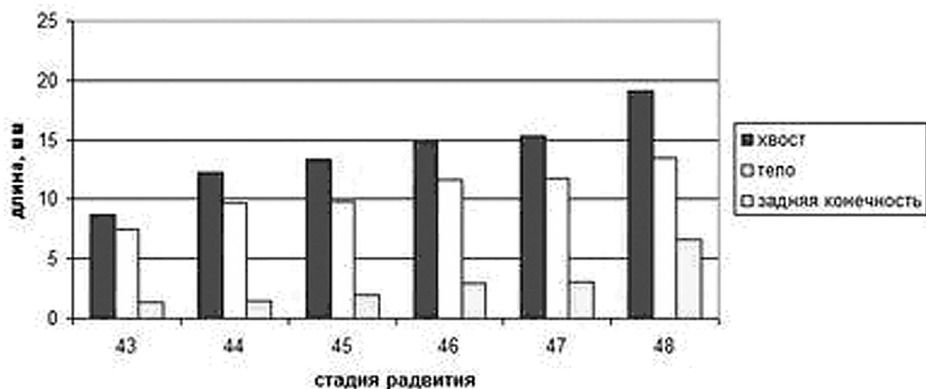


Рисунок 4. Длина хвоста, тела и задних конечностей головастика разных стадий

личие может говорить о том, что головастики на данных стадиях пока еще не готовы к выходу на сушу и, находясь в водной среде, для передвижения используют в основном хвост, который не перестает еще расти до 48 стадии включительно, редукция его начинается только с 51 стадии.

При этом конечность растёт от 43 до 47 стадий равномерно, но на 48 стадии происходит резкий скачок в её размерах примерно в 2 раза. Это может быть объяснено тем, что к 47 стадии основные хрящевые элементы скелета уже сформированы и идет усиленное вытяжение конечностей, прежде чем начнет формироваться молодая костная ткань.

#### *Гистологическое развитие головастика*

Для 46 стадии характерно начало оссификации подвздошной кости, бедренной и костей голени. Менее выраженная оссификация, начальный ее этап, также наблюдается у костей предплюсны. Центры формирования молодой костной ткани занимают срединное положение. Зрелый хрящ располагается непосредственно вблизи центра оссификации, представляет собой плавный переход из уже образовавшейся костной ткани в молодой хрящ, который занимает дистальный и проксимальный конец костей. Оссификации костей плюсны и фалангов пальцев не наблюдается.

47 стадия характеризуется наличием оссификации у подвздошной, бедренной, большой и малой берцовых костей и костей предплюсны. В отличие от предыдущей стадии у данных костей наблюдаются более выраженные участки формирования костной ткани, которые так же занимают среднее положение. Молодой хрящ менее выражен, по сравнению с предыдущей стадией и также занимает участки кости рядом с суставом.

Для 48 стадии характерно наличие образования костной структуры у подвздошной, бедренной, большой и малой берцовых костей и костей предплюсны. Отличие от предыдущей стадии заключается в том, что тут мы наблюдаем оссификацию практически на всем протяжении кости. Зрелый хрящ также имеет плавный переход от уже образовавшейся костной ткани в молодой хрящ, который занимает проксимальные и дистальные участки костей.

В результате исследования окрашенных препаратов 46, 47 и 48 стадий, отклонений от нормального развития не наблюдалось. Образование молодой костной ткани, как правило, идет в центральной части диафизов, зрелый хрящ представляет собой

плавный переход от центра оссификации к молодому хрящу, который занимает пространство вблизи суставов.

### **Развитие головастика в среде с тиреоидным гормоном.**

При развитии головастика в среде с добавлением гормона в дозе 6 мг/л на 6-9 сутки развития происходит замедление процессов роста личинки, затягивается гистогенез, так в норме в конечностях наблюдается стадия хрящевой закладки конечностей уже на 43-45 стадиях, в эксперименте до конца развития (50 стадия) конечность не проходит стадий зрелого хряща и кости. Особи быстрее проходят весь метаморфоз примерно на 15-20 сутки, но гистогенез «задерживается» и остается на стадиях близких к личиночному (в закладках не обнаруживается стадий зрелого и гипертрофированного хряща, костных клеток). Обнаруживаются единичные аномалии в развитии – неразделение фаланг пальцев задней конечности, появляются слабо развитые (соединительнотканые) закладки дополнительной конечности.

### **Заключение**

1. Были определены стадии развития головастика по строению рта и конечностей, выявлены особенности развития задних конечностей и их пояса у головастика лягушки травяной на разных стадиях развития, составлены сравнительные гистогаммы, сделаны фото.

2. Был изучен эмбриогенез пояса задних конечностей и свободных конечностей головастика в норме, показаны стадии развития хряща и костной ткани (40-45 стадия и с 46 – оссификация).

3. Были обнаружены отклонения от нормы в развитии личинок *Rana temporaria* под воздействием тиреоидного гормона: неразделение фаланг пальцев задней конечности, появление слабо развитых (соединительнотканых) закладок дополнительной конечности.

Результаты указывают на важность и актуальность развития изучения эмбриогенеза животных под влиянием гормональных препаратов.

### **Цитируемая литература**

- Астауров Б.Л., Детлаф Т.А. Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975 г. - 579с. 2. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. Гистология, цитология и эмбриология. М: медицина, 2002г.— 744 с: 3.
- Банников А.Г. Жизнь животных, том 4: земноводные, пресмыкающиеся. М.: издательство «просвещение» 1969г. – 488 с.
- Банников А.Г., Даревский И.С., Рустамов А.К. земноводные и пресмыкающиеся СССР. Издательство «Мысль», М.: 1971г. – 301с.
- Горкин А. П. Биология. Современная иллюстрированная энциклопедия. Гл. ред. - М.:Росмэн-Пресс, 2006г. - 560 с.
- Карташев Н.Н., Соколов В.Е., Шилов И.А. Практикум по зоологии позвоночных. М.: Высшая школа, 1981 г. - 383 с.
- Комарова И.П., Тятенкова Н.Н. Методические указания для выполнения курсовых и дипломных работ по морфологии.М: ЯрГУ им. П.Г. Демидова, 1996г. – 16 с.
- Левушкин С.И., Шилов И.А.Общая зоология: учеб. для студ. биол. спец. вузов. М.: Высшая школа, 1994г. – 432с.
- Маслова Г.Т., Сидоров А.В. Развитие амфибий. Белорусский государственный университет. 2007г. – 20с. 10. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Лабораторные животные: анатомия лягушки. М.: Высшая школа 1994г. – 320 с.
- Орлова В.Ф., Семенов Д.В. природа России: жизнь животных. Земноводное и пресмыкающиеся. – М.:ООО Фирма «Издательство АСТ», 1999г. – 480 с.
- Писанец Е.М. Знакомьтесь: амфибии и рептилии. - Киев: наук. думка., 1990г. – 126 с.



# **EMBRYOGENESIS OF GRASS FROG LIMBS IN NORMAL CONDITIONS AND IN THE EXPERIMENT WITH THYROID HORMONE**

**Edemskaya V.A.**

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy

The report is devoted to the study of amphibian's embryogenesis in the natural (normal conditions) and the features of this process in the experimental ponds (with the addition to water of thyroid hormone in a dose 6 mg/l), and that was the purpose of the study.

The results of the study are of high relevance in connection with the possibility to use early embryogenesis of amphibians as test condition and water quality in temporary natural pools in the spring, in the form of the microcosm in the laboratory to assess the state of populations of amphibians studied (density, feeding habits and population pressure) and as a model for basic research of embryogenesis musculoskeletal system in norm and under the effect of high doses of hormone.

Embryos were expanded on a series of sagittal sections, stained with hematoxylin-eosin, were examined and photographed. Then they were painted with altianalis blue and alizarin red. I've made three measurements of tadpoles: body length (from head to tail), tail length, length of hind limb.

On the basis of the obtained measurements the arithmetic mean for each stage, the error average was calculated and was based graphics. Elements of the skeleton of the limbs consistently pass the stages of development from the mesenchyme to the cartilage stage and the beginning of ossification (stage 46). The growth of the limbs uneven, periods of stable growth were marked: from 43 to 47 stages. From 48 stage there was a dramatic increase in size (almost 2 times). This can be explained by the fact that to 47 stage the main stage of the cartilaginous elements of the skeleton has already been formed and is increased stretching of the limbs before you begin to form a young bone tissue.

Periods of uneven growth of the larvae, characteristics of growth and development in dense growing larvae (slowdown, lag histogenesis) also were identified, abnormalities in the development of the larvae of *Rana temporaria* under the influence of thyroid hormone were revealed: fusion of phalanges hind legs, the appearance of weakly developed bookmarks extra limbs, that may be is an element of intra-population pressure and competition for territory and food reserves. The obtained results indicate the importance and relevance of studying the embryogenesis of animals under the influence of hormones.

## **ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ГОРОДСКИХ ТЕРРИТОРИЯХ, С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ**

**Ершова Д.С., Юдина С.А., Симонова З.А.**

ФГБОУ ВО "Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина, Саратов, Россия; strazina10@gmail.com

### **Аннотация**

В работе проводились экспериментальные исследования по определению флуктуирующей асимметрии листовой пластинки и активности аскорбиноксидазы в листьях *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*. Активность аскорбиноксидазы в листьях древесных растений определяли титриметрическим методом. Результаты исследования показали, что состояние *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*, произрастающих в различных функциональных зонах города, оценивается как удовлетворительное. По результатам флуктуирующей асимметрии критическое состояние деревьев отмечается в районах санитарно-защитных зон предприятий. Наибольшая активность аскорбиноксидазы характерна

для *Betula pendula*, произрастающих в районе санитарно-защитных зон предприятий. Для *Populus pyramidalis* характерна низкая активность аскорбиноксидазы во всех функциональных зонах города.

**Ключевые слова:** городская среда; флуктуирующая асимметрия; аскорбиноксидаза; фитоиндикация

### Введение

Среда крупного современного города отличается своеобразием основных биологических факторов, а также специфическим действием техногенных факторов. Город представляет собой неустойчивую природно-антропогенную систему, состоящую из архитектурно-строительных объектов и резко нарушенных естественных экосистем [1]. Однако у городской и естественной экосистем есть одно сходство – растения.

Городская растительность выполняет те же функции, что и естественная: санитарно-гигиеническую, защитную, продуктивную. Вместе с тем растения в городах вынуждены противостоять негативным факторам, снижая эффективность выполняемых функций. В связи с этим, экологическая оценка состояния растений в городской среде является актуальной задачей.

Адаптации растений к условиям городской среды осуществляются как за счет внутривидовой дифференциации, так и за счет перестройки их популяционной структуры. Реакция на действие стрессовых факторов у растений на первых этапах заключается в изменении их физиолого-биохимических и морфометрических показателей.

Цель нашей работы заключалась в определении состояния древесных растений, произрастающих в различных по степени техногенной нагрузки районах города Саратова, по изменению морфо-биохимических показателей.

### Материалы и методы

Для экологической оценки древесных растений города нами были выбраны листья двух видов деревьев, доминирующих в городской растительности: *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*. Сбор растительного материала производился на участках, расположенных в местах оживленного транспортного движения, вблизи крупных промышленных предприятий и в местах массового отдыха горожан. В качестве фонового участка была выбрана территория, расположенная в 50 км от г. Саратова в северном направлении. Сбор и фиксация растительного материала проводились по методике оценки состояния организмов по показателям нарушения стабильности развития [2].

Одним из морфологических подходов фитоиндикации, с помощью которого можно произвести экологическую оценку состояния древесных растений, произрастающих в городе, является выявление степени отклонения билатерально-симметричных показателей растений от показателей, характерных для особей, произрастающих на условно чистых территориях. Наиболее часто в качестве степени отклонения билатерально-симметричных показателей растений используют флуктуирующую асимметрию. Определение флуктуирующей асимметрии листовой пластинки *Betula pendula* и *Populus pyramidalis* осуществлялось нами в соответствии с «Методическими рекомендациями по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур)» [3].

В качестве биохимического показателя нами использовалась активность аскорбиноксидазы, которая определялась в листьях деревьев титриметрическим методом [4]. Наше исследование проводилось в течение двух вегетационных периодов (2014 – 2015 гг.).

## Результаты

Анализ флуктуирующей асимметрии листовой пластинки *Betula pendula* показал, что в среднем по городу за период исследования величина данного показателя варьировала в пределах от 0,02 до 0,078. В начале вегетационного периода для большинства листьев была характерна асимметрия соответствующая условной норме. В конце вегетации интегральный показатель стабильности развития *Betula pendula* изменялся и, в среднем по городу, соответствовал 4 – 5 баллам, что свидетельствует о существенных отклонениях от нормы и о критическом состоянии. Наиболее высокие показатели флуктуирующей асимметрии отмечались в центральных районах города, где состояние *Betula pendula* оценивалось как критическое. Наибольшими отклонениями в развитии по всему городу обладали *Betula pendula*, произрастающие в районе санитарно-защитных зон предприятий. Для рекреационных зон было характерно нормальное развитие *Betula pendula* без отклонений от нормы.

Для *Populus pyramidalis* в течение исследуемых вегетационных периодов отмечались наиболее стабильные значения флуктуирующей асимметрии, которые отличались высокими значениями. В районе санитарно-защитных зон предприятий отклонение в развитии *Populus pyramidalis* от условий нормы соответствовало 5 баллам, что свидетельствует о критическом состоянии деревьев. Вблизи городских автомагистралей значение флуктуирующей асимметрии в основном соответствовало нормальному развитию или незначительно отклонялось от нормы. Критическое состояние отмечалось только для *Populus pyramidalis*, произрастающих на центральных городских улицах, отличающихся скоплением автотранспорта. Вблизи рекреационных зон существенных изменений в величинах флуктуирующей асимметрии листьев *Populus pyramidalis* не отмечалось.

Однако для экологической оценки состояния городских деревьев не достаточно изучать только морфологические особенности их листьев. Особое внимание необходимо уделять и биохимическим параметрам, так как при любом негативном воздействии неизбежно будут изменяться и метаболические процессы.

Наиболее значимым при формировании устойчивости к неблагоприятным факторам является активность окислительно-восстановительных ферментов, от которых зависят все метаболические процессы растения. Особый интерес среди них представляет аскорбиноксидаза, или аскорбиназа. Этот фермент относится к медьсодержащим ферментам и катализирует окисление аскорбиновой кислоты в ее дегидроформу, не обладающую витаминной активностью [5]. Разрушая аскорбиновую кислоту, аскорбиназа влияет на основные метаболические процессы растений, в частности на дыхание, фотосинтез.

В ходе исследования нами определялась активность аскорбиноксидазы в листьях *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*. От активности аскорбиназы зависит количество аскорбиновой кислоты: чем выше активность, тем меньше аскорбиновой кислоты, тем менее эффективно протекают все метаболические процессы.

Исследование активности аскорбиназы в листьях *Betula pendula*, произрастающих в различных функциональных зонах города, показало, что данный показатель в условиях городской среды за вегетационный период увеличивается. Наименьшие значения активности фермента характерны для начала вегетационного периода, когда активно протекают метаболические и ростовые процессы и количество аскорбиновой кислоты велико. Наибольшие различия были характерны для конца вегетационного периода. Данный факт не противоречит биохимическим особенностям растений. Однако увеличение активности фермента по сравнению с фоновым значением говорит о том, что загрязняющие вещества, присутствующие в окружающей среде города, стимулируют активность фермента, в результате чего происходит более интенсивное уменьшение количества аскорбиновой кислоты.

Результаты по определению активности аскорбиназы в листьях *Populus pyramidalis* показали, что растения обладали пониженной активностью фермента во всех функциональных зонах города. Наибольшие значения активности аскорбиназы были характерны для насаждений санитарно-защитных зон предприятий. Вместе с тем, низкая активность фермента в листьях *Populus pyramidalis* свидетельствует о высоком содержании аскорбиновой кислоты. Данный факт не противоречит биохимическим особенностям *Populus pyramidalis*: для видов, отличающихся повышенной ассимиляционной активностью (разные виды тополей), в условиях интенсивной техногенной нагрузки характерно относительно высокое содержание аскорбиновой кислоты в листьях [6].

Однако по сравнению с фоновым значением активность фермента в листьях тополей в городских условиях в среднем в 3,6 раз ниже. Пониженная активность аскорбиноксидазы, соответственно увеличение содержания аскорбиновой кислоты в листьях *Populus pyramidalis* свидетельствуют об ее участии в механизмах адаптации растений к условиям городской среды.

### Закключение

Таким образом, анализ результатов нашего исследования показал, что состояние *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*, произрастающих в различных функциональных зонах города, оценивается как удовлетворительное. По результатам флуктуирующей асимметрии критическое состояние деревьев отмечается в районах санитарно-защитных зон предприятий. Данные по определению активности аскорбиноксидазы у *Betula pendula* и *Populus pyramidalis* в течение вегетационного периода свидетельствовали о том, что растения испытывают негативное воздействие городской среды, которое проявляется на биохимическом уровне. Увеличение активности фермента по сравнению с фоновым значением в листьях *Betula pendula* показало, что загрязняющие вещества, присутствующие в окружающей среде города, стимулируют его активность, в результате чего происходит более интенсивное уменьшение количества аскорбиновой кислоты. Пониженная активность аскорбиноксидазы в листьях *Populus pyramidalis* указывает на увеличение содержания аскорбиновой кислоты. Данные факты свидетельствуют об отклонении в функционировании биохимических процессов изучаемых растений и могут являться показателем их угнетенного состояния.

### Цитируемая литература

- 1 Реймерс, Н.Ф. Природопользование. Словарь-справочник / Н.Ф. Реймерс. – М.: «Мысль», 1990. — 639 с.
- 2 Шестакова, Г.А. Методика сбора и обработки материала для оценки стабильности развития березы повислой / Г. А. Шестакова, А. Б. Стрельцов, Е. Л. Константинов. - Калуга, 1997. - 16 с.
- 3 Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур): утв. распоряжением МПР № 460-р от 16.10.2003. - 2003.
- 4 Починок, Х.Н. Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок. – Киев: Наукова думка, 1976. – 334 с.
- 5 Кретович, В. Л. Основы биохимии растений / В. Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1971. – 464 с.
- 6 Бухарина, И.Л. Биоэкологические особенности древесных растений и обоснование их использования в целях экологической оптимизации урбаноcреды (на примере г. Ижевска) / И.Л. Бухарина. – автореф. дисс. на соиск.учен. степ. д-ра биол.наук. – Тольятти, 2009. – 36 с.

# ENVIRONMENTAL ASSESSMENT OF THE TREES GROWING IN URBAN AREAS, USING METHODS OF PHYTOINDICATION

Ershova D.S., Uydina S.A., Simonova Z.A.

Yuri Gagarin Saratov State Technical University, Saratov, Russia

The satisfactory state of *Betula pendula* and *Populus pyramidalis* have been identified in the work. Trees grew in the different functional areas of the city. Fluctuating asymmetry values leaves trees were highest near the enterprises. The activity of ascorbic acid oxidase in leaves of *Betula pendula* increased during the growing season in the urban environment. The low enzyme activity was characteristic of *Populus pyramidalis* during vegetation.

## DOPED RARE EARTH OXIDES AND THEIR CONSTITUENT METALS INHIBIT *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA* GROWTH VIA ION LEACHING, NUTRIENT REMOVAL AND AGGLOMERATION

Joonas Elise<sup>1</sup>, Villem Aruoja<sup>1</sup>, Kalle Olli<sup>2</sup>, Anne Kahru<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia,

<sup>2</sup>Institute of Ecology and Earth Sciences, University of Tartu, Tartu, Estonia,

<sup>3</sup>National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia, , [elise.joonas@kbfi.ee](mailto:elise.joonas@kbfi.ee)

### Abstract

Rare earth elements (REEs) are increasingly used in diverse applications, including electronics, renewable energy, and medicine, posing an environmental hazard via various waste streams. We studied the potential toxic impact of nine doped REE oxides (d-REOs) and the corresponding soluble metal salts on the algae *Raphidocelis subcapitata* (OECD 201 test). Tentative EC50 (72 h, mg oxide l<sup>-1</sup>) values for the d-REOs varied from toxic to not harmful: Ce<sub>0,8</sub>Pr<sub>0,2</sub>O<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>, (La<sub>0,6</sub>Sr<sub>0,4</sub>)<sub>0,95</sub>CoO<sub>3</sub> and La<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub> were toxic to algae with EC50 values between 1 and 10 mg l<sup>-1</sup>; Gd<sub>0,97</sub>CoO<sub>3</sub>, LaCoO<sub>3</sub>, LaFeO<sub>3</sub> and (La<sub>0,5</sub>Sr<sub>0,5</sub>)<sub>0,99</sub>MnO<sub>3</sub> proved to be harmful, having EC50s 10–100 mg l<sup>-1</sup>; Ce<sub>0,9</sub>Gd<sub>0,1</sub>O<sub>2</sub> was assessed to be not harmful to algae, because it had an EC50 value >100 mg l<sup>-1</sup>. The toxicity of non-lanthanide metals (72 h EC50, mg metal l<sup>-1</sup>) was: Sr (56), Mn (7.4), Fe (7.3), Co, In, Ga and Ni (<1). All studied lanthanides (Ce, Gd, La, Nd, Pr) had 72 h EC50 around 1 mg l<sup>-1</sup>, i.e. proved to be highly inhibitory to algal growth. The toxicity of lanthanides was not dependent on their atomic number, nor uniform between REE salts, as Pr had a slightly lower EC50 value (0.6 mg l<sup>-1</sup>). Inhibition by REEs occurred most probably due to the precipitation of phosphates and carbonates – essential algal medium components – from the medium after binding with REE salts. A significant decrease in dissolved REE concentrations occurred in OECD 201 media after 72 hours of incubation without algae. Because the dissolved REE concentrations in MQ remained the same, it suggests that medium components formed insoluble complexes with REE salts. Thus, both medium components and the REEs were removed from the solution, resulting in an indirect inhibitory effect of REE salts on algae. All the studied REE salts and composites formed sediments in the test medium, often trapping cells within the agglomerates. Therefore, the toxicity of REE composites was likely related not only to their elemental composition and leaching of constituent metals, but also to particle effects. Consequently, REEs may pose a considerable risk to algae, a very sensitive link in the aquatic ecosystem.

**Keywords:** lanthanides, rare earth elements, composites, ecotoxicity, aquatic, algae

We are very grateful to Heiki Vija for conducting the TXRF measurements. This research is supported by Estonian Ministry of Education and Research (target-financed theme IUT23-5 and PUT748). The REE composites were provided by Guttorm Syvertsen-Wiig from CerPo-Tech, Norway.

# ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗАЛ. НАХОДКА НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Журавель Е.В.<sup>1</sup>, Мазур М.А.<sup>1</sup>, Ковековдова Л.Т.<sup>1,2</sup>, Черняев А.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> ТИНРО-Центр, Владивосток, Россия; zhrvl@rambler.ru

## Аннотация

Исследовано содержание тяжелых металлов и углеводов, в том числе фракции полиароматических углеводов, в донных осадках зал. Находка. Выявленные концентрации тяжелых металлов и ПАУ не превышали допустимых концентраций и пороговых значений токсичности для гидробионтов. Концентрации ОУВ превосходили допустимый уровень в 1,5-25 раз. Степень загрязнения донных осадков на большинстве станций низкая или средняя. На основе результатов эмбриотеста с плоским морским ежом *Scaphechinus mirabilis* показано нарушение личиночного развития тест-объекта в пробах осадков с большинства станций.

**Ключевые слова:** физико-химические методы, биотестирование, ПАУ, тяжелые металлы, эмбриотест, загрязнение донных осадков

## Введение

Мониторинг экологического состояния морских прибрежных акваторий включает физико-химические исследования, которые позволяют определить концентрации загрязняющих веществ. В программу мониторинга обычно входит определение в воде и донных осадках токсичных элементов и углеводов, в том числе полиароматических (ПАУ), оказывающих токсическое, тератогенное и канцерогенное воздействие на гидробионтов. На основе многолетних исследований была выявлена зависимость между концентрациями загрязняющих веществ в донных осадках и степенью экологического риска, вызванного их токсическим воздействием на гидробионтов [6, 11, 12, 13]. Однако непосредственные реакции гидробионтов на загрязнение позволяют выяснить только биологические методы оценки – биоиндикация и биотестирование. Поэтому все большее распространение в экологическом мониторинге получает интегральная оценка состояния морских акваторий, основанная на химических и токсикологических данных [6, 7, 8, 14]. В качестве тест-организмов используются гидробионты различных систематических групп. В морской среде применяются морские ежи, их эмбрионы и личинки, т.к. на ранних стадиях онтогенеза организмы более чувствительны к присутствию токсикантов и различным изменениям физико-химических факторов среды. Эмбриональные и личиночные стадии морских ежей отличаются высокой чувствительностью к действию внешних факторов.

Одной из наиболее освоенных акваторий Приморского края является залив Находка, на побережье которого сосредоточены крупные порты, в том числе порт Восточный в б. Врангеля и нефтепорт в б. Козьмина. В 2012 г. его воды оценивались как «загрязненные», а отдельных частей – б. Находка и б. Козьмина – как «грязные» [2]. Вследствие активного развития инфраструктуры, с каждым годом антропогенная нагрузка на залив увеличивается. Поэтому необходимо проводить комплексную оценку состояния морской среды, оценивать качество донных осадков, как интегрального показателя загрязнения среды в результате длительного антропогенного воздействия на акваторию. Цель работы: оценить современные уровни загрязнения и токсичности донных осадков в разных районах зал. Находка с помощью физико-химических методов и биотестов с плоским морским ежом *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1863).

## Материалы и методы

Пробы донных осадков были отобраны легководолазным способом с 10 станций залива (Рисунок 1) с глубины 4-5 м из верхнего пятисантиметрового слоя.

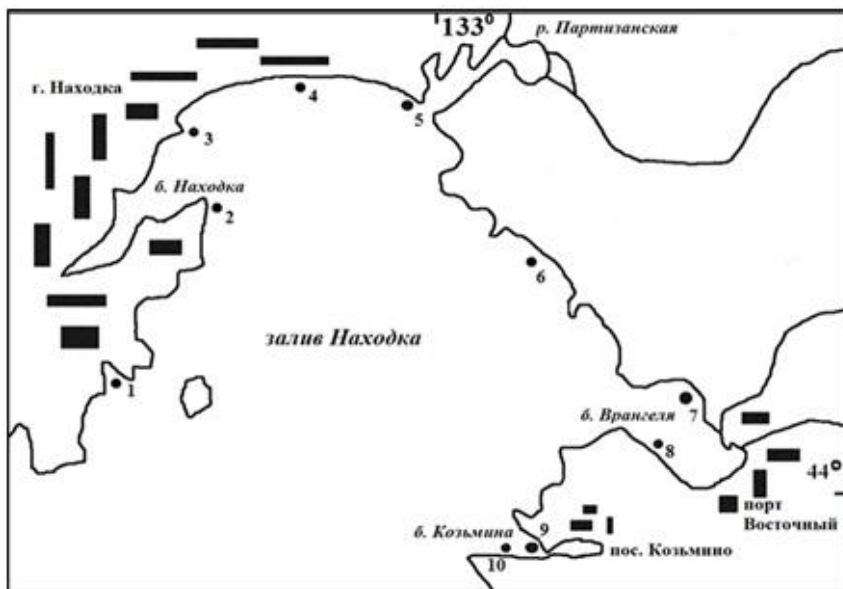


Рисунок 1. Карта-схема расположения станций отбора проб.

1 – б. Мусатова, 2 – м. Шведова, 3 – м. Шефнера, 4 – север залива, 5 – устье р. Партизанской, 6 – пляж Песчаный, 7 – б. Врангеля, пос.Береговое; 8 – б. Врангеля, старый пирс; 9 – рыбокомбинат в б. Козьмина; 10 – район нефтепорта «Козьмино».

Все станции отличались по степени антропогенной нагрузки. На побережье б. Мусатова (станция 1) находится дачный поселок и пляж, кроме того, севернее в б.Новицкого расположен нефтепорт. Станции 2 и 3 ограничивают выход из б. Находка с ее портовыми сооружениями и судоремонтными заводами. Рядом проходит железная дорога, сосредоточены автовокзал и крупные торговые центры, выпуск коллектора городской канализации, стоянка частных катеров и причал береговой охраны. Станция 4 находится в промзоне, станция 5 – вблизи устья р. Партизанская; станция 6 – в районе крупного песчаного пляжа. Возле станции 7 в б. Врангеля продолжается строительство новых причалов порта «Восточный», а станция 8 находится южнее территории порта «Восточный», у старого угольного пирса; станция 9 расположена в судоходной зоне вблизи рыбокомбината (пос. Козьмино); станция 10 – в окрестностях нового Спецнефтепорта Козьмино, открытого в конце 2009 г.

Измерение концентраций кислоторастворимых форм токсичных элементов (As, Cd, Cu, Pb, Zn) проводили на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Shimadzu» 6800 с использованием пламенного и беспламенного методов анализа. Определение общих углеводов (ОУВ) проводили методом ИК-спектрии на ИК-анализаторе фирмы «Shimadzu» IRAffinity-1 (Япония) с предварительным выделением целевых компонентов из образцов грунта жидкость-жидкостной и ультразвуковой экстракцией и последующей очисткой экстрактов на сорбентах. Разделение смеси полиароматических углеводов проводили методом обращенно-фазовой высоко-

эффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе «Shimadzu» LC-10 ADvp (Япония).

Значения коэффициента (фактора загрязнения)  $C_f$  рассчитывали для каждого токсического вещества с помощью формулы  $C_f = C_{mean}/C_n$ , где  $C_{mean}$  – средняя концентрация вещества;  $C_n$  – фоновая концентрация этого вещества. Значения оценивают согласно следующим критериям:  $C_f < 1$  – низкие,  $1 \leq C_f < 3$  – среднее,  $3 \leq C_f < 6$  – высокие,  $C_f \geq 6$  – очень высокие [9, 15]. Коэффициенты степени загрязнения осадков  $C_d$  были рассчитаны как сумма всех факторов загрязнения по формуле  $C_d = \sum C_f$ . Значения индекса  $C_d$  оценивали в соответствии со следующими критериями:  $C_d < 8$  – низкая степень загрязнения,  $8 \leq C_d < 16$  – средняя степень загрязнения,  $16 \leq C_d < 32$  – высокая степень загрязнения,  $C_d > 32$  – очень высокая степень загрязнения донных осадков [1].

Для оценки потенциальной токсичности донных осадков и экологического риска для гидробионтов рассчитывали коэффициент SQG-Q (mean sediment quality guideline quotient) по формуле:  $SQG-Q = \Sigma PEL-Q/n$ , где  $\Sigma PEL-Q$  – отношение средней концентрации токсичного вещества в пробе к величине PEL (Probable Effect Level – уровень вероятного воздействия),  $n$  – количество токсичных компонентов [11]. Расчет проводили, используя данные о суммарном содержании ПАУ и концентрациях пяти токсичных элементов. Осадки оценивали согласно следующим критериям:  $SQG-Q \leq 0,1$  – осадки нетоксичны, небольшая вероятность проявления отрицательных биологических эффектов;  $0,1 < SQG-Q < 1$  – осадки умеренно токсичны, средняя вероятность проявления отрицательных биологических эффектов;  $SQG-Q > 1$  – осадки очень токсичны, высокая вероятность наблюдения отрицательных биологических эффектов [12].

Для проведения биотеста готовили водную вытяжку из осадков, используя фильтрованную и стерилизованную морскую воду. Применяли стандартную методику эмбриотеста, получая гаметы от трех родительских пар и производя оплодотворение в стерильной морской воде. Зиготы помещали в тестируемые вытяжки и наблюдали дальнейшее их развитие до достижения стадии среднего плутеуса [6]. Через 48 часов рассчитывали долю аномальных личинок, а также измеряли длину личинок ( $n=100$ ).

Результаты экспериментов обрабатывали с помощью пакетов программ Excel и Statistica: определяли среднее арифметическое, стандартное отклонение, достоверность различий между выборками по критерию Стьюдента.

## Результаты

### *Содержание загрязняющих веществ в донных осадках*

При изучении уровней содержания токсичных элементов было выявлено, что донные осадки зал. Находка загрязнены ими незначительно. Концентрации Cd, Pb, Cu находились в пределах фоновых уровне для зал. Петра Великого [4]. Превышение фонового содержания мышьяка по сравнению с другими частями зал. Петра Великого, обусловлено высоким содержанием поллютантов поступающих от береговых промышленных и коммунально-бытовых предприятий, а также с судов морского транспорта [3].

Наибольший уровень содержания Cu, Pb, Zn, As характерен для станции 2, Cd – для станции 8, что, вероятно, связано с функционированием портов. При этом ни на



одной из станций в донных осадках не были превышены уровни, при которых происходило бы негативное воздействие на гидробионтов (ERL-ERM, TEL-PEL).

Содержание углеводородов (ОУВ) повсеместно превышало фоновый, а на четырех станциях и допустимый уровень (Рисунок 2). Преимущественно – это акватории вблизи портов (станции 1, 2, 4, 8). Основными источниками поступления ОУВ в акватории залива являются береговые предприятия и морской транспорт. Также вероятен перенос загрязненных нефтью и нефтепродуктами вод в б. Мусатова с севера, из б. Новицкого, в которой расположен нефтепорт.

Наибольшее суммарное содержание ПАУ выявлено на станции 7 (в районе порта в б. Врангеля). Превышение фоновых концентраций также отмечено в районе станций 1 и 2 – м. Шведова. По существующей классификации уровня загрязнения донных осадков полиароматическим углеводородами [5], низкому уровню загрязнения соответствует содержание ПАУ в пределах 0-100 нг/г, умеренному – 100-1000 нг/г, высокому – 1000-5000 нг/г и очень высокому – более 5000 нг/г. В ходе анализа содержания ПАУ в донных осадках залива Находка, ни на одной из исследуемых станций не было отмечено превышение допустимой концентрации ПАУ (1000 нг/г), таким образом, загрязнение донных осадков соответствует низкому уровню. Важно отметить, что ни на одной из исследуемых станций не наблюдалось превышение допустимого содержания бенз(а)пирена (25 нг/г).

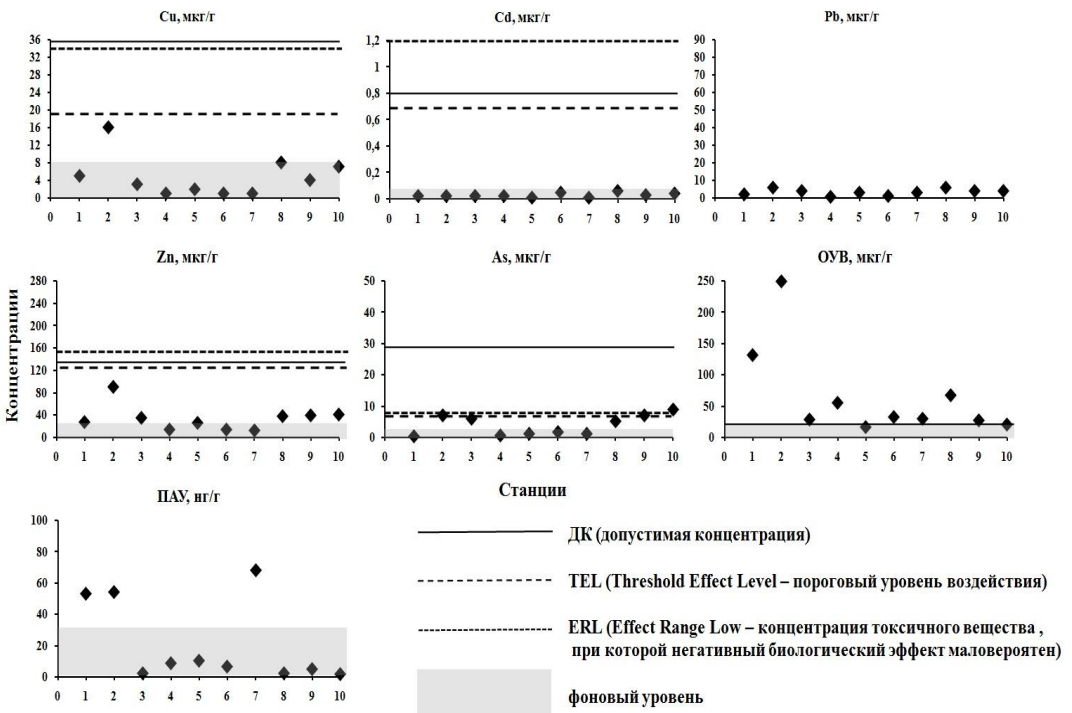


Рисунок 2. Концентрации загрязняющих веществ в донных осадках зал. Находка.

После проведения расчетов индекса загрязнения осадков  $C_d$  на станциях 1, 3, 5, 8 и 10 была выявлена высокая степень загрязнения, на станции 2 – очень высокая,  $C_d$  более 32. Средняя степень загрязнения отмечена на станциях 7 и 9 (Рисунок 3).

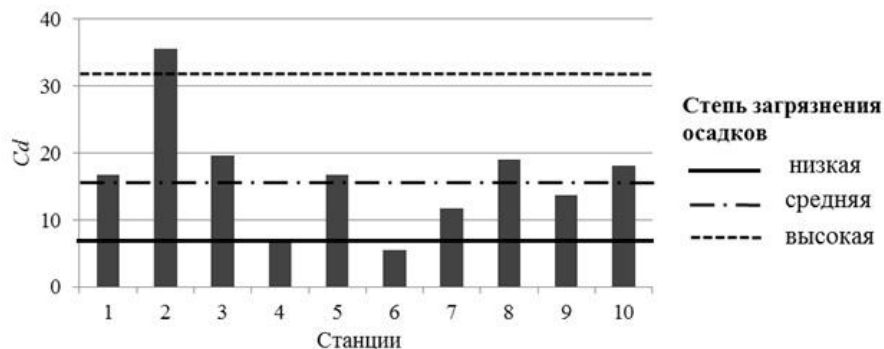


Рисунок 3. Значения индекса загрязнения донных осадков Cd на исследуемых станциях в зал. Находка

Оценка потенциальной токсичности донных осадков на основе расчета индекса экологического риска SQG-Q показала, что осадки на подавляющем большинстве станций можно отнести к нетоксичным, так как значения SQG-Q не превышали 0,1 (Рисунок 4), при этом наибольшей потенциальной токсичностью обладали осадки на станции 2. Результаты свидетельствуют о низкой расчетной степени токсичности донных осадков зал. Находка для гидробионтов.

Оценка уровня токсичности осадков на основе результатов биотеста с *S.mirabilis*

Процедура биотестирования донных осадков позволила выявить интенсивное ингибирующее воздействие содержащихся в них токсичных веществ на раннее развитие *S. mirabilis*. На всех станциях было отмечено значительное количество аномальных эмбрионов и личинок (Рисунок 4). Особенно ярко это проявилось на станции 2 у м. Шведова, где через двое суток эксперимента большая часть личинок погибла, развитие остальных остановилось на стадии гастрюлы и раннего плутеуса. Доля нормальных личинок, выращенных в водной вытяжке из донных осадков с м. Шефнера (станция 3), не превышала 20%, в пробе из окрестностей нефтепорта «Козьмино» (станция 10) – всего 12%.

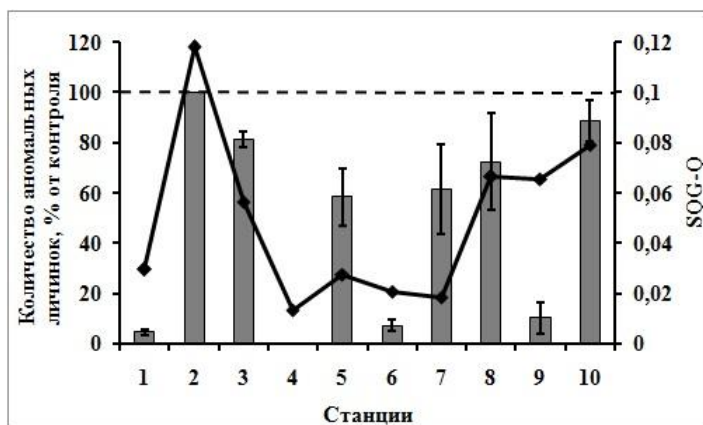


Рисунок 4. Результаты тестирования донных осадков из зал. Находка (среднее±станд. откл., n=8) и значения индекса экологического риска SQG-Q.

Токсический эффект загрязненных донных осадков для личинок *S. mirabilis* проявился не только в отставании в развитии и морфологических изменениях, но и в подавлении их роста. После проведения промеров было выявлено, что размеры личинок достоверно отличаются от контроля во всех тестируемых вытяжках, за исключением станции 9 в б. Козьмина. При средней длине личинок в контроле  $256 \pm 23$  мкм в экстракте из донных осадков со станции 2 она составила всего  $153 \pm 17$  мкм, что свидетельствует о значительном угнетении их роста.

### Заключение

Результаты исследований, проведенных в зал. Находка, показывают, что биологическая оценка уровня загрязнения и токсичности морских донных осадков должна быть обязательной составляющей экологического мониторинга прибрежно-морских акваторий.

Физико-химический анализ концентраций токсичных веществ в донных осадках показал умеренные уровни их загрязнения тяжелыми металлами и ПАУ, по уровню потенциальной токсичности осадки на большинстве станций были отнесены к нетоксичным (и к умеренно токсичным в районе станции 2). В процессе биотестирования донных осадков на станциях были выявлено нарушение развития эмбрионов и личинок *S. mirabilis* в диапазоне от 1% на станции 4 до 100% на станции 2. Таким образом, реальное воздействие на гидробионтов загрязняющих веществ, содержащихся в донных осадках, должно оцениваться на основе комплексного применения физико-химических методов и биотестирования.

### Благодарности

Определение полиароматических углеводородов было произведено в лаборатории молекулярного анализа ШЕН ДВФУ и поддержано грантом Российского научного фонда (проект № 14-50-00034).

### Цитируемая литература

1. Ващенко М.А., Жадан ПМ, Альмяшова Т.Н., Ковалева А.Л., Слинко Е.Н. 2010. Оценка уровня загрязнения донных осадков Амурского залива (Японское море) и их потенциальной токсичности. Биол. моря. 36: 354-361.
2. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2013. 2014. Москва: Наука. 200 с.
3. Ковековдова Л.Т., Иваненко Н.В., Симоконь МВ. 2002. Особенности распределения As в компонентах морских прибрежных экосистем Приморья. Электронный журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ» <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2002/127.pdf>
4. Шулькин В.М. 2004. Металлы в экосистемах морских мелководий. Владивосток: Дальнаука. 277 с.
5. Baumard P, Budzinski H, Garrigues P. 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea. Environ. Toxicol. Chem. 17: 765-776.
6. Beiras R, Fernandez N, Bellas J, Besada V, Gonzalez-Quijano A, Nunes T. 2003. Integrative assessment of marine pollution in Galician estuaries using sediment chemistry, mussel bioaccumulation, and embryo-larval toxicity bioassays. Chemosphere. 52: P. 1209-1224.
7. Bellas J, Nieto O, Beiras R. 2011. Integrative assessment of coastal pollution: Development and evaluation of sediment quality criteria from contamination and ecotoxicological data. Continental Shelf Research. 31: 448-456.
8. Duran I, Nieto O. 2011. Water characterization in three industrialized harbours (Vigo, Bilbao and Parajes) in North Coast of Spain. Mar. Pollut. Bull. 64: 410-415.
9. Hakanson L. 1980. Ecological Risk Index for Aquatic Pollution Control. A Sedimentological Approach. Water Res. 14: 975-1001.

10. Long E.R., MacDonald D.D. 1998. Recommended uses of empirically derived, sediment quality guidelines for marine and estuarine ecosystems. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 4: 1019-1039.
11. Long ER, MacDonald DD, Smith SL, Calder ED. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Manag.* 19: 81-97.
12. MacDonald D.D., Carr RS, Eckenrod D, Greening H, Grabe S, Ingersoll C.G, Janicki S, Janicki T, Lindskoog RA, Long ER, Pribble R, Sloane G, Smorong DE. 2004. Development, Evaluation, and Application of Sediment Quality Targets for Assessing and Managing Contaminated Sediments in Tampa Bay, Florida. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46: 147–161.
13. MacDonald D.D., Carr RS, Calder F.D., Long E.R., Ingersoll C.G. 1996 Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology.* 5: 253-278.
14. Montero N, Belzunce-Segarra MJ, Menchaca I, Garmendia J.M., Franco J, Nieto O, Etxebarria N. 2013. Integrative sediment assessment at Atlantic Spanish harbours by means of chemical and ecotoxicological tools. *Environ. Monit. Assess.* 185: 1305–1318.
15. Pekey H., Karaka D., Ayberk S, Tolun L, Bakoglu M. 2004. Ecological Risk Assessment Using Trace Elements from Surface Sediments of Izmit Bay (Northeastern Marmara Sea) Turkey. *Mar. Pollut. Bull.* 48: 946–953.

## **ASSESSMENT OF THE BOTTOM SEDIMENTS POLLUTION IN THE NAKHODKA BAY ACCORDING THE RESULTS OF CHEMICAL ANALYSES AND BIOASSAY**

**Zhuravel E.V.<sup>1</sup>, Mazur M.A.<sup>1</sup>, Kovekovdova L.T.<sup>1,2</sup>, Chernyaev A.P.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Far Eastern Federal University, 690600, Vladivostok, Sukhanova str., 8; zhrvl@rambler.ru

<sup>2</sup>Federal State Unitary Enterprise “TINRO-center”, 690091, Vladivostok, Shevtchenko str., 4

The content of heavy metals, total hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in bottom sediments of Nakhodka Bay was investigated. It is shown that the content of heavy metals and PAH was considerably below the permissible levels and does not exceed the toxic thresholds for the aquatic organism's survival. But the total hydrocarbons concentrations exceeded the permissible level in 1,5-25 times. The degree of bottom sediments contamination at most stations was low or moderate. Based on the results of the bioassay with sand dollar *Scaphechinus mirabilis* shows a violation of the larval development in the sediments samples from most stations.

## **ПРЕДЛОЖЕНИЕ МЕТОДА ИНДИКАЦИИ НАЛИЧИЯ В ПРИРОДНЫХ ОБРАЗЦАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА METHYLOSULA ПО ФЕНОТИПИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ**

**Зайчиков В.А.<sup>1</sup>, Берестовская Ю. Ю.<sup>2</sup>, Васильева Л. В.<sup>2</sup>; Семенов А. М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия; vladislav1994zaychikov@mail.ru

<sup>2</sup>Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского РАН, Москва, Россия

### **Аннотация**

Предложение метода индикации наличия в природных образцах представителей рода *Methylorosula* по фенотипическим признакам описанные к настоящему времени штаммы рода и вида *Methylorosula polaris* имеют сходную морфологию, представляя собой палочки размером около 0.5 × 1.3–4.5 мкм, что, с одной стороны затрудняет их быструю идентификацию, а, с другой стороны, в силу образования ими розеток по мере старения культуры облегчает. Еще одним признаком этой бактерии является ее способность к метилотрофии, выявляемая на элективной олиготрофной среде с метанолом в качестве единственного источника углерода. Предлагается из множества вырастающих на агари-

зованной среде с метанолом колоний дальнейшему исследованию подвергать колонии, обладающими следующими признаками: прозрачные, круглые, с гладкой поверхностью, выпуклым профилем, блестящие, бесцветные, слизистые, с гладким ровным краем и однородной структурой. Из колоний одного типа стерильно отобрать клетки и рассеять на агаризованную среду. Клетки рассмотреть в световой микроскоп. Для дальнейшего исследования сохранить чашки Петри и соответствующие пробирки с клетками, которые являются подвижными слегка изогнутыми палочками размером около  $0.5 \times 1.3-4.5$  мкм, слипающимися своими концами с другими клетками, формируя тем самым розетки. При микроскопировании не должны обнаруживаться споры. Провести испытание выделенных изолятов на отсутствие роста на органических кислотах и бутаноле. От других родов семейства Beijerinckiasaceae, в который входит род *Methylosorus*, эти бактерии морфологически отличаются неравномерным делением клеток и образованием розеток, а физиологически — наличием роста на метиламинах и аминокислотах.

**Ключевые слова:** биоразнообразие; биоиндикация; метилобактерии.

## PROPOSAL OF PHENOTYPIC INDICATION METHOD FOR THE PRESENCE OF *METHYLOSORUS* REPRESENTATIVES IN NATURAL SAMPLES

Zaychikov V.<sup>1</sup>, J. Berestovskaya<sup>2</sup>, L. Vasilyeva<sup>2</sup>, A. Semenov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

In this work we propose the method for indication the *Methylosorus* species in natural samples. The full description of *Methylosorus polaris* has already been published. The method based on it helps to distinguish *Methylosorus polaris* between other ecologically and taxonomically similar species in several simple stages. The method requires visual examination of Petri dishes, light microscopy and substrate growth testing. It is possible to modify this method in order to detect other methylophilic bacteria.

## О МНОГОЛЕТНЕЙ ДИНАМИКЕ СНЕГОВОГО ПОКРОВА В СИСТЕМЕ ТИПИЧНОГО ГЕОХИМИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА В ПРЕДЕЛАХ КЛИНСКО-ДМИТРОВСКОЙ ГРЯДЫ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Земсков Ф.И., Богатырев Л.Г., Жилин Н.И., Якушев Н.Л., Самсонова В.П., Бердиктова А.И., Кириллова Н.П.

Факультет почвоведения МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; vatomat@mail.ru

### Аннотация

Снежный покров является одним из важнейших показателей, широко используемых для характеристики особенностей климата, а в современный период - для определения особенностей поступления поллютантов и установления характера их загрязнения. Это находит отражение в довольно обширной научной литературе не только в разделах метеорологии, но и почвоведения и геохимии. Между тем, данные по мощности снежного покрова на различных элементах рельефа и для различных экосистем имеют большое значение для оценки водного режима лесных насаждений, прогнозирования урожайности и вероятных запасов почвенной влаги. Этой проблеме и посвящена настоящая работа. Исследована динамика снежного покрова в системе типичного геохимического ландшафта, охватывающего элювиальные, транзитные и аккумулятивные ландшафты для условий южно-таежных ландшафтов в течение 2011-2016 г.г. Показано, что максимальные величины мощности и запасы снега обычно обнаруживаются в условиях поймы и полян в лесу, тогда как минимальные обнаруживаются для лесных экосистем. Методами однофакторного дисперсионного анализа установлена степень влияния положения

элементарного ландшафта на мощность и запасы снегового покрова. Мощность снега в пределах каждого элементарного ландшафта, как правило, характеризуется низкими величинами варьирования и хорошо соотносится с запасами снега. Установлено, что независимо от снежности года, основными накопителями снега являются, как правило, аккумулятивные ландшафты.

**Ключевые слова:** ландшафт, снеговой покров, мощность и запасы снега.

## Введение

Снежный покров является одним из важнейших показателей, широко используемых для характеристики особенностей климата, а в современный период - для определения особенностей поступления поллютантов и установления характера их загрязнения. Это находит отражение в довольно обширной научной литературе не только в разделах метеорологии, но и почвоведения и геохимии. Между тем, данные по мощности снегового покрова на различных элементах рельефа и для различных экосистем имеют большое значение для оценки водного режима лесных насаждений, прогнозирования урожайности и вероятных запасов почвенной влаги. Этой проблеме и посвящена настоящая работа.

Исследована динамика снегового покрова в системе типичного геохимического ландшафта, охватывающего элювиальные, транзитные и аккумулятивные ландшафты для условий южно-таежных ландшафтов в течение 2011-2016 г.г. Показано, что максимальные величины мощности и запасы снега обычно обнаруживаются в условиях поймы и полян в лесу, тогда как минимальные обнаруживаются для лесных экосистем. Методами однофакторного дисперсионного анализа установлена степень влияния положения элементарного ландшафта на мощность и запасы снегового покрова. Мощность снега в пределах каждого элементарного ландшафта, как правило, характеризуется низкими величинами варьирования и хорошо соотносится с запасами снега. Установлено, что независимо от снежности года, основными накопителями снега являются, как правило, аккумулятивные ландшафты.

## Материалы и методы

Материалом для настоящей работы послужили многолетние исследования динамики снегового покрова, проведенные для условий южно-таежной подзоны в пределах Московской области. Непосредственным объектом исследования послужил геоморфологический профиль, заложенный в пределах УОПЭЦ Чашниково Солнечногорского района. Общая протяженность профиля составляла около 1300 метров. Весь профиль представлял собой геохимический ландшафт, который охватывал серию элементарных ландшафтов, в пределах которых проводились наблюдения за мощностью снегового покрова. Всего было изучено 5 пробных площадок.

Первая площадка (п.1) занимала территорию в пределах относительно выровненного участка центральной поймы с характерными для этого участка аллювиальными и аллювиально-луговыми болотными почвами. Одной из черт, характерных для поймы, является то, что вся её территория подверглась мелиорации, что сопровождалось не только плантажной вспашкой, но и строительством дренажных канав, большинство из которых в настоящее время заросли и несколько утратили свое значение в отношении дренирования.

Этим объясняется нередкое или зачастую близкое залегание к поверхности почвенно-грунтовых вод, подчас они залегают в пределах 1,2 метра. Это позволяет считать, что почвы, развивающиеся в пределах поймы, до сих пор существуют в полугидроморфном режиме.

Вторая площадка (п.2) занимала относительно выровненные элементы рельефа в пределах слабонаклонной части поляны в лесу, непосредственно примыкающего к склону северной экспозиции, занятой ельниками кисличниками.

Площадка третья (п.3) располагалась в пределах ельника кисличника с характерными для этого элементарного ландшафта дерново-подзолистыми почвами на покровных суглинках, подстилаемых тяжелосуглинистыми моренными отложениями и гораздо реже флювиогляциальными отложениями.

Следующая площадь (п.4) была приурочена к выровненному участку второй террасы, непосредственно располагающейся вблизи замкнутого пруда общей площадью не более 0,5 га. Здесь преимущественная роль принадлежит освоенным дерново-подзолистым почвам легко и среднесуглинистого состава с элементами намытости.

Элювиальный ландшафт, занимающий водораздел (п.5), характеризовался распространением здесь дерново-подзолистых почв, обычно освоенных, на покровных суглинках, подстилаемых флювиогляциальными и моренными отложениями.

В пределах всех изучаемых ландшафтов для постоянных многолетних наблюдений были выбраны относительно однотипные участки, в пределах которых проводились наблюдения за мощностью снегового покрова. Измерения проводились не менее двух раз в зимний период, в январе и марте – апреле, в зависимости от времени снеготаяния. Мощность снегового покрова измерялась в 20-50 точках случайным образом в пределах постоянной площади размером 50x50 м. Запасы снега и влагозапас определялись с помощью снегомера стандартным методом.

## Результаты

Полученные наблюдения позволили провести многолетнее сравнение мощности снегового покрова за период с 2010 по 2016 год в условиях различных ландшафтов.

**Пойменные ландшафты.** Рассмотрение данных, полученных для этой территории, показало, что мощность снега довольно существенно изменяется по годам, что связано в первую очередь с характером поступления зимних осадков. Так, оказалось, что в период 2010-2012 г.г. уровень снегового покрова существенно не менялся и в среднем составлял около 47 см. Следует отметить, что из всех изученных площадей территория поймы характеризовалась наибольшей выравненностью.

Довольно резкое, почти в 2 раза, увеличение мощности снегового покрова произошло в зимний период 2012-2013 г.г., что сопровождалось существенным снижением варьирования показателя, причем при однотипной выборке. Из всех периодов последующий сезон 2013-2014 г.г. оказался самым малоснежным. В этот период мощность снега в среднем составляла около 20 см, что сопровождалось значительным возрастанием варьирования этого показателя. В следующий сезон 2014-2015 г.г. произошло двойное увеличение мощности снегового покрова по сравнению с предыдущим годом, что сопровождалось заметным снижением варьирования этого показателя. И в последний сезон наблюдения – 2015-2016 г.г. отмечалось некоторое снижение мощности снегового покрова при довольно низком варьировании этой величины. Таким образом, за изученный период мощность снегового покрова в пределах пойменной территории характеризовалась определенной цикличностью, с отдельными существенными максимумами возрастания этой величины, особенно заметной для сезона 2012-2013 г.г., данные приведены в таблице 1.

**Поляна в лесу первой террасы.** Само положение этой территории, общей площадью не более 2 га и окаймляемой со всех сторон лесными насаждениями, предопределяет две особенности распределения снега в ее пределах. Первая особенность

**Таблица 1.** Мощность снегового покрова (95% доверительный интервал) на различных элементах геоморфологического профиля долины реки Клязьмы (2010-2016 гг.) n=25-50.

Сезон	Пойма (луг)	1 терраса (поляна в лесу)	Склон 2 террасы (ельник-кисличник)	2 терраса (Пашня)	Водораздел (Пашня)	Среднее для катены
2010-2011	46,5±2,9	50,8±2,5	47,2±2,3	54,7±2,9	53,6±4,4	49,7±1,5
2011-2012	46,9±1,6	50,2±1,9	35,0±1,9	36,2±2,0	31,0±1,3	38,4±1,3
2012-2013	73,0±1,0	76,3±2,7	61,1±2,6	70,0±1,8	60,3±1,1	69,3±1,5
2013-2014	20,6±1,0	21,6±1,5	11,7±1,8	н/д	19,2±2,2	18,9±1,0
2014-2015	43,0±1,2	50,6±1,1	20,0±0,7	29,7±1,9	47,3±2,7	38,1±1,6
2015-2016	28,6±0,7	32,2±0,7	20,1±0,5	29,1±0,8	25,9±0,8	27,2±0,6

заключается в том, что снег здесь в очень слабой степени подвергается переносу в смежные ландшафты, чему способствует и незначительный угол наклона этой площади, не превышающий 1°. Вторая особенность, отмеченная за годы наблюдений, заключается в том, что снег здесь сохраняется значительно дольше по сравнению с другими площадками. Данные таблицы, данной выше, показывают, что в сезоны 2010-2012 гг. также как и на пойме, снеговой покров довольно слабо различается, хотя общая мощность здесь несколько выше по сравнению с мощностью снега, наблюдаемой в пойме. Следующий сезон 2012-2013 гг., также как и для других ландшафтов, характеризовался максимальной мощностью снегового покрова. В последующий сезон 2013-2014 гг. произошло резкое снижение мощности снега при возрастании варьирования этой величины, если оценивать эту характеристику по коэффициенту варьирования. В следующий сезон 2014-2015 гг. произошло существенное увеличение мощности снега при снижении уровня варьирования. Последующий сезон 2015-2016 гг. характеризовался снижением мощности снега при сохранении уровня варьирования.

**Ельник – кисличник.** Мощность снега в пределах еловых насаждений, занимающих склон северо-восточной экспозиции, характеризовался теми же временными закономерностями, которые были отмечены выше для пойменных ландшафтов и поляны в лесу. Вместе с тем, существенной чертой является то, что здесь во все годы отмечается гораздо меньший уровень мощности снега по сравнению с указанными ландшафтами. Характерно, что в лесу отмечена самая наименьшая мощность снега, приуроченная к сезону 2013-2014 гг., что одновременно сопровождалось существенным увеличением варьирования этой величины. Следует добавить, что в целом для снежного покрова в пределах ельника для всех лет наблюдалось, как правило, не только высокое варьирование мощности снега, но и повышенная рыхлость снега.

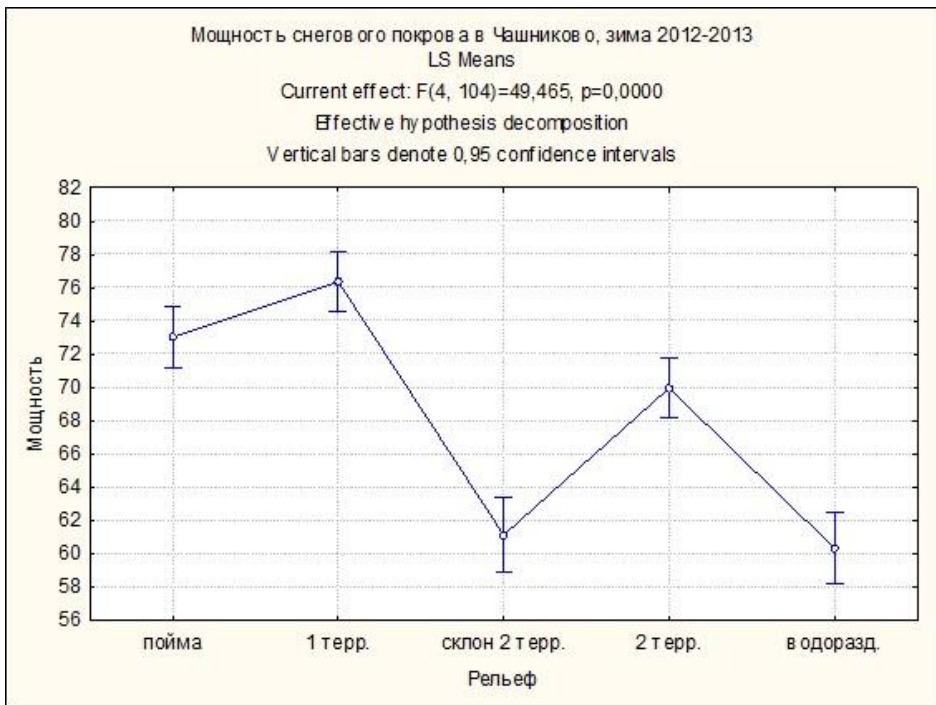
**Пашня 2 террасы.** В пределах указанной площади мощность снегового покрова во все изученные годы оказалась значительно выше по сравнению с мощностью снега в ельнике-кисличнике, это объясняется тем, что участок занимает аккумулятивные позиции. Установлено, что максимальная мощность снегового покрова, также как и для других площадей отмечалась в сезон 2012-2013 гг. Минимальные мощности снега оказались характерными для сезонов 2014-2016 гг., но с довольно высокой неравномерностью, особенно обнаруживаемой для сезона 2014-2015 гг.

**Водораздел (пашня).** Для условий водораздела, также как и для элементарных ландшафтов, характерный максимум отмечается в те же сезоны 2012-2013 гг. и



сравним с максимумом, который был обнаружен для условий ельника-кисличника. Минимальные уровни мощности снега также синхронны по времени с другими площадями и приурочены к зимнему сезону 2013-2014 годов. Особенно обращают на себя внимание высокие величины варьирования мощностей снега, что, вероятно, в первую очередь связано с деятельностью ветра, обуславливающего перемещение снегового покрова.

Для проверки влияния положения элементарного ландшафта в системе геохимического ландшафта на мощность снега требуется статистическое обоснование. В этих целях был использован однофакторный анализ, что позволило установить степень различия между мощностями снега на различных участках в различные годы. Так, оказалось, что в 2010-2011 годах по мощности снега достоверно различались две группы площадей. Первая группа была образована поймой и поляной в лесу и по мощностям снега была отлична от второй террасы. В 2011-2012 годах достоверны были отличия по мощностям снега для двух групп: в первую вошли пойма и поляна в лесу, во вторую группу вошли все остальные площади. В очень многоснежный сезон 2012-2013 г.г. достоверные различия обнаружены по мощности снега склона второй террасы и водораздела и другими площадями.



В 2013-2014 годах достоверное отличие обнаружено только для мощности снега в условиях склона второй террасы, тогда как остальные площади между собой достоверно не отличались. Наибольшее различие между исследуемыми площадями обнаружено для 2014-2015 годов, недостоверные отличия обнаружены только для мощностей снега в условиях поляны в лесу. В 2015-2016 годах в общую группу по мощности снега объединялись пойма и пашня второй террасы. Мощности снега на других площадях были отличны как между собой, так и от указанных групп.

## Заключение

Таким образом, установлено, что в системе сопряженных элементарных ландшафтов при однотипной максимальной мощности снега, приуроченной к сезону 2012-2013 г.г. и минимальной мощности, обнаруживаемой в зимний период 2013-2014 годов, для каждого из них характерны собственные черты, обусловленные положением площадей в рельефе и характером растительности. Соответствие мощности снега и его запасов показало, что они коррелируют между собой и отражают положение элементарного ландшафта в системе общего геохимического ландшафта.

Определение снежности по П.И. Колоскову показало, что по степени снежности ландшафты образуют ряд: пойма >лесная поляна >водораздел пашня> вторая терраса>ельник-кисличник.

Расчеты запасов снега за три года наблюдений показали, что во все годы исследований изолированная поляна в лесу демонстрировала наибольшие величины.

Запасы снега на различных элементах геоморфологического профиля долины реки Клязьмы в 2013-2016 гг., кг/м <sup>2</sup> (n=55)					
Сезон	Пойма (луг)	I терраса (суходольный луг)	Склон II террасы (ельник)	II терраса (пашня)	Водораздел (пашня)
2012-2013	167	233	124	189	143
2014-2015	48	76	23	46	72
2015-2016	53	50	30	46	41

Довольно значительные запасы снега, колеблющиеся от 143 до 233 кг/м<sup>2</sup> обусловлены тем, что в 2012-2013 годы снежный покров характеризовался не только многоснежностью, но и тем, что в снегу обнаруживались плотные прослойки льда, что существенно увеличивало запасы снега. В другие годы наблюдений подобные прослойки отсутствовали.

Уровень залегания грунтовых вод весной хорошо соотносится с глубиной снегового покрова в этом сезоне. Так, для пойменных ландшафтов с их высокой мощностью снегового покрова характерно близкое залегание почвенно-грунтовых вод, которые даже в летний период не опускаются глубже 1,5 м. В весенние и осенние периоды на водоразделе почвенно-грунтовые воды могут обнаруживаться в пределах 1,5 метров. Наименьшие величины запасов и мощности снега в условиях ельника-кисличника в сочетании с его положением в условиях транзитного ландшафта и хорошей дренированности обуславливают здесь глубокое залегание почвенной грунтовых вод в течение года.

## Цитируемая литература

- 1.Василенко В.Н., Артемов И.Е., Беликова Т.В., Успин А.А. Кислотно-щелочные характеристики снежного покрова территории России // Метеорология и гидрология, 2007, N4, с.100-104.
- 2.Еремина И.Д., Григорьев А.В. Кислотность и химический состав снежного покрова в Москве, и Подмосковье за период 1999-2006 гг. // Вестник Московского университета. Серия 5: География, Изд-во Моск. ун-та (М.), 2010, № 3, с. 55-60.
- 3.Калинин Н.А., Шихов А.Н., Связов Е.М. Моделирование процессов снегонакопления и снеготаяния на водосборе Воткинского водохранилища с использованием модели WRF-ARW //Метеорология и гидрология, 2015, N11, с.57-68.

4. Китаев Л.М., Володичева Н.А., Олейников А.Д. Многолетняя динамика снежности на северо-западе Русской равнины // *Материалы гляциологических исследований*, 2007, № 102, с. 65-72.
5. Китаев Л.М., Рузаев В.Н., Хейно Р., Форланд Э. Продолжительность залегания снежного покрова в Северной Европе // *Метеорология и гидрология*, 2006, №3, с. 95-100.
6. Попова В.В., Морозова П.А., Титкова Т.Б., Семенов В.А., Черенкова Е.А., Ширияева А.В., Китаев Л.М. Региональные особенности современных изменений зимней аккумуляции снега на севере Евразии по данным наблюдений, анализа и спутниковых измерений // *Лёд и Снег*. 2015, 55(4) с.73-86.
7. Сороковицова Л.М., Синюкович В.Н., Нецветаева О.Г., Томберг И.В., Сезько Н.П., Лопатина И.Н. Химический состав снеговых и речных вод юго-восточного побережья оз. Байкал // *Метеорология и гидрология*, 2015, N5, с.71-83.
8. L.Kitaev, E.Barabanova. Snow cover as an indicator of urban territories condition // *Environmental indices: systems analyses, approach*, London, EOLSS, 1999, p.412-418.

## **ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ В ХОДЕ ЕЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ**

**Зиннатшина Л.В.<sup>1</sup>, Васильева Г.К.<sup>2</sup>, Манджиева С.С.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Пушчинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;

L.zinnatshina@mail.ru

<sup>2</sup>Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

<sup>3</sup>Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия

### **Аннотация**

В нефтезагрязненных почвах возможно угнетение и последующая гибель как аборигенных, так и инокулированных микроорганизмов-деструкторов, что затрудняет процесс биоремедиации. Основной целью данной работы было изучение механизмов действия ряда натуральных сорбентов (минеральные, органические и углеродистые) на скорость биоремедиации нефтезагрязненных почв и возможность использования фито- и биотестов для контроля за процессом. Исследования проводились на серой лесной почве, загрязненной выветренной нефтью и нефтепродуктами с исходной концентрацией углеводов 5-15%. В процессе биоремедиации, помимо определения остаточных концентраций углеводов и их метаболитов (суммарно – методами ИК-спектрометрии и группы ПАУ – методом ГЖХ), использовались различные методы определения интегральной токсичности почв. Для выбора оптимальных условий биоремедиации разработан экспресс-метод фитотестирования по всхожести семян клевера ползучего/белого (*Trifolium repens* L.), на окончательной стадии для оценки эффективности метода очистки применяли сертифицированные методы фитотестирования – по длине корней пшеницы и показателям роста растений [ИСО 11269-1]. В качестве биотеста использовали показатель численности жизнеспособных клеток микроорганизмов-деструкторов углеводов (МД), которую определяли методом высева на селективные среды. Установлено, что внесение оптимальных доз ряда натуральных сорбентов существенно ускоряет процесс биоремедиации, что объясняется снижением токсичности почвы и улучшением водно-физических свойств. Показано, что при остаточной концентрации выветренных углеводов >0,5-1% наблюдается тесная положительная корреляция между данными фитотоксичности, определенными с помощью экспресс-метода и по длине корней пшеницы, а также тесная отрицательная корреляция между фитотоксичностью и остаточными концентрациями углеводов (R в пределах от -0,6 до -0,85). Однако при сравнительно низком уровне загрязнения более существенное влияние на всхожесть семян и показатели роста растений могут оказывать другие факторы: pH почвы, содержание биофильных элементов (NPK), водно-физические свойства и гидрофобность почвы, а также степень освещенности растений. Влияние загрязнителя на численность МД также неоднозначно. Угнетение нефтеструкторов наблюдалось при концентрации углеводов более 5-

15%, тогда как при более низких концентрациях загрязнителя их численность может наоборот возрастать, а более сильный угнетающий эффект оказывают другие условия инкубирования. Поэтому, без всестороннего учета влияния разных факторов на опытные и контрольные образцы при проведении фито- и биотестов могут быть получены ошибочные выводы о токсическом воздействии загрязнителя. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №16-05-00617 и № 16-35-50089 мол-нр.

**Ключевые слова:** нефть, фитотестирование, биоремедиация

## **Influence of adsorbents on biological characteristics of petroleum-contaminated soils in the course of bioremediation**

**Zinnatshina L.V., S.S. Mandjjeva, G.K. Vasilyeva**

The main objective of this research is to study the influence of some natural adsorbents (mineral, organic and carbon) on the rate of bioremediation of contaminated soils and the use of phyto- and bioassays to monitor the process. Studies were carried out on gray forest soil contaminated by weathered oil and products with an initial concentration of hydrocarbons 5-15%. It has been indicated that optimal doses of some adsorbents may substantially accelerate the process of bioremediation. The mechanism of this effect connected with the reduction of soil toxicity and improving water-physical properties. An express method of phytotest (on clover seed germination) has been developed for choosing optimal conditions of bioremediation. The effectiveness of bioremediation was estimated with certified testing methods – on the length of the wheat roots and plant growth characteristics. However, the influence of some other soil characteristics (pH, NPK concentrations and others) should be taken into account when phytotests are carried out, especially for low contaminated soils.

## **МИКРОВОДОРОСЛИ В ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛОВ**

**Ипатова В.И., Михеев М.А.**

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра гидробиологии, Москва, Россия; viipatova@hotmail.com

### **Аннотация**

Изучали влияние бихромата калия и сульфата кадмия на микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. По результатам хронических испытаний были рассчитаны величины ЛК50 и пороговые концентрации (ЛК20) и на их основе индекс токсичности, показатель опасности и индекс опасности исследованных веществ. По величине ЛК50 за 3 суток сульфат кадмия на порядок токсичнее бихромата калия для культуры *S. quadricauda*. С увеличением срока наблюдений токсичность бихромата для *S. quadricauda* в целом возрастает, а сульфата кадмия снижается. Токсичность сульфата кадмия и бихромата калия для *M. arcuatum* по величине ЛК50 за 3 суток близка и с увеличением срока испытаний возрастает. По всем исследованным показателям роста *S. quadricauda*, величинам ЛК50 и рассчитанным индексам токсичности, показателям опасности и индексам опасности сульфат кадмия более токсичен и опасен, чем бихромат калия. Для *M. arcuatum* в отличие от *S. quadricauda* токсичность сульфата кадмия по всем исследованным показателям была или сопоставима или меньше токсичности бихромата калия. Чувствительность *M. arcuatum* по величине ЛК50 к двум эталонным токсикантам сходна и соответствует стандарту для культуры *S. quadricauda*. *S. quadricauda* – более чувствительный тест-объект, чем *M. arcuatum*, поскольку токсичность сульфата кадмия для *S. quadricauda* по сравнению с *M. arcuatum* по всем исследованным показателям выше, чем бихромата калия.

**Ключевые слова:** *Scenedesmus quadricauda*, *Monoraphidium arcuatum*, бихромат калия, сульфат кадмия, сравнительная токсичность

## Введение

В условиях современного постоянно возрастающего антропогенного воздействия на водные экосистемы остается актуальной проблема совершенствования методов биотестирования и способов оценки состояния окружающей среды. Использование культур микроводорослей в экологических исследованиях дает возможность, во-первых, исследовать действие токсиканта на функциональные и морфологические показатели растительной клетки (клеточный уровень); во-вторых, оценить действие токсиканта на модельную популяцию микроводорослей (популяционный уровень) и выявить отдаленные последствия его действия, а, кроме того, изучить некоторые экологические особенности той или иной группы водорослей [1, 2, 3].

Основной характеристикой состояния культур микроводорослей на популяционном уровне является общее число клеток. Однако численность клеток водорослей в популяции в присутствии токсиканта в среде может меняться сложным образом [4]. Это связано с тем, что токсикант изменяет клеточный состав популяции, воздействуя на скорость размножения и гибели клеток, длительность клеточного цикла и функциональное состояние клеток. Поэтому возникает необходимость использования различных характеристик роста культур микроводорослей, отражающих мозаичный ответ на действие токсиканта, а также использование индексов токсичности для получения адекватной оценки токсичности вещества для одной культуры или сравнительной токсичности двух и более веществ на различные виды микроводорослей.

Тяжелые металлы представляют серьезную угрозу для биоты вследствие их токсичности и постепенного накопления в окружающей среде и живых организмах до опасного уровня.

Бихромат калия и сульфат кадмия широко используются как в России, так и в мировой практике, для оценки чувствительности различных тест-объектов при проведении биотестирования в качестве эталонных токсикантов. Хром ( $\text{Cr}^{6+}$ ) относят к третьему, а кадмий – ко второму классу опасности.

Культура зеленой хлорококковой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Gréb. широко используется в качестве тест-объекта как в России, так и за рубежом и рекомендована рядом документов для биотестирования и нормирования качества водной среды. *M. arcuatum* – новый тест-объект, который может быть использован в биотестировании [5, 6].

Цель настоящей работы – применить новый подход, основанный на расчете соотношений полуэффективных и пороговых концентраций, в оценке сравнительной токсичности бихромата калия и серноокислого кадмия для культур зеленых хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Gréb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind.

## Материалы и методы

Объектами исследования являлись альгологически чистые культуры зеленых хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Gréb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind, которые выращивали на среде Успенского №1. Действие токсикантов бихромата калия и сульфата кадмия на микроводоросли оценивали в концентрациях 10, 1, 0,1 и 0,01 мг/л (в расчете на соль) в трехкратной повторности в остром (3 суток) и хроническом (31 сутки) опытах.

Основными показателями состояния культуры служили – изменение численности клеток (абсолютной и по сравнению с контролем), ростовых характеристик культуры (время генерации  $g$ , удельная скорость роста  $V$ , соотношение живых и мертвых клеток в динамике ее развития в норме и при интоксикации). Время генерации рассчитывали по формуле:  $g=(t_2-t_1) \times [\ln(2)/\ln(q_2/q_1)]$ , где  $q_2$  – численность на момент времени  $t_2$ ,  $q_1$  – численность на момент времени  $t_1$ . Удельную скорость роста рассчитывали по формуле:  $V=(\ln N/N_0)/t$ , где  $N_0$  – исходная численность,  $N$  – конечная численность на 31 сутки опыта,  $t$  – срок в сутках (31 сутки).

Исходная плотность клеток в опытах составляла  $50 \pm 5$  тыс кл/мл. Численность клеток подсчитывали в камере Горяева под световым микроскопом. Определение живых и мертвых клеток в культурах осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа Carl Zeiss Axioscop 2 FS Plus. При облучении объекта короткими синевioletовыми лучами получали длинноволновое видимое свечение объекта: живые клетки имели ярко-красное свечение, а мертвые – зеленое. Контролем служил рост водорослей в чистой среде без добавления токсикантов.

Чувствительность культуры к токсикантам оценивали по величине ЛК<sub>50</sub> (полуживая концентрация) и МДК (минимальная действующая концентрация=ЛК<sub>20</sub>, вызывающая угнетение роста на 20%) за 3, 7, 10, 21 и 31 суток. По результатам хронических испытаний были рассчитаны индекс токсичности (ИТ), показатель опасности (ПО) и индекс опасности (ИО) [7], позволяющие сравнивать между собой токсичность и опасность двух различных токсикантов для микроводорослей, по следующим формулам:

$$\begin{aligned} \text{ИТ}(\text{CdSO}_4) &= \text{ЛК}_{50}(\text{CdSO}_4) / \text{ЛК}_{50}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \\ \text{ПО}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) &= \text{ЛК}_{50}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) / \text{МДК}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \\ \text{ПО}(\text{CdSO}_4) &= \text{ЛК}_{50}(\text{CdSO}_4) / \text{МДК}(\text{CdSO}_4) \\ \text{ИО}(\text{CdSO}_4) &= \text{ПО}(\text{CdSO}_4) / \text{ПО}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \end{aligned}$$

Оценку токсического действия проводили на основании достоверности различий опытных значений численности клеток по сравнению с контролем.

## Результаты

Бихромат калия и серноокислый кадмий в интервале исследованных концентраций оказывали достоверное токсическое действие на изменение численности клеток культуры *S. quadricauda*, при этом наибольшее токсическое действие отмечено при концентрациях 1 и 10 мг/л.

Сульфат кадмия оказывал большее токсическое действие *S. quadricauda*, чем бихромат калия, что выражалось в более сильном угнетении ее роста. Доля живых клеток в культуре со временем снижалась, особенно при 10 мг/л сульфата кадмия. Число клеток на 3 сутки опыта и стационарной фазе развития культуры было обратно пропорционально концентрации токсикантов (табл. 1).

Развитие культуры *M. arcuatum* в присутствии токсикантов в целом было сходным с развитием *S. quadricauda*.

Основное отличие в росте *M. arcuatum* по сравнению с *S. quadricauda* заключалось в большей токсичности для нее бихромата калия, чем сульфата кадмия.

Таблица 1. Характеристики роста культуры *Scenedesmus quadricauda* в присутствии бихромата калия и сульфата кадмия

Токсикант	Конц., мг/л	Число клеток (N $\times$ 10 <sup>4</sup> кл/мл) на 3 сутки	Время генерации на стадии логарифмического роста (g) (сут.)	Число клеток (N $\times$ 10 <sup>4</sup> кл/мл) на стационарной фазе	Удельная скорость роста за 31 сутки (V) (1/сут.)
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	К	29,8	4,91	507	0,150
	0,01	36,7	3,80	452	0,144
	0,1	23	3,33	410	0,144
	1	18,3	3,14	411	0,142
	10	4,1	культура не росла	4	0,001
CdSO <sub>4</sub>	К	54	2,67	380	0,149
	0,01	34,3	2,79	378	0,133
	0,1	14,7	2,55	368	0,145
	1	8,8	культура не росла	6	0,004
	10	7,8	культура не росла	4	0,002

Доля живых клеток в культуре *M. arcuatum* во всех случаях была ниже уровня контроля, а при действии 0,1 и 0,01 мг/л сульфата кадмия - была практически на уровне контроля.

Число клеток на 3 сутки роста и стационарной фазе развития *M. arcuatum* было, как и у *S. quadricauda*, обратно пропорционально концентрации обоих токсикантов (табл. 2).

Таблица 2. Характеристики роста культуры *Monoraphidium arcuatum* в присутствии бихромата калия и сульфата кадмия

Токсикант	Конц., мг/л	Число клеток (N $\times$ 10 <sup>4</sup> кл/мл) на 3 сутки	Время генерации на стадии логарифмического роста (g) (сут.)	Число клеток (N $\times$ 10 <sup>4</sup> кл/мл) на стационарной фазе	Удельная скорость роста за 31 сутки (V) (1/сут.)
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	К	57,8	2,96	1245	0,166
	0,01	52,7	2,61	885	0,152
	0,1	46,5	3,41	648	0,151
	1	29,8	2,31	548	0,144
	10	8,2	культура не росла	7,2	-0,002
CdSO <sub>4</sub>	К	56,8	3,51	1350	0,153
	0,01	53,3	3,47	1297,5	0,151
	0,1	51,3	4,27	1149,2	0,146
	1	28,5	2,72	1102,5	0,159
	10	4,3	культура не росла	5,8	0,002

### Сравнительная токсичность бихромата калия и сульфата кадмия для *S. quadricauda*

Величина ЛК<sub>50</sub> бихромата калия за 3 суток (0,975 мг/л) свидетельствует о соответствии чувствительности культуры *S. quadricauda* стандарту, поскольку эта величина находится в интервале 0,2-2,0 мг/л, рекомендованном рядом методик по определению качества природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, грунтов и др. [8, 9, 10]. Величина ЛК<sub>50</sub> сернокислого кадмия за 3 суток (0,018 мг/л) была на 2 по-

рядка меньше, чем для бихромата калия, что свидетельствует о его большей токсичности, по сравнению с бихроматом калия (табл. 3).

Таблица 3. Индекс токсичности (ИТ) и индекс опасности (ИО)  $\text{CdSO}_4$  по сравнению с  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  для культуры *Scenedesmus quadricauda*

с у т к и	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub>	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> / ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ИТ CdSO <sub>4</sub> )	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> / ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> (ИТ K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	МДК CdSO <sub>4</sub>	МДК K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> / МДК CdSO <sub>4</sub> (ПО)	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> / МДК K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ПО)	ПО CdSO <sub>4</sub> / ПО K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ИО)
3	0,018	0,975	0,02	54,17	0,001	0,261	13,85	3,73	3,71
7	0,108	0,296	0,36	2,74	0,030	0,053	3,58	5,59	0,64
10	0,070	1,261	0,05	18,02	0,024	0,284	2,95	4,44	0,66
14	0,099	0,359	0,28	3,61	0,035	0,103	2,86	3,50	0,82
17	0,047				0,016		2,99		
21	0,082	0,419	0,20	5,09	0,029	0,139	2,84	3,01	0,94
24	0,151	0,376	0,40	2,48	0,066	0,127	2,30	2,97	0,77
28	0,442				0,256		1,73		
31	0,224	0,533	0,42	2,38	0,104	0,184	2,15	1,22	1,76

С увеличением срока испытаний с 3 до 31 суток ЛК<sub>50</sub> сернокислого кадмия увеличивается на порядок, а ЛК<sub>50</sub> бихромата калия уменьшается в 2 раза, т.е. со временем токсичность сернокислого кадмия уменьшается, а бихромата калия увеличивается.

Величина ИТ сернокислого кадмия по отношению к бихромату калия также со временем увеличивается и указывает на снижение токсичности сернокислого кадмия.

МДК сульфата кадмия на 3 суток на 2 порядка меньше МДК бихромата калия, что свидетельствует о большей токсичности первого. Со временем величина МДК сульфата кадмия увеличивается и варьирует в пределах 2 порядков, что подтверждает снижение его токсичности. А величина МДК бихромата калия со временем варьирует незначительно.

ПО сернокислого кадмия выше ПО бихромата калия как на 3 суток, так и на 31 суток. ПО сернокислого кадмия со временем уменьшается в 6 раз, а ПО бихромата калия - в 3 раза.

Максимальные значения ИО сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия отмечены на 3 и 31 сутки опыта и свидетельствуют о большей опасности сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия.

Таким образом, ЛК<sub>50</sub>, МДК и ИТ сернокислого кадмия со временем увеличиваются. Следовательно, его токсичность уменьшается. Тем не менее, показатель ИО сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия сохраняет высокие значения на 3 и 31 сутки, что свидетельствует о длительной высокой опасности первого. А уменьшение со временем ЛК<sub>50</sub> бихромата калия свидетельствует об увеличении его токсичности.



Рассчитанные ИТ и ИО, как и ростовые характеристики культуры *S. quadricauda*, также свидетельствуют о большей токсичности и опасности сернокислого кадмия для *S. quadricauda* по сравнению с бихроматом калия.

**Сравнительная токсичность бихромата калия и сульфата кадмия для *M. arcuatum***

Значения ЛК<sub>50</sub> сульфата кадмия и бихромата калия на 3 сутки в остром опыте были близки (табл. 4) и свидетельствуют о сходной токсичности обоих токсикантов для *M. arcuatum*.

Таблица 4. Индекс токсичности (ИТ) и индекс опасности (ИО) CdSO<sub>4</sub> по сравнению с K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> для культуры *Monoraphidium arcuatum*

с у т к и	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub>	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> / ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ИТ CdSO <sub>4</sub> )	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> / ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> (ИТ K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	МДК CdSO <sub>4</sub>	МДК K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	ЛК <sub>50</sub> CdSO <sub>4</sub> / МДК CdSO <sub>4</sub> (ПО)	ЛК <sub>50</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> / МДК K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ПО)	ПО CdSO <sub>4</sub> / ПО K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ИО)
3	0,707	0,720	0,98	1,02	0,217	0,163	3,26	4,42	0,74
7	0,433	0,123	3,52	0,28	0,166	0,032	2,61	3,84	0,70
10	0,420	0,136	3,09	0,32	0,152	0,041	2,76	3,32	0,83
14	0,341	0,153	2,23	0,45	0,111	0,040	3,07	3,82	0,80
17		0,136				0,035		3,88	
21	1,221	0,122	10,01	0,10	0,692	0,036	1,76	3,39	0,52
24	0,634				0,242		2,62		
28	0,601	0,089	6,75	0,15	0,228	0,023	2,63	3,87	0,68
31	0,560	0,110	5,09	0,20	0,201	0,029	2,79	3,79	0,74

С увеличением срока испытаний ЛК<sub>50</sub> сульфата кадмия для *M. arcuatum*, в отличие от *S. quadricauda*, в целом немного уменьшалась (за исключением 21 суток), что свидетельствует о небольшом увеличении токсичности сульфата кадмия со временем. А ЛК<sub>50</sub> бихромата калия для *M. arcuatum* со временем уменьшалась в 7 раз, т.е. токсичность бихромата калия со временем увеличивалась.

Величина ИТ сернокислого кадмия по отношению к бихромату калия для *M. arcuatum*, как и для *S. quadricauda*, также со временем увеличивалась (в 5 раз), что указывает на снижение токсичности сульфата кадмия.

Значения МДК сульфата кадмия и бихромата калия на 3 сутки были близки, следовательно чувствительность *M. arcuatum* к токсикантам, оцениваемая по величине МДК на 3 сутки, была сходной, в отличие от *S. quadricauda*, для которой чувствительность к сульфату кадмия была на два порядка больше, чем к бихромату калия. С увеличением срока опыта МДК сульфата кадмия менялась незначительно, а бихромата калия уменьшалась на порядок, т.е. токсичность бихромата калия со временем возрастала.

ПО сульфата кадмия был немного меньше, чем ПО бихромата калия как на 3, так и на 31 сутки опыта, и в целом со временем уменьшался незначительно. Следовательно, по ПО токсичность и опасность обоих токсикантов для *M. arcuatum* была

близкой, в отличие от *S. quadricauda*, для которой ПО кадмия на 3 сутки был почти в 4 раза выше, чем ПО бихромата калия.

Значение ИО сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия как на 3, так и на 31 сутки, составляло 0,74, т.е. было близко к единице, что свидетельствует о сходной опасности двух токсикантов в отличие от *S. quadricauda*, для которой опасность сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия была намного выше.

По всем ростовым характеристикам (максимальное угнетение роста за весь срок опыта, время генерации на стадии логарифмического роста, удельная скорость роста, доля живых клеток), а также величинам ЛК<sub>50</sub> (3 и 31 сутки), МДК (3 и 31 сутки), ИТ (3 и 31 сутки), ПО (3 и 31 сутки), ИО (3 и 31 сутки), для культуры *S. quadricauda* сульфат кадмия более токсичен, чем бихромат калия. Следует отметить, что для этой культуры более высокая токсичность сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия была на 3 сутки острого опыта и сохранялась на 31 сутки хронического опыта.

Для *M. arcuatum* в отличие от *S. quadricauda* токсичность сульфата кадмия по всем исследованным показателям роста и рассчитанным показателям токсичности была или сопоставима или меньше токсичности бихромата калия. При этом сходная токсичность сульфата кадмия и бихромата калия была отмечена по показателю времени генерации на стадии логарифмического роста, по величинам МДК и ИТ за 3 суток, а меньшая токсичность сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия обнаружена по всем остальным показателям роста и показателям токсичности – ЛК<sub>50</sub>, МДК и ИТ на 31 сутки; ПО и ИО на 3 и 31 сутки.

### **Заключение**

Традиционно при оценке сравнительной токсичности различных веществ при биотестировании используют величину ЛК<sub>50</sub> за 3 суток в острых опытах. Нами дополнительно были рассчитаны величины ЛК<sub>50</sub> и МДК за все сроки наблюдений в хронических экспериментах длительностью 31 сутки и на их основе рассчитаны индекс токсичности (ИТ) и индекс опасности (ИО) на разные сроки наблюдений. Этот подход ранее был предложен для животных тест-объектов на организменном уровне [7]. Мы впервые применили его для растительного тест-объекта на популяционном уровне.

Все исследованные характеристики роста двух культур в присутствии бихромата калия и сульфата кадмия и рассчитанные индексы токсичности и опасности двух сравниваемых токсикантов позволяют заключить, что для *S. quadricauda* сульфат кадмия более токсичен, чем бихромат калия. Причем большая токсичность сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия по большинству показателей проявляется как на 3 (в краткосрочном опыте), так и на 31 сутки (в длительных испытаниях). В отличие от культуры *S. quadricauda*, для *M. arcuatum* токсичность сульфата кадмия была меньше или сопоставима с токсичностью бихромата калия. При этом сходная токсичность двух веществ отмечена по ЛК<sub>50</sub>, МДК и ИТ за 3 суток опыта, а меньшая токсичность сульфата кадмия по сравнению с бихроматом калия отмечена по показателям роста и рассчитанным показателям токсичности ЛК<sub>50</sub>, МДК, ИТ за 31 суток, ПО и ИО за 3 и 31 суток.

С увеличением срока испытаний токсичность исследуемых веществ может как усиливаться вследствие накопительного эффекта тяжелых металлов, которые со временем могут накапливаться в клетках водорослей, так и уменьшаться вследствие адаптации культуры к ним за счет различных внутриклеточных и внеклеточных механизмов детоксикации металлов. В частности, одной из причин уменьшения ток-

сичности металла со временем может быть уменьшение концентрации металла в среде за счет связывания его как на поверхности клеток, так и в среде (различными лигандами) и перехода в недоступную форму. Поэтому для более адекватной оценки токсичности веществ необходимо проводить длительные испытания, выявляющие токсичность малых концентраций, которую недоучитывают краткосрочные опыты.

### Цитируемая литература

1. Schafer H., Hettler H., Fritsche U., Pitzen G., Rodeger G. and Wenzel A. Biotests using unicellular algae and ciliates for predicting long-term effects of toxicants // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1994. V. 27. N 1. P. 64—81.
2. Ipatova V.I., Prokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G. Structural changes and adaptation of algal population under the different regimens of toxic exposure // *Unifying Themes in Complex Systems VII. Proceedings of the Seventh International Conference on Complex Systems / Eds. Minai, Ali A.; Braha, Dan; Bar-Yam, Yaneer. Springer, 2012. P. 149-156.*
3. Ipatova V.I., Spirkina N.E., Dmitrieva A.G. Resistance of Microalgae to Colloidal Silver Nanoparticles // *Russian Journal of Plant Physiology, издательство Maik Nauka/Interperiodica Publishing (Russian Federation).* 2015. Т. 62. № 2. с. 253-261.
4. Филенко О. Ф. Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1990. 36 с.
5. Спиркина Н.Е., Ипатова В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф. Сравнительная динамика роста культур микроводорослей видов *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. и *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. // *Бюлл. МОИП.* 2014. Т. 119. Вып. 2. С. 64—69.
6. Спиркина Н.Е., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф., Ипатова В.И. Влияние бихромата калия на развитие и структуру популяции одноклеточной хлорококковой водоросли *Monoraphidium arcuatum* (Korsch) // *Экологические системы и приборы.* 2014. № 4. С. 36-42.
7. Дулов А.С., Радилев А.С., Глушкова А.В. Методические подходы к оценке сравнительной токсичности наночастиц и наноматериалов и продукции на их основе // *Сб. трудов 4 съезда Токсикологов России, 6-8 ноября 2013 г. Москва. 2013. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М.: Изд-во Capital Press, 2013. 596 с.*
8. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по измерению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. М.: Изд-во Акварос, 2007. 48 с.
9. Терехова В. А., Воронина Л. П., Гершкович Д. В., Ипатова В. И., Исакова Е. Ф., Котелевцев С. В., Попутникова Т. О., Рахлеева А. А., Самойлова Т. А., Филенко О. Ф. Биотест-системы для задач экологического контроля: методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест-культур. М.: Изд-во Доброе слово, 2014. 48 с.
10. Филенко О. Ф., Исакова Е. Ф., Гершкович Д. М., Ипатова В. И., Дмитриева А. Г. Биотестирование качества среды с использованием гидробионтов. Раздел большого практикума по гидробиологии. Учебно-методическое пособие. М.: Изд-во МГУ, 2015. 44 с.

## MICROALGAE IN THE EVALUATION OF METAL TOXICITY

Ipatova V.I., Mikheev M.A.

The effect of potassium dichromate and cadmium sulfate on microalgae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. and *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. was studied.  $LC_{50}$ , the threshold concentrations, index of toxicity, index of danger and the hazard index of the substances were calculated as a result of chronic tests. It is shown that cadmium sulphate is more toxic to the population of *S. quadricauda* than potassium dichromate according to the  $LC_{50}$  value. Potassium dichromate toxicity to *S. quadricauda* increases and cadmium sulfate toxicity decreases with increasing test term. Toxicity of cadmium sulphate and potassium dichromate estimated by the  $LC_{50}$  value for *M. arcuatum* is close and increases with the test term. Cadmium sulfate is more toxic and dangerous than the potassium dichromate for all investigated growth parameters of *S. quadricauda*, the  $LC_{50}$  value and the calculated index of

toxicity, index of danger and the hazard index. For *M. arcuatum* unlike *S. quadricauda* toxicity of cadmium sulfate was either comparable to or less than the toxicity of potassium dichromate. Sensitivity of *M. arcuatum* to the two reference toxicants estimated by LC<sub>50</sub> value is similar. *S. quadricauda* is more sensitive test object than *M. arcuatum* as the toxicity of cadmium sulphate to *S. quadricauda* is higher than potassium dichromate for all investigated parameters.

**Keywords:** *Scenedesmus quadricauda*, *Monoraphidium arcuatum*, potassium dichromate, cadmium sulphate, the comparative toxicity

## **ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ПРИРОДНЫХ И НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ**

**Казеев К.А.**

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; kamil\_kazeev@mail.ru

### **Аннотация**

Изложен двадцатилетний опыт применения биологических свойств (прежде всего ферментативной активности) почв в диагностике и индикации состояния почв. Проведен сравнительный анализ используемых показателей, выявлены наиболее информативные из них, определены перспективы их использования. Однородные по химическим, физическим и другими свойствам почвы обладают близкими биологическими свойствами. По степени однородности биологические показатели можно расположить в ряд: биохимические (гумус, ферменты), микробиологические, зоологические. Максимум численности большинства организмов почв обычно приурочен к поверхностным горизонтам независимо от их типа. Однако, при неблагоприятных значениях факторов среды (температуры, влажности, засоления, осолодения и др.) максимальная биогенность может смещаться в нижележащие горизонты. Колебания показателей биологических свойств в нижней части профиля гораздо менее существенны, чем в верхней. Разные типы почв отличаются по показателям биогенности и биологической активности. Биологические различия тем сильнее, чем больше отличаются факторы почвообразования и свойства почв. Максимально различаются целинные почвы. При распашке или ином сельскохозяйственном использовании почв происходит уравнивание свойств почв, в том числе и биологических. Деградированные почвы независимо от их типов обладают сходной низкой биологической активностью. Среди исследуемых более 20 типов и подтипов почв Юга России наиболее устойчивыми являются черноземы обыкновенные предкавказские. Для диагностики степени восстановления пахотных черноземов в результате демутиации наряду с увеличением разнообразия флоры и фауны, изменением плотности и оструктуренности отмечено увеличение содержания гумуса, численности микроорганизмов и активности ряда ферментов. Показатели численности и, особенно, разнообразия микроорганизмов практически незаменимы при диагностике и мониторинге электромагнитного воздействия и загрязнения антибиотиками. В этих случаях эффективно применение показателей численности микроорганизмов, определенное разными методами, функциональное и структурное разнообразие микрофлоры, микробная биомасса и другие микробиологические показатели. В большинстве случаев биохимические показатели и, прежде всего, активность почвенных ферментов были наиболее информативными при диагностике и мониторинге почв. На каждый вид воздействия определен набор ферментов индикаторов, включающий гидролазы и оксидоредуктазы. Для оценки последствий влияния сельскохозяйственного использования на биологическую активность почв наиболее информативными являются активность дегидрогеназы и инвертазы. В целях диагностики последствий загрязнения нефтью и нефтепродуктами, тяжелыми металлами, ионизирующими излучениями и гидроморфизма более пригодны активность каталазы и дегидрогеназы.

Очень чувствительным и информативным показателем переувлажнения почв является активность ферриредуктазы. В результате накопленного опыта можно рекомендовать методы ферментативной диагностики для проведения диагностики плодородия, экологического состояния и устойчивости почв к антропогенному воздействию.

**Ключевые слова:** почвы, биоиндикация, биодиагностика, ферментативная активность, антропогенное воздействие, биологическая активность

### Введение

Диагностика и мониторинг почв является важной составляющей как локального, так и глобального мониторинга. Также как и другие среды обитания почву исследуют с помощью биологических показателей. Микробное разнообразие и биохимические показатели - важные индикаторы состояния почвы, поскольку они вовлечены в разложение органических веществ и поддержание устойчивого функционирования почв (Казеев и др., 2004; Burns et al., 2013). Биологические показатели часто используются как чувствительные индикаторы плодородия почв при разных системах земледелия и степени ее деградации при антропогенных воздействиях (Хазиев, 2004; Geisseler, Horwath, 2009; Comprehensive Assessment..., 2016). Ферментативная активность и микробный пул почвы давно использовались при оценке экологического состояния почв (Галстян, 1974, 1978; Хазиев, 1976; Pettit et al., 1976; Звягинцев, 1978; Dick, 1992; Dick, Kandeler, 2005). В последние годы работ российских ученых становится меньше, что связано со старением кадров и мнением о том, что методы определения активности почвенных ферментов устарели и неактуальны, также как и традиционные микробиологические методы. Однако в зарубежной литературе показатели ферментативной активности используются не менее эффективно, чем раньше (Trasar-Cepeda et al., 2008; Shukla, Varma, 2011; Henry, 2012; Burns et al., 2013; Loepmann et al., 2016).

Обычно перед исследователем, изучающим экологическое состояние при антропогенном воздействии, стоит проблема подбора методов для выполнения своей конкретной работы. При этом он сталкивается с противоречием: с одной стороны, возникает желание определить как можно больший набор показателей, с другой стороны, существуют ограничения, связанные с финансированием, приборным оснащением, доступностью химреактивов, физическими затратами труда и т.д., и т.п.

В связи с этим при планировании исследований по биомониторингу и биодиагностике (впрочем, как и любых других) необходимо правильно оценивать свои силы и средства. Следует придерживаться принципов «лучше меньше да лучше» и «лучшее враг хорошего».

Не обязательно стремиться к выполнению как можно большего набора показателей. В литературе часто можно встретить работы с огромным количеством данных (полученных с использованием разнообразных методов) плохо сведенных между собой, с нечеткими или общеизвестными выводами. Получить необходимые результаты и сделать значимые выводы, можно используя зачастую лишь 2-3 показателя. Это возможно благодаря тому, что многие биологические показатели связаны между собой.

В то же время, в почвенной биологии и биохимии, несмотря на длительные поиски, до сих пор не найдено какого-либо одного показателя, исследуя который можно было бы делать вывод о биологическом состоянии почвы в целом.

Большая сложность в использовании большинства биологических показателей связана с их значительной пространственной и временной изменчивостью (Даденко и др., 2009). Многие исследователи биологических параметров почв сталкивались с

проблемой, когда выводы, сделанные по данным, полученным в разные годы (сезоны, месяцы и даже дни) противоречили друг другу. Значительное варьирование биологических показателей требует большого числа повторностей, как полевых, так и аналитических.

### Материалы и методы

Основные принципы методологии и методов исследования и оценки эколого-биологического состояния почв изложены в ряде работ (Казеев и др., 2003; Казеев, Колесников, 2012).

Основными составляющими методологии изучения и оценки биологической активности почв являются следующие:

- комплексный подход совместного и одновременного изучения биологических объектов, их почвенных производных и абиотической среды;
- определение ряда наиболее информативных экологических и биологических показателей и последующее нахождение интегрального показателя эколого-биологического состояния почвы;
- профильно-генетический и сравнительно-географический подходы к оценке биологического состояния почвы;
- учет значительной пространственной и временной вариабельности свойств почвы (особенно биологических);
- единообразии методик и методов исследования.

Выбор показателей для мониторинга, диагностики и индикации эколого-биологического состояния почв должен проводиться в зависимости от целей и задач исследования, вида антропогенного воздействия на почву, имеющейся лабораторно-аналитической базы, подготовки персонала и других критериев.

По значениям наиболее информативных показателей биологического состояния почв рекомендуется определять интегральный показатель эколого-биологического состояния почвы.

Данная методика позволяет оценить совокупность биологических показателей. Для этого в выборке максимальное значение каждого из показателей принимается за 100% и по отношению к нему в процентах выражается значение этого же показателя в остальных образцах.

$$B_1 = (B_x / B_{\max}) \cdot 100, (1)$$

где  $B_1$  – относительный балл показателя,  $B_x$  – фактическое значение показателя,  $B_{\max}$  – максимальное значение показателя.

После этого, суммируются уже относительные значения многих показателей. Их абсолютные значения суммированы быть не могут, так как имеют разные единицы измерения.

$$B_{\text{ср.}} = (B_1 + B_2 + B_3 \dots + B_n) / N, (2)$$

где  $B_{\text{ср.}}$  - средний оценочный балл показателей,  $N$  – число показателей

Интегральный показатель эколого-биологического состояния почвы рассчитывают аналогично формуле (1):

$$\text{ИПБС} = (B_{\text{ср.}} / B_{\text{ср. max}}) \cdot 100, (3)$$

где  $B_{\text{ср.}}$  - средний оценочный балл всех показателей,  $B_{\text{ср. max}}$  – максимальный оценочный балл всех показателей.

При диагностике загрязнений за 100 % принимается значение каждого из показателей в незагрязненной почве и по отношению к нему в процентах выражается значение этого же показателя в загрязненной почве.

При антропогенном воздействии на почву среднее значение выбранных показателей, в большинстве случаев, снижается, в то время как отдельные показатели биологической активности почвы могут увеличиваться. Таким образом, снижение интегрального показателя эколого-биологического состояния почвы, как правило, находится в прямой зависимости от степени воздействия антропогенного фактора.

При расчете интегрального показателя эколого-биологического состояния почвы должны использоваться не любые показатели биологической активности почв, а наиболее информативные. Именно они должны составлять основу интегрального показателя. Окончательное формирование набора показателей, составляющих интегральный показатель, требует дальнейшей разработки. В перспективе, набор показателей и методики их определения должны быть стандартизированы. При этом показатели свойств почвы, входящие в интегральный показатель, могут различаться в зависимости от того, действие какого антропогенного фактора исследуется и нормируется.

Профильно-генетический метод предусматривает оценку биологической активности не только верхних горизонтов почв, как это до сих пор, к сожалению, очень часто практикуется в биологических исследованиях, а всего генетического профиля до материнской породы. Хорошие результаты дает пересчет биологической активности на весь почвенный профиль. Для этого производится расчет показателей биологической активности на  $1 \text{ см}^2$  поверхности почвы вплоть до материнской породы (значение показателя биологической активности каждого из почвенных горизонтов умножается на его мощность и объемный вес). Затем Результаты для отдельных горизонтов суммируют и получают показатель биологической активности всего почвенного профиля.

Лабораторно-аналитические исследования выполнены с использованием общепринятых в биологии и почвоведении методов. Кроме того, был использован ряд модифицированных автором методик. О ферментативной активности почв судили по активности разных классов ферментов: оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пероксидаза, ферриредуктаза) и гидролаз – (b-фруктофуранозидаза (инвертаза), фосфатаза, амилаза и уреазы). Определение ферментативной активности почв основано на учете количества переработанного в процессе реакции субстрата или образования продукта реакции в оптимальных условиях температуры, pH среды, концентрации субстрата и навески почвы. По рекомендации А.Ш. Галстяна (1978) активность почвенных ферментов изучали при естественной pH почвы. Повторность 4-6 кратная. Активность каталазы, уреазы и дегидрогеназы изучалась по методике Галстяна (1978), ферриредуктазы, полифенолоксидазы, пероксидазы — по Галстяну (1974), инвертазы, фосфатазы и амилазы — по методу Галстяна в модификации Хазиева (1990).

### **Результаты**

В настоящей работе изложен опыт применения разработанной методологии исследования биологических свойств (прежде всего ферментативной активности) почв и возможность применения различных методов в диагностике и индикации состояния почв и экосистем в целом. Все исследования были выполнены на кафедре экологии и природопользования Южного федерального университета. Ранее (Казеев и др., 2004) была проведена оценка и область применения биологических методов в диагностике и биомониторинге почв. Был проведен сравнительный анализ используемых показателей, выявлены наиболее информативные из них, определены перспективы их использования. Некоторые результаты работы представлены ниже.

Биологические свойства почв имеют большее пространственное варьирование, чем другие свойства (химические, физические). Несмотря на это, однородные по химическим, физическим и другими свойствам почвы обладают близкими биологическими свойствами. По степени однородности биологические показатели можно расположить в ряд: биохимические (гумус, ферменты) – микробиологические – зоологические. Поэтому, при использовании в исследованиях биологических показателей, число повторностей с единицы площади должно возрастать в той же последовательности.

Максимум численности большинства организмов почв обычно приурочен к поверхностным горизонтам независимо от их типа. Однако, при неблагоприятных значениях факторов среды (температуры, влажности, осолодения и др.) максимальная биогенность может проявляться и в нижележащих горизонтах. Колебания показателей биологических свойств в нижней части профиля гораздо менее существенны, чем в верхней. Поэтому обычно достаточно исследования верхней части профиля, для которого характерны наибольшие колебания гидротермических условий. В то же время, при исследовании географических закономерностей, учет только верхних горизонтов почв, без учета всего почвенного профиля, не позволяет сравнивать разные почвы между собой корректно.

Разные типы почв отличаются по показателям биогенности и биологической активности. Биологические различия тем сильнее, чем больше отличаются факторы почвообразования и свойства почв. Максимально различаются целинные почвы. При распашке или ином сельскохозяйственном использовании почв происходит уравнивание свойств почв, в том числе и биологических. Деградированные почвы независимо от их типов обладают сходной низкой биологической активностью.

Уровень плодородия почв зависит от ее биологической активности. В различных природных зонах количественный эффект антропогенного воздействия на почвы неодинаков и он тем выше, чем ниже биологическая активность почв. Почвы с низкой БА нуждаются в большем объеме природоохранных мероприятий. Устойчивость биологических процессов в почве к антропогенному воздействию зависит от ее генетических свойств, таких как емкость ППК, содержание органического вещества, окислительные условия, pH и др. Среди почв Юга России наиболее устойчивыми являются черноземы обыкновенные предкавказские.

В последние годы на юге России проводятся исследования экологического состояния почв с помощью биологических показателей (Казеев и др., 2002, 2004, 2005, 2015 и др.). Исследованиями охвачены как зональные почвы (разные подтипы черноземов, каштановые, коричневые, бурые и серые лесные, горно-луговые почвы), так и азональные (дерново-карбонатные, солончаки, песчаные почвы). Исследовано эколого-биологическое состояние почв фоновых территорий (заповедников Кавказский, Ростовский, Утриш, Крымский, Ялтинский, Мыс Мартыан, многих памятников природы) и антропогенно-преобразованных территорий (агроланд-шафты, вырубки, пожарища, локально-гидроморфные и рекреационно-нарушенные почвы). Для всех типов почв проведены модельные исследования устойчивости к химическому и электромагнитному загрязнению. Наряду с такими почвенными параметрами, как температура, влажность, плотность, сопротивление пенетрации, гранулометрический и валовой составы, реакция среды, содержание гумуса, карбонатов и легкорастворимых солей, исследовали биологические свойства почв. В результате накоплен значительный материал, позволяющий определить чувствительность и информативность разных биоиндикаторов в оценке плодородия и продуктивности почв, а также устойчивости почв к различным деградационным факторам. После выявления зави-



симости биологических индикаторов от климатических показателей были сделаны прогнозы по эволюции почв в результате возможного изменения климата на юге России (Казеев и др. 2015). В результате более чем 20-летнего опыта исследований был определен набор показателей для диагностики степени гидроморфизма, эрозии, засоления, загрязнения разными видами веществ (тяжелые металлы, нефть и нефтепродукты, пестициды, ветеринарные антибиотики). Например, для диагностики степени восстановления пахотных черноземов в результате демутиации наряду с увеличением разнообразия флоры и фауны, изменением плотности и оструктуренности отмечено увеличение содержания гумуса, численности микроорганизмов и активности ряда ферментов (Даденко и др., 2014; Мясникова и др., 2015). Хорошие результаты в степной зоне показали методы фитоиндикации при исследованиях и картировании вторично-гидроморфных ландшафтов (Казеев и др., 2004б). В то же время показатели разнообразия флоры и фауны ограничены при оценке степени загрязнения почв и исследованиях агроландшафтов, площадь которых на юге России в некоторых районах превышает 80%. В таких случаях особую роль приобретают микробиологические и биохимические показатели. Показатели численности и, особенно, разнообразия микроорганизмов практически незаменимы при диагностике и мониторинге электромагнитного воздействия и загрязнении антибиотиками. В этих случаях эффективно применение показателей численности микроорганизмов, определенное разными методами, функциональное и структурное разнообразие микрофлоры, микробная биомасса и другие микробиологические показатели (Денисова и др., 2005, 2007, 2008а,б; Акименко, 2014). Однако эффективность микробиологической диагностики ограничена при химическом загрязнении, оценке плодородия и ряда других деградиционных факторов (вырубка леса, засоление, переувлажнение и др.). В этих и многих других случаях использовали биохимические показатели и, прежде всего, активность почвенных ферментов. На каждый вид воздействия определен набор ферментов индикаторов, включающий гидролазы и оксидоредуктазы.

Е.В. Даденко с соавторами (2013) провела сравнительную оценку показателей ферментативной активности и содержания гумуса с учетом чувствительности, точности показателя и сложности анализа. В результате было выявлено, что для оценки последствий влияния сельскохозяйственного использования на биологическую активность почв наиболее информативными являются активность дегидрогеназы и инвертазы. В целях диагностики последствий загрязнения нефтью и нефтепродуктами, тяжелыми металлами, ионизирующих излучений и гидроморфизма более пригодны активность каталазы и дегидрогеназы (Колесников и др., 1999, 2000, 2002, 2014).

Иногда можно ограничиться определением одного фермента. Так, очень чувствительным и информативным показателем переувлажнения почв является активность ферриредуктазы (Казеев и др., 2004б). При этом возможна индикация даже временного переувлажнения спустя месяцы после его прекращения. Применению активности ферментов в биодиагностике и мониторинге также способствуют простота и дешевизна, возможность использования в условиях дефицита сложного и дорогого оборудования. Это позволяет проводить массовые исследования экологического состояния почв в любых лабораториях.

## **Заключение**

Более чем 20-летние исследования экологического состояния зональных и азональных почв юга России с помощью биологических показателей позволили существенно продвинуться в оптимизации методов диагностики и мониторинга. После апробирования применения более 50 показателей был определен набор наиболее чувствительных и информативных показателей для диагностики экологического со-

стояния и плодородия почв, а также устойчивости почв практически ко всем видам антропогенного воздействия (химическое и электромагнитное загрязнение, переувлажнение, засоление, сельскохозяйственное использование, рекреационная деградация и др.). В результате накопленного опыта, в первую очередь, можно рекомендовать методы ферментативной диагностики для проведения диагностики плодородия, экологического состояния и устойчивости почв к антропогенному воздействию. Проведенные исследования опубликованы в сотнях статей и десятках монографий, защищены десятки диссертаций, получены патенты, научные гранты, в том числе гранты на поддержку ведущей научной школы РФ «Экология и биология почв».

### Цитируемая литература

- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние антибиотиков (бензилпенициллина, фарамазина, нистатина) на численность микроорганизмов в черноземе обыкновенном // Сибирский экологический журнал. 2014. № 2. С. 253-258.
- Галстян А.Ш. Унификация методов исследования активности ферментов почв // Почвоведение, 1978. №2, с. 107-114. Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван. Ай-Ан-стан. 1974. 275 с.
- Даденко Е.В., Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Оценка применимости показателей ферментативной активности в биодиагностике и мониторинге почв // Поволжский экологический журнал. 2013. № 4. С. 385-393. <http://www.sevin.ru/volecomag>
- Даденко Е.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Изменение ферментативной активности почвенных образцов при их хранении // Почвоведение. 2009. № 12. С. 1481-1486.
- Даденко Е.В., Мясникова М.А., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая активность чернозема обыкновенного при длительном использовании под пашню // Почвоведение. 2014. №6. С. 724-733.
- Денисова Т.В., Казеев К.Ш. Чувствительность основных групп почвенных микроорганизмов чернозема обыкновенного к гамма-излучению // Экология. 2008а. № 2. С. 110-115.
- Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Влияние гамма-излучения на биологические свойства почвы (на примере чернозема обыкновенного) // Почвоведение. 2005. № 7. С. 877-881. Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Изменение биологических свойств чернозема обыкновенного после воздействия гамма-излучения // Почвоведение. № 9. 2007, С. 1095-1103.
- Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Интегральная оценка электромагнитных воздействий различной природы на биологические свойства почв юга России // Почвоведение. 2011. № 11. С. 1386-1390.
- Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Устойчивость ферментативной активности и численности микрофлоры разных почв Юга России к воздействию переменного магнитного поля промышленной частоты // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008б. Т. 48. № 4. С. 481-486.
- Звягинцев Д.Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение, 1978. №6. с. 48-54.
- Казеев К.Ш., Козин В.К., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологические особенности почв влажных субтропиков // Почвоведение. 2002. № 12. С. 1474-1478.
- Казеев К.Ш., Козунь Ю.С., Колесников С.И. Использование интегрального показателя для оценки пространственной дифференциации биологических свойств почв юга России в градиенте аридности климата // Сибирский экологический журнал. 2015. Т. 22. № 1. С. 112-120.
- Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биология почв Юга России. Ростов-на-Дону: Изд-во ЦВВР, 2004а. 350 с. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета. 2012. 380 с.
- Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. 204 с.
- Казеев К.Ш., Креница А.М., Колесников С.И., Казадаев А.А., Бульшева Н.И., Утянская Н.И., Внукова Н.В., Вальков В.Ф. Биологические свойства почв каштаново-солонцовых комплексов // Почвоведение, 2005, №4. С. 464-474.

- Казеев К.Ш., Фомин С.Е., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологические свойства локально переувлажненных почв Ростовской области // Почвоведение. 2004б. №3. С. 361-372.
- Колесников С.И., Жаркова М.Г., Везденеева Л.С., Кутузова И.В., Молчанова Е.В., Зубков Д.А., Казеев К.Ш. Оценка экотоксичности тяжелых металлов и нефти по биологическим показателям чернозема // Экология. 2014. № 3. С. 158-163.
- Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на микробную систему чернозема // Почвоведение. 1999. № 4. С. 505-511.
- Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на эколого-биологические свойства чернозема обыкновенного // Экология. 2000. № 3. С. 193-201.
- Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические функции почв и влияние на них загрязнения тяжелыми металлами // Почвоведение. 2002. № 12. 1509-1514.
- Мясникова М.А., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние возраста залежей на биологические свойства постагрогенных почв Ростовской области. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2015. 130 с.
- Хазиев Ф.Х. Ферментативная активность почв. М. 1976. 180 с. Burns R.G. Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology // Soil Biology and Biochemistry, V. 14, Issue 5, 1982, Pages 423-427.
- Burns Richard G., DeForest Jared L., Marxsen Jürgen, Sinsabaugh Robert L., Stromberger Mary E., Wallenstein Matthew D., Weintraub Michael N., Zoppini Annamaria Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions // Soil Biology and Biochemistry, V. 58, March 2013. PP. 216-234.
- Comprehensive Assessment of Soil Health B.N. Moebius-Clune, D. J. Moebius-Clune, B.K. Gugino, O.J. Idowu, R.R. Schindelbeck, A.J. Ristow, H.M. van Es, J.E. Thies, H. A. Shayler, M. B. McBride, D.W. Wolfe, and G.S. Abawi/ Third Edition - Interim Draft June 22, 2016. 140 p. 25.
- Dick R.P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters // Agriculture, Ecosystems & Environment, V. 40, Issues 1-4, May 1992, PP. 25-36.
- Dick R.P., Kandeler E. Enzymes in soils / Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, from Encyclopedia of Soils in the Environment, 2005, Pages 448-456 Enzymes in Agricultural Sciences / Edited by: Liliana Gianfreda and Maria A Rao. OMICS Group eBooks. 2014. 18 P.
- Henry Hugh A.L. Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate // Soil Biology and Biochemistry. V.47, 2012. PP. 53-59.
- Loeppmann S., Blagodatskaya E., Pausch J., Kuzyakov Y. Enzyme properties down the soil profile - A matter of substrate quality in rhizosphere and detritusphere // Soil Biology and Biochemistry, V. 103, December 2016, PP. 274-283.
- Pettit N.M., Smith A.R.J., Freedman R.B., Burns R.G. Soil urease: Activity, stability and kinetic properties // Soil Biology and Biochemistry, V.8, Issue 6, 1976, PP. 479-484.
- Shukla G., Varma A. (eds.), Role of Enzymes in Maintaining Soil Health / Soil Enzymology, Soil Biology 22, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011. PP. 25-42.
- Trasar-Cepeda C., Leiror M.C., Gil-Sotres F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality // Soil Biology and Biochemistry. 2008. PP. 1-10.

### Благодарности

Выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

# БИОИНДИКАЦИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ И РАСТИТЕЛЬНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ *BRADYBAENA FRUTICUM* MULL.

Камардин Н.Н.<sup>1</sup>, Любимцев В.А.<sup>1</sup>, Холодкевич С.В.<sup>3</sup>, Макеева В.М.<sup>1,2</sup>, Смулов А.В.<sup>3</sup>, Румак В.С.<sup>3</sup>, Турбабина К.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Ст.-Петербургский научно-исследовательский Центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия; nik-kamardin@yandex.ru

<sup>2</sup>Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет»;

<sup>3</sup>Музей землеведения МГУ имени М.В. Ломоносова, Центр безопасности биосистем Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

## Аннотация

Использование метода неинвазивной регистрации кардиоактивности показано, что динамика изменения частоты сердечных сокращений является эффективным биомаркером функционального состояния животных. В качестве тест-животного для оценки загрязненности был выбран наземный моллюск - кустарниковая улитка *Bradybaena fruticum* (Mull.). Для экспериментов использовались 3-4 летние особи. Были использованы полосатые и бесполосные цветные морфы моллюсков, собранных в Москве (Картмазово, Кузьминки, Измайловский парк) и в референтной точке из Подмосковья (Можайский район, Городок). Проведено попарно сравнение кардиоактивности групп моллюсков из пунктов в Москве с моллюсками из эталонной популяции в Подмосковье. Выяснилось, что моллюски одного генотипа, но из чистых и загрязненных мест обладают различной терморезистентностью, о которой судили по величине и форме ответа кардиосистемы моллюсков. Животные из чистых мест обитания удерживали высокую величину ЧСС всё время теплового воздействия и начинали снижать ЧСС через несколько минут после выключения тепловентилятора. У этих моллюсков ЧСС возвращается к фоновому уровню примерно через 1-3 часа. Моллюски из загрязненных мест обнаружили низкий уровень терморезистентности. Они не могут длительно удерживать высокие значения ЧСС и начинали снижать её раньше выключения тепловентилятора. Подобную реакцию на нагревание демонстрируют моллюски из Картмазово и Кузьминока. Так для улиток из Картмазово выявленная пониженная терморезистентность, вызвана, очевидно, накоплением различных производных диоксинов, которое определялось по суммарному эквиваленту токсичности (СЭТ) 2005 года для спектра обнаруженных диоксинов. Для улиток из эталонной популяции он составляет 0,11, а в Картмазово - 0,37. Моллюски из Измайловского парка, демонстрируют достоверно более высокую ЧСС как в момент нагревания, так и через 15-20 минут после включения тепла. Оказалось, что почва Измайловского парка более чиста, чем даже в референтной точке – Городок. После выключения тепла ЧСС обеих групп животных одновременно достигают исходный фоновый уровень ЧСС. Возможно, изменение ЧСС и вычисленная по ней терморезистентность, связана с системой белков теплового шока. Известно, что даже кратковременное нагревание приводит к синтезу в клетках белков теплового шока (HSP)-шаперонов, которые восстанавливают поврежденные внешним воздействием (повышенной температурой) белки и запускают целый каскад биохимических защитных реакций. Эта система нормально функционирует у моллюсков из чистых мест обитания. Она быстро восстанавливает поврежденную теплом структуру белков, способствуя длительному поддержанию ЧСС на высоком уровне. В литературе имеются ссылки на связь ускорения синтеза HSP с возрастанием ЧСС у теплокровных животных. Можно предположить, что у животных родившихся и питавшихся в местах с химическим загрязнением почвы, воды и растительности происходят нарушения в защитной системе клеток, активируемой белками теплового шока. Это уменьшает их способность восстанавливать денатурированные теплом белки, в том числе и сократительные белки сердца, что приводит к быстрому падению ЧСС у моллю-

сков из Картмазова и Кузьминок. Таким образом, тестирование моллюсков, позволит контролировать хроническое загрязнение, вызванное различными видами химических и физических факторов. Исследования выполнены с использованием фотоплетизмографов ресурсного центра ЦЭБ СПбГУ

**Ключевые слова:** биоиндикация, моллюски, термический шок, кардиоактивность, терморезистентность

## ENVIRONMENTAL IMPACT FROM A PHOSPHOGYPSUM STORAGE ON SOIL Kaniskin M.A.

Soil Sciences Faculty, Lomonosov MSU, Moscow, Russia; ka-nis-kin@rambler.ru

### Annotation

This paper focuses on the integral soil screening approach using chemicals, ecotoxicology, and molecular microbiology methods to developing an environmental risk assessment by storage of phosphogypsum [PG]. Soil samples were collected on and in the vicinity of the existing PG storage, Russia.

The analysis of potentially toxic elements highlights exceeded levels of pseudo-total values for La, Ba, Ce and Sr, and elevated levels of soluble forms of  $F^-$ ,  $Ca^{2+}$  and sulfates. Other chemical metrics for  $pH_{(KCl)}$ , and pseudo-total concentration of As, Cu, Cd, Ni and Zn are insignificant from the reference soil.

The ecotoxicology data suggest that acute tests with earthworms *E. fetida* (ISO 11268-1 2012) and plants *S. alba* (Phytotoxkit 2004) do not exhibit the equal sensitivity to PG polluted soils. While the *E. fetida* test reveals a pronounced toxicity in polluted samples, *S. alba* test does not detect any significant response. Stepwise regression analysis showed Sr, La, Ce and Ca, sulfates to be the dominant factors determining the influence of earthworms.

**Keywords:** waste, soil, heavy metals, *Eisenia fetida*, *Sinapis alba*, enzymes

### Introduction

Worldwide, a rapid industrialization has consumed vast amounts of various industrial raw materials and larger quantities of industrial solid wastes remained from mining, mineral processing, and smelting processes. Phosphogypsum [PG] is a by-product of the phosphoric acid production and the largest part of them is the disposed by dumping in large stockpiles (storage). Thus, an increasing number of studies have focused on PG assessment and have reported useful information about it chemicals (18) and radionuclides (15) properties. A growing bodies of evidence supported PG for agriculture purposes (20; 22), or using PG as a building material (16;14; 1), but others have reported about damage influence of PG storages on chemical, radiology and ecotoxicology soils properties in different countries (21, 13, 4, 19).

It's wildly acceptable, that the determination of the pollutants content is not enough to fully evaluate the toxic effects or to characterize contaminated sites because the ecotoxicological danger in the environment is not affected. For a more realistic assessment, we need to compare three blocks of data – chemistry, microbiology and ecotoxicology (9, 6). In this reason, measuring of the soil extracellular enzymes activity could be helpful, because of their connection with nutrient cycling, and closely link with the physical and chemical dynamics of terrestrial environments (8, 17). As well as, ecotoxicity soil tests like plants (3) and earthworms (2, 7) are wildly determine for the soil samples assessment.

This paper focuses on a triad-based approach applying in parallel different analysis methods. In our triad procedure, we couple a chemical data, with an evaluation of the soil microbiological ecosystem and primary terrestrial biotests. The aims of our study are to (i) reveal the concentration of potential toxic elements in soil around the PG storage, (ii) eva-

uate the impact of the PG storage on soil health using microbiological indicators such as catalase, acid phosphatase, and  $\beta$ -glucosidase activities, (iii) examine soil ecotoxicology using earthworms *Eisenia fetida* and plant *Sinapis alba*.

### Materials and methods

A fluvisol samples were collected i from 6 sites on and in the vicinity of the PG storage to represent the pollution gradient and in a control area. At each site (2x2 m) a soil sample (topsoil layer 0-20 cm depth) was taken by quantization and properly mixed. A portion of the each sample was kept refrigerated (4 °C) at their field moisture to be used in the determination of the soil enzymatic activities. The remaining soil was air dried and sieved to 2 mm for analytical determinations and ecotoxicological evaluation, this part stored for several weeks to several months in cardboard boxes at room temperature.

The total contents of Cu, Zn, Pb, As, Sr, Ba, Ce, Cd and La were determined by digesting with a mixture of HNO<sub>3</sub>, HF and HClO<sub>4</sub> by ICP-MS (Agilent 7500). Spectrophotometric assays were used to measure the activity of  $\beta$ -glucosidase. Catalase activity was measured by back-titrating residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with KMnO<sub>4</sub>. Soil ecotoxicity evaluation was performed using terrestrial tests to assess the improvement in soil 'habitat function' and comprised the *E. fetida* mortality and phytotoxicity.

Statistical differences between polluted samples and control were analyzed by a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the separation of the treatments from controls, by applying post-hot Tukey-Kramer HSD ( $P \leq 0.05$ ) tests. All statistical analyses were performed using Statistical12 Statsoft©.

### Results

The PG at this storage was acidic in pH with a mean value of 2.36, major element analysis shows that it rich with a 29.8% CaO, 0.16% Na<sub>2</sub>O, 0.013% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 19.2% SrO, 0.24% F, 0.78% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 45.3% S (in the form of SO<sub>3</sub>). A remarkable feature of this PG is the extremely high degree of rare elements La and Ce, higher than that of the samples of PG from Togo and Idaho sources (18) and particular the same as in the PG from Cubatão region, southern Brazil.

In the present work, the relatively high pH H<sub>2</sub>O of the soil is detected, also a significant increasing of potentially toxic elements contents in soils near the PG storage is observed (Table 1). An average concentration of sulfates was extremely high – 3123 mg/kg of soil, and exceeded by 27 times the local background value (117 mg/kg), the same as the average concentration of fluoride and calcium in soils near the storage. An average concentration of sulfates was extremely high - 3123 mg/kg of soil, and exceeded by 27 times the local background value (117 mg/kg), the same as the average concentration of fluoride and calcium in soils near the storage. According to the previous results Marques et al. (5) and Martínez-Sánchez et al. (11), we expected a multi-component pollution in soil, predominantly high concentration of Cu, Cd, Co, Ni, Pb and As. Our results reveal prevalence of La, Ba, Ce and Sr pollution in soil near the storage, while the concentration of Cu, Zn, Pb and As were in the permitted levels.

The two acute toxicity tests on soil (earthworm and plant) did not exhibit the same sensitivity. While the *E. fetida* test reveals a pronounced toxicity in soil samples collected near the storage, *S. alba* test undistinguished significant response at the gradient of concentration. *Sinapis alba* roots length elongation in control have the same measures like in the samples, collected near the storage. This evaluate could be explained by several points (i) the high concentration of P and Ca in the soil samples could obscure the toxicity

**Table 1.** Analytical parameters and chemical characteristics of soil samples (Mean  $\pm$  SD, n=4). Different letters represent significant differences between samples on rows according to the Tukey-Kramer HSD test ( $p \leq 0.05$ ).

Para- meters	The storage edge			Near the river			Control
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
pH(H <sub>2</sub> O)	7.4 $\pm$ 1.5a	7.6 $\pm$ 1.5a	8.0 $\pm$ 1.6a	7.6 $\pm$ 1.5a	7.8 $\pm$ 1.5a	5.8 $\pm$ 1.2a	7.2 $\pm$ 1.4a
CE (dScm <sup>-1</sup> )	1.94 $\pm$ 0.38ab	1.98 $\pm$ 0.39ab	2.41 $\pm$ 0.48a	0.8 $\pm$ 0.16bc	0.82 $\pm$ 0.16bc	1.02 $\pm$ 0.2ac	0.32 $\pm$ 0.06c
Total concentration, mg kg <sup>-1</sup>							
Cu	52.0 $\pm$ 3.2bc	88.5 $\pm$ 11a	16 $\pm$ 4d	24.1 $\pm$ 5.1cd	50.4 $\pm$ 6.1bc	64.9 $\pm$ 5ab	29.7 $\pm$ 3.11cd
Zn	83.8 $\pm$ 20.95a	110.7 $\pm$ 27.68a	43.8 $\pm$ 10.95a	69.1 $\pm$ 17.28a	106 $\pm$ 26.5a	144.5 $\pm$ 36.13a	124.5 $\pm$ 31.13a
Pb	36.9 $\pm$ 5.54b	74.9 $\pm$ 11.24a	10.89 $\pm$ 1.63b	15.9 $\pm$ 2.39b	36.7 $\pm$ 5.51b	35.4 $\pm$ 5.31b	23.45 $\pm$ 3.52b
As	39.9 $\pm$ 5.99a	46.7 $\pm$ 7.01a	43.1 $\pm$ 6.47a	23.3 $\pm$ 3.5a	30.7 $\pm$ 4.61a	48.2 $\pm$ 7.23a	29.7 $\pm$ 4.46a
Sr	2517 $\pm$ 567.11a	2331 $\pm$ 125.5a	792 $\pm$ 202.8b	118.6 $\pm$ 10.18b	198.6 $\pm$ 22.1b	469.3 $\pm$ 65b	81.6 $\pm$ 5.7b
Ba	297.8 $\pm$ 11.8a	210.5 $\pm$ 25.87bc	245.2 $\pm$ 14.4ab	273.3 $\pm$ 15.2ab	156.2 $\pm$ 15.2cd	117.4 $\pm$ 13.5de	71.2 $\pm$ 5.8e
Ce	121.1 $\pm$ 21.11a	140.5 $\pm$ 11.81a	57.7 $\pm$ 10.25b	30.2 $\pm$ 4.02b	21.3 $\pm$ 5.11b	44.1 $\pm$ 3.3b	33.3 $\pm$ 3.01b
La	72.5 $\pm$ 5.7a	60.1 $\pm$ 3.4ab	34.6 $\pm$ 10.1bc	38.4 $\pm$ 5.2bc	15 $\pm$ 3.8c	11.1 $\pm$ 4.1c	14.8 $\pm$ 5c

effect of heavy metals by growth promoting (11); (ii) the enzymatic antioxidation capacity could be the predominantly mechanism in tolerance of seeds to PG amendments as it was shown for sunflowers seeds by Elloumi et al (10). The same tendency regarding the sensitivity of earthworms *E. andrei* and non-sensitivity plants *Z. mays* and *L. sativa* (12), and the opposite very high toxicity to *L. sativum* and *S. alba* (11) have been previously reported for PG contaminated and amendment soils.

The highest recorded catalase activity was at the value of  $2.33 \pm 0.12$  ( $\mu\text{g O}_2 \text{g}^{-1}$  dry soil  $\text{min}^{-1}$ ) in the control sample. Reduction of catalase activity as a consequence of PG storage was stronger in P1, P2 and P4 samples, than in the P3 and P6. The same tendency is detected for  $\beta$ -glucosidase activity.

### Conclusion

The main purpose of this investigation was to assess the PG storage influence on surrounding land not only with chemical methods but with a complex approach includes bioassay and enzymes activity measure. The prevailed pollution in the environment surrounding the storage were rare elements, especially Sr and La. The ecotoxicology effects of earthworm *E. fetida* by the polluted soils were particularly remarkable and confirmed that the applied bioassay with invertebrates may be used to determine the potential risk in a determinate area where PG is presented.

### Reference

1. Al-Hwaiti Assessment of the radiological impacts of treated phosphogypsum used as the main constituent of building materials in Jordan // Environmental earth science. 2015. Vol 74. No. 4. PP. 3159-3169.
2. Bierkens J., G. Klein, P. Corbisier, R. Van Den Heuvel, L. Verschaeve, R. Weltens, G. Schoeters Comparative sensitivity of 20 bioassays for soil quality// Chemosphere. 1988. Vol. 37, No. 14-15. PP: 2935-2947.
3. Boluda R., Roca-Pérez L., Marimón L. Soil plate bioassay: An effective method to determine ecotoxicological risks // Chemosphere. 2011. Vol. 84, No. 1 PP. 1-8.
4. Borges R.C., Ribeiro F.C.A., Lauria D.D., Bernedo A.V.B. Influence of Phosphogypsum Stacks on the Distribution of Natural Radionuclides in Surface and Subsurface Waters in the City of Imbituba, SC, Brazil. //Water air and soil pollution. 2013. Vol. 224, No. 5. PP:1540.

5. Marques C.R., Caetano A.L., Haller A., Gonçalves F., Pereira R., Römbke J. Toxicity screening of soils from different mine areas - A contribution to track the sensitivity and variability of *Arthrobacter globiformis* assay // *Journal of Hazardous Materials*. 2014. Vol 274. PP.331-341.
6. Chapman E., Helmer S.H., Dave G., Murimboh J.D. Utility of bioassays (lettuce, red clover, red fescue, Microtox, MetSTICK, Hyalella, bait lamina) in ecological risk screening of acid metal (Zn) contaminated soil.// *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2012. PP: 161-171.
7. Cortet, J., Vauflery, A.G.-D., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects // *European Journal of Soil Biology*. 1999. Vol. 35, No. 3. PP: 115-134.
8. Dick, R.P. (Ed.). *Methods of Soil Enzymology: Methods of Soil Analysis Series*. Madison, WI. : Soil Science Society of America., 2011.
9. Jensen M., Mesman M., Rutgers Ecological Risk Assessment of Contaminated taminated Land – Decision Support for Site Specific Investigations, National Institute for Public Health and the Environment. 2006.
10. Elloumi N, Zouari M, Chaari L, Abdallah FB, Woodward S, Kallel M. Effect of phosphogypsum on growth, physiology, and the antioxidative defense system in sunflower seedlings. // *Environ Sci Pollut Res Int.*, 2015 PP: 14829-40.
11. Garcia-Lorenzo M.L., Martínez-Sánchez M.J., Pérez-Sirvent C., Molina J. Ecotoxicological evaluation for the screening of areas polluted by mining activities. // *Ecotoxicology*. 2009. Vol 18, No. 8. PP: 1077-1086.
12. Hentati O, Abrantes N, Caetano A.L., Bouguerra S., Goncalves, F; Rombke J., Pereira R. Phosphogypsum as a soil fertilizer: Ecotoxicity of amended soil and elutriates to bacteria, invertebrates, algae and plants. // *Journal of hazardous materials*. 2015. Vol 294 PP: 80-89.
13. Hurtado M.D., Enamorado S.M., Andreu L., Delgado A., Abril J-M. Drain flow and related salt losses as affected by phosphogypsum amendment in reclaimed marsh soils from SW Spain.// *Geoderma*. 2011. Vol 161, No. 1-2 PP: 43-49.
14. Yang J., Liu W., Zhang L., Xiao B. Preparation of load-bearing building materials from autoclaved phosphogypsum. // *Construction and Building Materials*. 2009. Vol 23, No. 2 PP: 687-693.
15. Lysandrou M., Charalambides A., Pashalidis I. Radon emanation from phosphogypsum and related mineral samples in Cyprus // *Radiation Measurements*. 20007. Vol 42, No. 9 PP: 1583-1585.
16. Singh M., Garg M., Rehsi S.S. Purifying phosphogypsum for cement manufacture // *Construction and Building Materials*. 1993. Vol 7, No. 1.PP : 3-7.
17. Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Fornasier, F. Soil enzymology: classical and molecular approaches // *Biol. Fertil. Soils*. 2012. Vol 48, No. 7 PP: 743–762.
18. Rutherford P.M., Dudas M.J., Arocena J.M. Radioactivity and elemental composition of phosphogypsum produced from three phosphate rock sources.// *Waste Management & Research*. 1995. Vol 13, No. 5 PP: 407-423.
19. Shukurov N., Kodirov O., Peitzsch M., Kerstein M., Pen-Mouratov S., Steinberg Y. Coupling geochemical, mineralogical and microbiological approaches to assess the health of contaminated soil around the Almalyk mining and smelter complex, Uzbekistan// *Chemosphere*. 2014 PP: 447-459.
20. USEPA, United States Environmental Protection Agency. Potential uses of phosphogypsum associated risks, Background information. Background information Document for 40CFR 61 Subpart R. National Emission Standards for Radon Emissions from Phosphogypsum Stacks, Technical Report 402-R-92-002., Washington, DC, : USEPA, 1992.
21. Villa M., Mosqueda F., Hurtado S, Mantero J, Manjón G, Periañez R. et al Contamination and restoration of an estuary affected by phosphogypsum releases // *Science of The Total Environment*. 2009. Vol. 408, No. 1 PP: 69-77.
22. Yakovlev, A. S.; Kaniskin, M. A.; Terekhova, V. A. Ecological evaluation of artificial soils treated with phosphogypsum. // *Eurasian soil science*. 2013. Vol 46, No. 6 PP: 697-703.

### **Acknowledgements**

The reported study has been financed by Russian Found of Basic Research (RFBR) according to the research project No.16-34-00063 mol\_a.



# ВЛИЯНИЕ ОБЪЕКТА РАЗМЕЩЕНИЯ ОТХОДОВ ФОСФОГИПСА НА ХИМИЧЕСКИЕ И БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЧВ

Канискин М.А.

Факультет почвоведения, МГУ им. М.В.Ломоносова; Москва, Россия; ka-nis-kin@rambler.ru

## Аннотация

Проведена оценка биологических и химических показателей алювиальных почв в районе объекта размещения фосфогипса. Выявлено, что в почвах, прилегающих к ОРО наблюдаются повышенные концентрации редкоземельных металлов, в частности Sr, Ba, Ce и La, тогда как концентрации других элементов не превышают установленные ПДК, либо не отличаются достоверно от контрольных значений. Результаты биотестирования почвенных проб с применением червей (калифорнийских) показал, что почвы, прилегающие к ОРО характеризуются как "остро-токсичные", смертность тест-объектов более 50% относительно контроля. В то время как фитотест с применением семян горчицы белой не выявил существенных различий между наиболее загрязненными и фоновыми почвами. Результаты оценки ферментативной активности выявили тенденцию снижения активности почвенных каталаз и б-глюкозидазы в почвах, отличающихся повышенными концентрациями загрязняющих веществ по сравнению с контролем.

## ОЦЕНКА ЭКОТОКСИЧНОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛАССА ОПАСНОСТИ БУРОВЫХ ШЛАМОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Капелькина Л.П., Бардина Т.В., Чугунова М.В., Бардина В.И., Маячкина Н.В.

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия; kapelkina@mail.ru

## Аннотация

Буровые шламы (БШ) являются основным крупнотоннажным отходом, образующимся при бурении нефтяных скважин. Они складываются в шламовые амбары на кустовых площадках и могут отрицательно влиять на экологическую обстановку прилегающих территорий. Наряду с выбуренной из глубины горной породой, которая составляет 90-98% от общей массы складываемых отходов, БШ содержат большое количество веществ как природного (бентониты), так и техногенного происхождения. Это различные химические добавки – реагенты, позволяющие оптимизировать процесс бурения скважин. В результате взаимодействия горной породы с реагентами образуются новые сложные соединения с неясным химическим составом, поэтому определить класс опасности буровых шламов расчетным методом не представляется возможным. В этом случае основным способом, позволяющим оценить опасность буровых шламов для окружающей среды, наряду с определением химических показателей: рН, засоленности, радиоактивности, содержания нефтепродуктов, валовых и подвижных форм тяжелых металлов и др., является биотестирование на живых организмах разного уровня организации, то есть из разных систематических групп. Биотестирование основано на исследовании поведенческих реакций живых организмов, которые способны уловить стрессовое воздействие раньше, чем многие обычно используемые методы.

**Ключевые слова:** буровые шламы, токсичность, биотестирование, класс опасности

## Введение

Основным отходом при устройстве нефтегазодобывающих скважин являются буровые шламы (БШ). Для решения вопроса об их токсичности или безопасности для окружающей среды проводят экотоксикологическую оценку и устанавливают класс

опасности. В настоящее время основным способом, позволяющим оценить интегральную токсичность БШ, является биотестирование, в основе которого лежит определение реакции живых организмов на уровень техногенного воздействия и содержание загрязняющих веществ в буровом шламе [1].

В настоящее время известны десятки методик биотестирования почв, грунтов и отходов. Однако в Госреестр методов для государственного экологического контроля и мониторинга внесены не более 10 из них. Чаще всего класс опасности БШ определяют согласно приказу МПР № 536 от 04.12.2014 г. путем биотестирования водной вытяжки из отходов на двух организмах из разных систематических групп (элюатный метод) [2]. В то же время, по нашему мнению, сделать значимое заключение, опираясь только на результаты элюатных биотестов, не совсем правильно. В токсикологические исследования необходимо также вводить контактные методы биотестирования, которые обеспечивают непосредственный контакт тест-организма с исследуемым образцом и, таким образом, позволяют установить уровень воздействия твердых загрязнителей [3]. В виду того, что ни один вид не является универсальным индикатором при экотоксикологической оценке шламов необходимо проводить биотестирование с использованием нескольких тест-организмов. В зависимости от места проведения буровых работ приоритетными могут быть те или иные методы и тест-организмы. Так, для заболоченных территорий Западной Сибири приоритетными тест-организмами должны быть гидробионты: дафнии, цериодафнии, инфузории, икринки аквариумных рыб. Для других районов с более сухими местообитаниями, таких как Башкирия и Татария, более целесообразным является биотестирование с использованием млекопитающих – мышей, крыс, клеток крупного рогатого скота, а также биотестирование, основанное на использовании семян высших растений и микроорганизмов.

Целью наших исследований являлась экотоксикологическая оценка БШ с помощью аттестованных методик контактного и элюатного биотестирования, в том числе разработанными в НИЦЭБ РАН, с использованием тест-организмов различного уровня организации.

### **Материалы и методы**

Объектами исследования являлись пробы буровых шламов, образующиеся при бурении нефтяных скважин на одном из месторождений Западной Сибири. Сложный многокомпонентный состав БШ обусловил необходимость проведения для их экотоксикологической оценки серии биотестов (элюатных и контактных) с использованием в качестве тест-культур гидробионтов, семян высших растений и микроорганизмов.

В серии элюатных биотестов были использованы методики токсикологического анализа, включенные в Федеральный реестр, где в качестве тест-организмов применялись представители гидробионтов: дафнии [4] и инфузории [5]. Для биотестирования использовалась водная вытяжка из проб БШ в соотношении 1:10. Критерием острой токсичности вытяжки на дафниях является гибель 50% и более особей в тестируемых пробах по сравнению с контролем (культивационная вода) за период времени до 96 часов. По результатам проведенного тестирования и кратности разведения водной вытяжки определялся класс опасности БШ. Параметры поведенческой реакции инфузورий определяли с помощью прибора «Биотестер-2». Критерием токсичности служил индекс – безразмерная величина (Т), принимающая значения от 0 до 1 в соответствии со степенью токсичности анализируемой пробы.

Контактное биотестирование проводилось непосредственно в пробах БШ с использованием аттестованных методик, разработанных нами в НИЦЭБ РАН для буровых

вых шламов, в которых в качестве тест-культуры использовались семена пшеницы мягкой [6] и природный комплекс микроорганизмов, содержащийся в самих исследованных БШ [7]. Фитотоксический эффект согласно методике [6] определяется путем сопоставления показателей тест-функции (всхожести-  $N_1$  и длины корней проростков семян -  $N_2$ ) в контрольном и опытных вариантах. Критерием определения класса опасности по результатам микробных биотестов служили статистически значимые различия между максимальным суточным уровнем выделения  $CO_2$  микроорганизмами, содержащимися в БШ и контрольном субстрате, после добавления в них глюкозы. Контролем при контактном биотестировании служили образцы нетоксичной природной глины. Согласно данным методикам определяются 5 классов опасности отходов.

### Результаты

Проведенное биотестирование на дафниях показало, что водные вытяжки из всех проб буровых шламов не оказывали угнетающего действия (количество выживших особей в этих вариантах достоверно не отличались от контроля). Таким образом, согласно Приказу МПР РФ № 536 от 04.12.2014 г. пробы проанализированных БШ являются нетоксичными и могут быть отнесены к V классу опасности отходов.

Результаты биотестирования проб на инфузориях представлены в табл. 1. Как свидетельствуют приведенные данные, водные вытяжки из БШ №№ 1, 2, 3, 6 для использованной тест-культуры являлись нетоксичными. Водные вытяжки проб БШ № 4 и № 5 оказались токсичными и требовали разведения. Разбавление вытяжки пробы № 5 в 10 раз снимало ее токсичность, а проба № 4 – требовала разведения в 100 раз. Таким образом, при биотестировании водных вытяжек из исследуемых проб БШ с использованием в качестве тест-организма инфузорий, установлено, что все исследуемые БШ, кроме БШ № 4, согласно «Критериям отнесения опасных отходов...», [2], могут быть отнесены к V классу опасности (практически не опасные). И только БШ № 4 по результатам биотеста относится к IV классу опасности (малоопасные).

Таблица 1. Результаты биотестирования проб на инфузориях ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ,  $t_{st}=2,78$ )

№ пробы	Разведение экстракта (R)	Среднее значение показаний прибора, I	Среднее значение индекса токсичности, T	td*	S**	Группа токсичности
Контроль	-	67,3	-	-	5,6	-
1	1 (без разведения)	40,1	0,40	4,12	3,5	I
2	1	54,8	0,18	1,39	7,1	I
3	1	42,5	0,37	2,88	6,5	I
4	1	36,5	0,46	4,39	4,2	II
4	10	37,9	0,44	4,26	4,1	II
4	100	41,6	0,38	4,58	0,4	I
5	1	38,1	0,43	4,36	3,6	II
5	10	41,3	0,38	2,99	6,7	I
6	1	40,8	0,39	3,39	5,5	I

Примечание:  $t_d^*$  – коэффициент достоверности;  $S^{**}$  – ошибка среднего арифметического; I – допустимая степень токсичности ( $0,00 < T \leq 0,40$ ), II – умеренная степень токсичности ( $0,40 < T \leq 0,70$ ).

Влияние буровых шламов на всхожесть и прорастание семян высших растений представлено в таблице 2.

Таблица 2. Результаты фитотестирования буровых шламов на проростках высших растений (тест-культура – пшеница мягкая) ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ,  $t_{st}=2,78$ )

Проба	Всхожесть				Корень				Класс опасности
	%	$N_1$	$t_d$	S	Длина, мм	$N_2$	$t_d$	S	
Контроль	95	-	-	0,7	43,4	-	-	2,7	-
БШ-1	100	+5,3	7,07	0,0	36,6	-15,7	2,72	0,7	V
БШ-2	92,5	-2,6	1,31	1,8	35,4	-18,4	2,79	1,6	V
БШ-3	97,5	+2,6	1,31	1,8	24,0	-44,7	8,04	0,2	IV
БШ-4	100	+5,3	7,07	0,0	16,2	-62,7	11,08	0,5	III
БШ-5	97,5	2,6	1,31	1,8	26,8	-38,2	6,86	0,3	IV
БШ-6	92,5	-2,6	1,31	1,8	22,6	-47,9	8,66	0,1	IV

Примечание:  $t_d^*$  – коэффициент достоверности; S – ошибка среднего арифметического; V- практически не опасные; IV- малоопасные; III- умеренно опасные

В результате проведенного биотеста было установлено отсутствие токсического воздействия проб БШ №№1 и 2 на всхожесть и длину корней проростков пшеницы. Следовательно, данные БШ являются практически не опасными (V класс). Результаты фитотестирования также показали, что БШ №№ 3,5,6 являются малоопасными (IV класс). Буровой шлам №4 показал явное угнетение роста корней. Согласно шкале токсичности по данной методике [6] БШ относится к умеренно опасным отходам (III класс). В то же время хотелось бы подчеркнуть, что при установлении 3-4 класса опасности отхода, на наш взгляд, необходимо проведение дополнительного опыта по хроническому фитотестированию, так как в нашей практике были варианты, когда вначале эксперимента наблюдалась хорошая всхожесть и рост корней за счет питательных веществ, содержащихся в семени, и последующее угнетение всходов при переходе на субстратное питание.

Таблица 3. Максимальные значения суточного уровня выделения  $CO_2$  испытуемыми пробами после добавления глюкозы, мг  $CO_2/100$  г сухого образца, сутки

( $n=4$ ,  $P=0,95$ ,  $t_{st}=2,45$ )

№ пробы БШ	Ср.	S	N	T	Класс опасности
К (чистая природная глина)	11,9	0,9			
1	24,6	1,2	+101,7	8,47	V
2	34,2	0,9	+187,4	17,56	V
3	9,3	0,1	-21,8	2,86	IV
4	9,6	0,1	-19,3	2,53	V
5	41,0	2,1	+244,5	12,76	V
6	27,8	1,3	+133,6	10,06	V

Примечания: Ср. – среднее арифметическое значение параллельных измерений; S – ошибка среднего арифметического; t – критерий существенности различий; N – степень изменения биологической активности исследуемых проб БШ по сравнению с контрольным образцом.

В результате проведения микробных тестов было установлено, что активность комплекса микроорганизмов БШ №4 снижалась по сравнению с контрольным уровнем менее, чем на 20%, а активность БШ №№ 1,2,5,6 значительно его превышала, поэтому согласно разработанной шкале токсичности, данные БШ относятся к V классу опасности – практически не опасные (табл. 3). Интенсивность микробного дыхания БШ №3 была ниже уровня контроля более, чем на 20%. Поэтому данный БШ относится к IV классу опасности – малоопасный.

### **Заключение**

Проведенные экотоксикологические исследования буровых шламов показали, что примененные биотест-системы характеризуются различной чувствительностью к присутствию разнообразных токсикантов.

Элюатное биотестирование БШ с помощью двух аттестованных методик на двух тест-организмах (дафнии и инфузории) выявило наличие умеренной токсичности лишь у одной исследуемой пробы. Поэтому при оценке экологического состояния таких сложных объектов, как БШ, использование только элюатных методов биотестирования недостаточно.

Проведение контактных биотестов с использованием двух аттестованных методик, разработанных в НИЦЭБ РАН, показало, что по сравнению с микроорганизмами семена пшеницы являются более чувствительной тест-культурой к наличию загрязняющих веществ в буровых шламах.

Таким образом, для объективной оценки качества буровых шламов в экотоксикологические исследования необходимо включать методы как элюатного, так и контактного биотестирования, и использовать в качестве тест-организмов представителей различных систематических групп.

### **Цитируемая литература:**

1. Капелькина Л.П., Чугунова М.В., Бардина Т.В., Малышкина Л.А. Биотестирование буровых шламов нефтяных месторождений //Экологический вестник России. №8, 2013. С.32-37.
2. Приказ МПР № 536 от 04.12.2014 «Критерии отнесения отходов к I - V классу опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду».
3. Бардина Т.В., Чугунова М.В. Методы контактного биотестирования городских почв //Руководство по изучению городской среды. Экологические и социально-психологические аспекты. Коллективная монография. Науч. ред. проф. Д.Н. Кавтарадзе. -М.: МГУ, 2015. –С.1-9. (СД-ROM). ISBN № 978-5-9904587-7-2.
4. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР. 1.39.2007. 03222. М.: Акварос, 2007. 51 с.
5. ФР.1.31.2005.01882 (ред.2010 г.) и ПНД Ф Т 16.2:2.2- 98 (ред. 2010 г.) “Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора «Биотестер»; Свид. об аттестации №224.03.13.19/2010.
6. Методика определения класса опасности буровых шламов. М-БШ-02-2004. ФР.1.39.2004.01104.
7. Методика определения класса опасности буровых шламов. М-БШ-01-2004, ФР.1.39.2004.01061.

## **DRILL CUTTINGS' ECOTOXICITY EVALUATION AND HAZARD CLASS DETERMINATION BY BIOTESTING METHODS**

**Kapelkina L.P., Bardina T.V., Chugunova M.V., Bardina V.I., Maychkina N.V.**

St.-Petersburg Scientific Research Center for Ecological Safety RAS

The drill cuttings (DC) are the main large-capacity waste generated during oil well drilling. They are stored in sludge pits at well pads and may negatively affect the environment. DC,

along with cuttings from the bottom of the rock, which is 90-98 % of the total landfilled waste, contain large amounts of substances both of natural (bentonite) and man-made origin. These are the different chemical additives, namely reagents to optimize the drilling process. As a result of interaction between the rock and reagents new complex compounds with uncertain chemical composition are formed. That's why it doesn't seem possible to determine the drill cuttings hazard class by calculation method. In this case, the biotesting on living organisms of different organization levels, along with certain chemical indicators: pP, salinity, radioactivity, oil concentration, total and mobile forms of heavy metals, etc., is the main method that allows to evaluate the drill cuttings environmental risk. The biotesting is based on the study of living organisms' behavioral reactions that are able to capture the effects of stress earlier than many commonly used methods.

## **МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ-МАКРОФИТОВ Б.КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) КАК ОТРАЖЕНИЕ УСЛОВИЙ МОРСКОЙ СРЕДЫ**

**Кобзарь А.Д.<sup>1</sup>, Гринёва Ю.В.<sup>1</sup>, Христофорова Н.К.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия; kobzar.ad@dvfu.ru

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Россия

### **Аннотация**

Определены концентрации тяжелых металлов в бурых водорослях, собранных в б. Киевка летом 2009 и 2014 гг. Выявлено, что на микроэлементный состав макрофитов данной акватории оказывают влияние преимущественно природные факторы: речной сток и апвеллинг. Антропогенное воздействие в пределах бухты выражено слабо.

**Ключевые слова:** Японское море, бухта Киевка, загрязнение, тяжелые металлы, биоиндикация

### **Введение**

Мониторинг содержания тяжелых металлов в водоемах и гидробионтах имеет большое практическое значение как в оценке антропогенного воздействия, так и в описании общего микроэлементного состава компонентов среды, формирующегося под воздействием природных источников.

Наблюдение за уровнями тяжелых металлов в среде ведется различными методами: химическими, физическими и биологическими. Среди биологических методов с начала 1970-х гг. широкое распространение получила биоиндикация с использованием водорослей-макрофитов [1].

Бухта Киевка находится на значительном удалении от крупных населенных пунктов и примыкает к Лазовскому заповеднику. Она практически не подвержена антропогенному загрязнению и может рассматриваться как фоновый район при экологической оценке состояния прибрежно-морских акваторий. Поэтому информация о микроэлементном составе гидробионтов бухты имеет научное и прикладное значение.

Таким образом, целью работы явилась оценка микроэлементного состава бурых водорослей, собранных в б. Киевка.

### **Материалы и методы**

Определение загрязнения прибрежных вод тяжелыми металлами проведено с использованием таких бурых водорослей, как *Sargassum miyabei*, *Costaria costata*, *Fucus evanescens*. *S. miyabei* выбран в качестве индикатора, поскольку он широко распространен в южной части побережья Приморья, *C.costata* и *F.evanescens*, напро-

тив, являются более холодноводными видами и характерны для северных прибрежных акваторий Приморского края.

Пробы водорослей отбирали б. Киевка на 5 станциях (рисунок) в августе 2009 и 2014 гг. на глубине 0,5-3 м. При обработке водорослей, подготовке проб к анализу и атомно-абсорбционном анализу на спектрофотометрах Shimadzu AA - 6800 и Nippon Jarrell Ash AA – 85 использовали известные подходы и приемы [1]. Точность определения концентрации всех металлов контролировали, анализируя стандартные образцы (NIES 9.0 “Sargasso”). Ошибка определения не превышала 15 %. Концентрацию металлов выражали в мкг/г сух. массы. Математическая обработка данных осуществлялась в программе Excel.

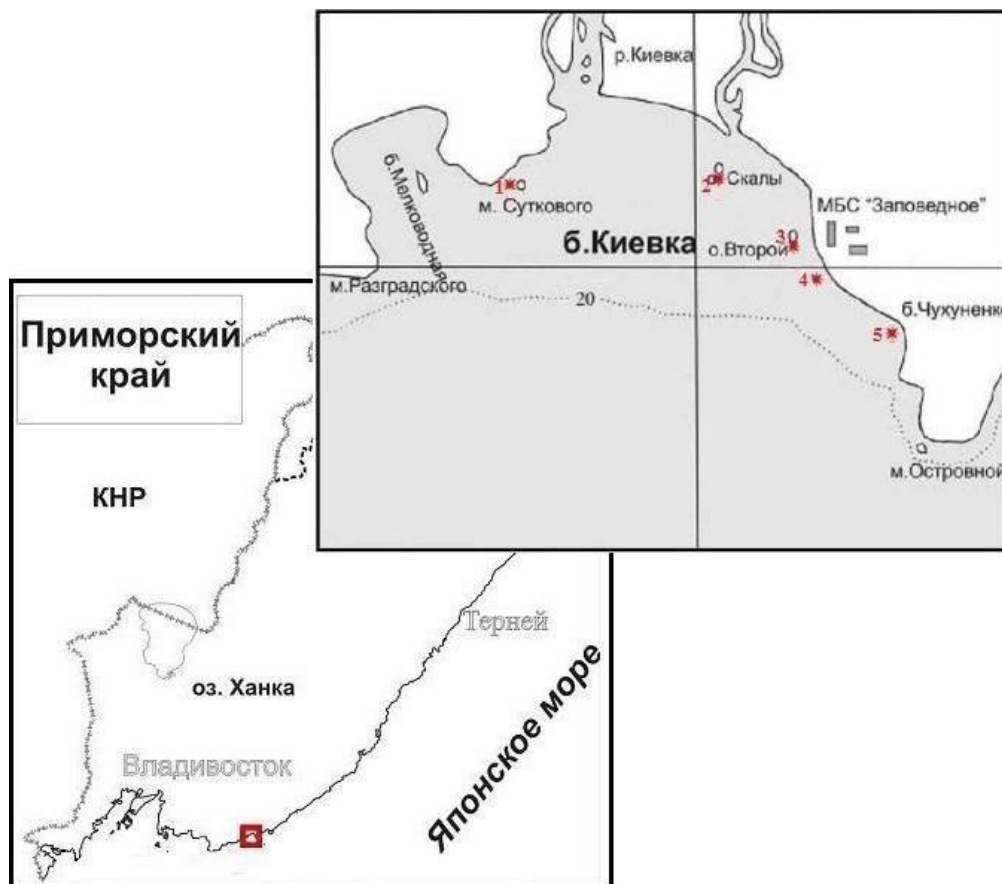


Рисунок 1: Район работ. 1 - б. Киевка, рифы к северу от м. Суткового, 2 - б. Киевка, о. Скалы, 3 – о-в Второй, 4 - б. Киевка, рифы между б. Чухуненко и МБС "Заповедное", 5 – б. Чухуненко

## Результаты

Виды-биоиндикаторы, собранные на всех станциях в пределах акватории, позволяют выявить различия в характере мест обитания. Для б. Киевка такими видами являются *S.costata* и *S.miyabei*, собранные в 2009 г. Среднее содержание тяжелых металлов приведено в табл.1

Таблица 1: Среднее содержание тяжелых металлов (мкг/г) в талломах бурых водорослей, собранных в б. Киевка( $m \pm \sigma$ ). В числителе приведено среднее значение, в знаменателе – стандартное отклонение

№ станции	Год отбора	Вид водоросли	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
1	2009	<i>C.costata</i>	144,12 79,61	10,07 4,81	158,33 14,23	7,50 2,58	1,19 0,04	5,68 1,09	7,82 0,94
2	2009	<i>C.costata</i>	215,10 4,38	11,88 0,15	20,37 1,60	2,03 0,16	1,16 0,12	7,09 0,47	6,83 0,51
		<i>S. miyabey</i>	243,49 9,82	302,34 31,25	79,52 22,40	10,07 0,86	2,46 0,17	5,47 0,44	6,43 0,54
3	2009	<i>C.costata</i>	109,90 1,04	13,61 0,19	109,80 26,68	2,20 0,22	1,23 0,06	6,85 0,40	7,84 0,65
		<i>S. miyabey</i>	409,10 74,45	665,86 87,79	16,16 1,96	2,70 0,51	2,67 0,33	8,80 1,28	7,55 1,74
	2014	<i>C.costata</i>	164,11 12,70	9,20 1,39	28,29 2,45	1,65 0,37	0,90 0,14	0,68 0,27	0,90 0,11
		<i>F.evanescens</i>	284,74 10,06	187,64 6,64	38,49 5,13	2,08 0,18	1,56 0,15	2,90 0,97	0,96 0,13
		<i>S. miyabey</i>	161,84 13,84	162,02 22,62	102,17 14,63	3,42 0,42	1,43 0,14	2,49 0,09	2,99 1,85
4	2009	<i>S. miyabey</i>	215,80 4,41	604,76 21,76	111,82 40,26	2,32 0,09	2,20 0,10	6,41 0,06	5,70 0,10
	2014	<i>S. miyabey</i>	455,81 105,42	55,47 0,79	62,31 20,38	2,28 0,26	2,01 0,16	4,04 2,43	0,67 0,26
5	2009	<i>C.costata</i>	112,80 9,79	6,46 1,60	17,08 1,82	1,92 0,39	0,77 0,04	5,33 0,49	0,77 0,04
		<i>F.evanescens</i>	953,61 58,74	232,97 32,33	69,27 41,92	2,63 0,14	1,98 0,25	9,69 1,08	5,05 0,43
		<i>S. miyabey</i>	170,89 12,25	9,49 0,68	18,84 2,68	1,59 0,39	2,74 0,31	5,14 0,68	5,33 0,35
	2014	<i>F.evanescens</i>	284,74 10,06	187,64 6,64	38,49 5,13	2,08 0,18	1,56 0,15	2,90 0,97	0,96 0,13

Коммунально-бытовое воздействие характеризуют такие металлы, как медь и цинк. В наибольших количествах данные металлы обнаружены в талломах костарии, собранных у м. Суточного. Повышенным содержанием меди и цинка отличаются саргассы, собранные у о. Скалы. Недалеко от данных станций в бухту одним из рукавов впадает р. Киевка, протекающая вдоль населенных пунктов и вбирающая в себя их стоки. Высоким содержанием Zn отличаются и талломы *C.costata*, собранные у о. Второй. Максимальные концентрации данных металлов в саргассах характерны для рифов, находящихся недалеко от морской биологической станции «Заповедное», на которой в летний период проживает большое число студентов. В целом водоросли, собранные в других частях бухты, отличаются невысоким содержанием обоих элементов. Антропогенное воздействие на бухту выражается в виде рекреационного пресса, который усиливается в летний период и отсутствует в остальное время.

Железо и марганец свидетельствуют от терригенном стоке. Железо в наибольших количествах обнаружено в костарии, собранной у о. Скалы. Для нее же характерно и повышенное содержание марганца. Река Киевка в летний период поставляет в мор-



ские воды взвешенный материал. О. Скалы из всех станций находится ближе всего к месту впадения реки в бухту. Максимальные концентрации железа и марганца в талломах *S. miyabei* характерна для о. Второй. Исследования микроэлементного состава гидробионтов из б. Киевка [2, 3] свидетельствуют о том, что органы камбал и модиолусов из бухты отличаются повышенным содержанием тяжелых металлов, что связано с сезонными апвеллингами. В работе П.М. Жадана и др. [4] указано, что в августе 2009 г. наблюдалось резкое снижение температуры поверхностных вод с 19-20 до 13-14 °С. Это, несомненно, говорит о начале апвеллинга, выносящего в поверхностные воды биогенные и микроэлементы. Вместе с апвеллингами в поверхностные воды поступают растворенные формы металлов (преимущественно Zn, Cd, Ni) [5, 6]. Возможно, именно апвеллинг стал причиной увеличения концентраций металлов в талломах костарии.

Минимальные концентрации марганца найдены в слоевищах костарии с б. Чухуненко. В бухту не впадает каких-либо крупных водотоков, на ее побережье нет источников техногенного пресса, в летнее время она может испытывать лишь незначительный рекреационный пресс.

На всех станциях в талломах водорослей техногенные металлы – кадмий, свинец и никель – распределяются достаточно однородно, и их значения находятся в пределах фоновых для данной акватории [7]. Минимальное содержание всех трех металлов найдено в костарии, собранной в б. Чухуненко.

Одной из задач мониторинга является оценка изменений концентраций элементов во времени. Как видно, к 2014 г. по сравнению с 2009 г. произошло снижение содержания кадмия и никеля на всех станциях сбора, что может подтверждать влияние апвеллинга на микроэлементный состав гидробионтов в 2009 г.

### **Заключение**

Таким образом, влияние на микроэлементный состав бурых водорослей б. Киевка могут оказывать как природные (речной сток, апвеллинг), так и антропогенные (коммунально-бытовое воздействие) факторы. При этом влияние природных факторов более выражено в связи с пространственной отдаленностью бухты от крупных источников негативного воздействия.

### **Цитируемая литература:**

1. Христофорова Н. К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. Л.: Наука, 1989. 192 с.
2. Жук А.Е., Чернова Е.Н. Сравнительная оценка концентраций металлов в пищеварительных органах модиолуса курильского и камбалы темной из районов охраняемых акваторий Японского моря // Молодежь - наука - инновации : сб. докл. 55 Междунар. молодеж. науч.-техн. конф. (28-30 нояб. 2007 г.). Владивосток, 2008. С. 129-131.
3. Христофорова Н. К., Жук А. Е. , Чернова Е. Н. Химико-экологическая оценка ряда морских акваторий Приморья по содержанию тяжелых металлов в модиолусе курильском // Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки : тез. докл. Третьей Междунар. науч.-практ. конф. (Владивосток, 8-10 сент. 2008 г.). Владивосток, 2008. С. 13-14.
4. Жадан П.М., Ващенко М.А., Альмяшова Т.Н. Блокирование нереста морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* в северо-западной части Японского моря // Вестн. ДВО РАН. 2010. № 4. С. 31–40.
5. Bruland K.W, Knauer G.A., Martin J.H. Cadmium in northeast Pacific waters // *Limnol. and Oceanogr.* 1978. Vol. 23. P.618-625.
6. Кавун В.Я., Христофорова Н.К. Роль современного вулканизма и апвеллингов в формировании импактных зон тяжелых металлов в прибрежных водах Курильских островов // Мелководные гидротермы и экосистемы бухты Кратерной (вулкан Ушишир, Курильские острова). Книга I. Функциональные характеристики. Часть.2. Владивосток: ДВО АН СССР, 1991. С.114-120.
7. Чернова Е.Н. Определение фоновых концентраций металлов в бурой водоросли *Sargassum pallidum* из северо-западной части Японского моря // Биология моря. 2012. Т.38, №3. С.249-256.

# TRACE ELEMENT COMPOSITION OF BROWN ALGAE FROM THE KIEVKA BIGHT AS A RESULT OF SEAWATER CONDITIONS INFLUENCE

Kobzar A.D.<sup>1</sup>, Grinyova Yu.V.<sup>1</sup>, Khristoforova N.K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, 690950

<sup>2</sup>Pacific Institute of Geography, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok

Concentrations of heavy metals in brown algae, taken from the Kievka Bight in summer 2009 and 2014 are determined. It is shown that trace element composition of microphytes from this water area is depend on natural factors, such as river runoff and upwelling. Anthropogenic impact within Kievka Bight is insignificant.

**Keywords:** Sea of Japan, Kievka Bight, pollution, trace metals, bioindication

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПОСТАГРОГЕННЫХ ПОЧВ ТУНДРОВЫХ ЭКОСИСТЕМ

Ковалева В.А.

ФБГУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; kovaleva.vera2011@yandex.ru

В настоящее время процесс постагрогенной трансформации почвенного микробного сообщества в тундре остается практически неизученным. Установление закономерностей самовосстановления необходимо для прогнозирования процесса сохранения экологической устойчивости экосистем и раскрытия механизмов постагрогенной сукцессии в тундровой зоне. Исследования проводили в Воркутинском районе Республики Коми. Район исследования расположен в юго-восточной части Большеземельской тундры. Исследования проводили на трех участках: ненарушенная тундра, постагрогенная экосистема 46 лет, постагрогенная экосистема 16 лет. Результаты исследования показали, что после 46 лет самовосстановления постагрогенная экосистема по всем микробиологическим показателям соответствует ненарушенному аналогу. Установлено значительное сходство микробных комплексов залежной почвы и почвы зональной тундровой экосистемы по ряду показателей: состав и структура микробоценоза, профильное распределение численности и биомассы микроорганизмов, соотношение компонентов микробной биомассы с доминирующим положением грибов, а также видовой структурой, где наибольшее обилие и частоту встречаемости имели виды рода *Penicillium*, *Geomyces* и стерильный мицелий. Микробоценоз почвы 16-летней постагрогенной экосистемы при сопоставимых показателях общей микробной биомассы и аналогичным ее профильным распределением с микробным сообществом ненарушенной тундры, характеризуется повышенной долей бактерий и грибного мицелия, пониженной доли спор в общей микробной биомассе, специфическим видовым составом микромицетов (уменьшение доли видов рода *Penicillium*, увеличение доли видов рода *Mucor*, *Trichoderma*). Таким образом, данная постагрогенная экосистема обнаруживает принадлежность, как к предшествующему этапу сукцессии, так и к целинному аналогу.

**Ключевые слова:** микробная биомасса, почвенные микромицеты, постагрогенная экосистема, тундра

### Введение

Современный этап развития сельского хозяйства в России характеризуется значительным сокращением площади сельскохозяйственных угодий. На заброшенных землях начинается самовосстановление, которое можно определить как совокупность естественных природных процессов, проявляющееся в «стремлении» экоси-

стемы вернуться в исходное, ненарушенное состояние. Изучение механизмов самовосстановления почв, выведенных из сельскохозяйственного использования, имеет как самостоятельное научное значение, так и определенный практический интерес, связанный с прогнозом их развития. Ранняя индикация и диагностика многочисленных процессов в почве при постагрогенной демуляции наиболее четко может осуществляться по микробиологическим показателям, позволяющих выявить изменения на самых первых этапах, которые не удастся обнаружить другими методами (Перспективы развития..., 2001). Характеристика микробных сообществ позволяет рассмотреть вопрос о норме и нарушениях и в перспективе выйти на оценку постагрогенного преобразования почвы.

Большинство современных исследований постагрогенных преобразований экосистем связано с таежной зоной России, где были заброшены значительные площади пахотных угодий (Агроэкологическое состояние..., 2008; Люри и др., 2010; Телесни-на, 2015 и др.). Однако и в тундровой зоне Европейского северо-востока в 90-х годах прошлого столетия были также выведены из сельскохозяйственного использования большие площади многолетних сеяных лугов, которые в настоящее время находятся на стадии постагрогенной трансформации.

Агроэкосистемы Воркутинской тундры являлись уникальными объектами хозяйственного пользования, не имеющими аналогов ни в России, ни за рубежом. В настоящее время процесс постагрогенной трансформации почвенного микробного сообщества в тундре остается практически неизученным, при том, что установление закономерностей этого процесса необходимо для прогнозирования процесса сохранения экологической устойчивости экосистем и раскрытия механизмов постагрогенной сукцессии в тундровой зоне.

### Материалы и методы

Исследования проводили в Воркутинском районе Республики Коми. Район исследования расположен в юго-восточной части Большеземельской тундры. Климат характеризуется суровостью и континентальностью. Зональным типом сообществ в этом районе являются кустарниковые тундры. Микробиологические исследования проводили в 2010-2014 гг. на стационарных участках Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

**Участок 1** – целинная (ненарушенная) ерничково-ивняковая моховая тундра располагается на вершине водораздельного холма Нерусовой-Мусюр и является характерным растительным сообществом для автоморфных условий плоских вершин мусюров и равнинных водораздельных территорий. Ведущую роль в сложении растительного покрова играют карликовая береза, а также бореальные и гипоарктические ивы (сероголубая, шерстистая, лапландская и филиколистная). Почва: глеезем крио-метаморфический.

**Участок 2** – 46-летняя залежь. Участок расположен в верхней части того же холма. В 1965 г. после уборки крупного кустарника и многократного дискования почвы освоенный участок засеяли местными видами многолетних трав (мятлик луговой и лисохвост луговой) и внесли минеральные удобрения. Через три года после освоения в связи со строительством водовода с р. Уса сеяный луг забросили, и урожай трав ни разу не собирали. На участке началось восстановление первичной тундровой экосистемы, стадии формирования которой описаны в ряде работ (Особенности природопользования..., 1998; Биологическое разнообразие..., 2005; Экологические принципы., 2009). Последние наблюдения показали, что растительное сообщество на этом участке представляет собой тундровый ивняково-ерничково-кустарничково-моховый фитоценоз, близкий по типу к целинной тундре, характерный для равнинных слабопониженных водораздельных территорий, однако в отличие от целинной

тундры полноценный мохово-лишайниковый ярус пока не оформлен. Почва: глеезем криометаморфический постагрогенный криогенно-ожелезненный.

**Участок 3** – 16-летняя залежь. Участок расположен на надпойменной террасе р. Воркута. В 1955 году здесь было проведено освоение ерниково-моховой тундры по типу участка 2. Хозяйственное использование луга прекратили в 1998 г. После прекращения хозяйственного использования по наблюдениям на 16-й год результат ослабления луга как агроэкосистемы стал заметно яснее проявляться в свойственной природным тундровым экосистемам пространственной неоднородности – «мозаичности». Показателем этого является выделение группировок (синузий) из сопутствующих видов. Среди синузий выделяются злаковые (из высеванных мятлика и лисохвоста) и злаково-разнотравные. Довольно резко увеличивается количество мохообразных, что позволяет связать начавшееся изменение состава напочвенного покрова с преобразованием дернового слоя в тундровую подстилку. Почва: глеезем криотурбированный постагрогенный.

Для микробиологического анализа отбор почвенных проб осуществляли с учетом стерильности из генетических горизонтов почвы. Прямой учет численности бактерий и спор грибов, измерение длины грибного мицелия проводили методом люминесцентной микроскопии (Полянская, 1988; Методы..., 1991; Головченко, Полянская, 1996). Численность и видовой состав сахаролитических грибов определяли на среде Чапека, целлюлозолитических – на среде Гетчинсона с добавлением целлюлозы (Методы..., 1991). Для характеристики структуры комплекса почвенных грибов, выявления доминирующих, частых, редких и случайных видов использовали показатель частоты встречаемости (Кураков, 2001). Видовую идентификацию выделенных штаммов грибов проводили по определителям (Ramirez, 1982; Domsh K.H. et al., 2007). Все названия микроскопических грибов даны в соответствии с международной базой данных <http://www.indexfun-gorum.org>. Полученные экспериментальные данные обрабатывали стандартными методами статистического анализа с использованием программ Microsoft Excel и Statistika 6.0.

### Результаты

Результаты микробиологического анализа показали, что численность основных групп микроорганизмов почвы 46-летней залежи и ненарушенной тундровой почвы характеризуются аналогичным распределением по профилю почвы (табл. 1).

Основу бактериального пула в почве составляют жизнеспособные микроорганизмы. В органогенных горизонтах их доля составляет 80-85%. С глубиной при снижении общей численности бактерий доля живых клеток снижается до 45-50%, что связано с замедленными процессами разложения в минеральных горизонтах тундровых почв. Основная доля в общей микробной биомассе принадлежит грибам по всему почвенному профилю как в почве 46-летней залежи, так и в почве экосистемы зонального типа. Показатели запасов общей микробной биомассы в почве 46-летней залежи и целинного участка достоверно не отличаются, как и соотношения основных компонентов микробной биомассы.

Из почвы 46-летней залежи в 2010-2014 гг. всего было выделено 28 видов микровицетов, из почвы фонового участка – 33 вида. Большинство видов принадлежит к анаморфным грибам, которые имеют аскомицетный аффинитет, с доминирующим положением рода *Penicillium*. Остальные роды насчитывали в основном по 1-2 вида. При относительно большом разнообразии рода *Penicillium*, он доминирует и по общему обилию видов. Большое обилие отмечено для вида *Geomyces pannorum* и стерильного мицелия *Mycelia sterilia*, которые являются типичными доминирующими компонентами тундровых почв.

Таблица 1. Численность прокариот, спор грибов и длина грибного мицелия в исследуемой почве (x+σ)\*

Горизонт	Глубина, см	Численность бактерий, млрд. кл./г а.с.п.			Численность спор грибов, млн. кл./г а.с.п. Бактерий	Длина мицелия грибов, м/г а.с.п. Спор грибов	Биомасса мг/г а.с.п.		
		Общая	Живые клетки	Мертвые клетки			Бактерий	Спор грибов	Грибного мицелия
46-летняя залежь									
O1	0-4	1,6±0,3	1,3±0,3	0,3±0,03	47,8±1,8	76,4±8,0	31,3±5,3	60,2±1,8	136,0±25,5
O2	4-7	1,3±0,1	1,0±0,1	0,3±0,05	40,5±1,2	57,7±8,7	26,8±1,9	44,9±3,1	100,6±10,7
O3[ay-pa]mr	7-14	1,1±0,1	1,0±0,1	0,1±0,03	28,5±0,6	12,5±4,4	12,9±0,8	16,5±3,7	25,0±0,8
O4[ay-pa]mr	14-16	0,2±0,05	0,1±0,05	0,1±0,02	4,5±0,3	Не обнаруж.	4,2±0,5	10,2±2,2	0
Gcf, hi	16-39	0,2±0,03	0,1±0,02	0,1±0,02	2,3±0,5	Не обнаруж.	4,0±0,5	5,2±1,3	0
CRM	39-86	0,1±0,03	0,05±0,01	0,05±0,01	1,5±0,2	Не обнаруж.	2,0±0,6	3,2±0,8	0
Ненарушенная экосистема									
O1	0-5	1,4±0,3	1,2±0,3	0,2±0,02	44,8±12,7	58,4±23,4	27,2±6,4	68,4±24,8	146,7±14,6
O2	5-8	0,7±0,1	0,6±0,05	0,1±0,05	20,5±4,8	31,8±11,6	14,4±1,3	33,3±1,4	60,9±4,8
O3ao	8-12	0,5±0,05	0,4±0,05	0,1±0,01	14,5±1,5	Не обнаруж.	10,5±0,9	31,1±4,2	0
Bg(G)	12-33	0,2±0,03	0,1±0,03	0,1±0,01	4,5±0,5	Не обнаруж.	3,9±0,6	15,2±8,8	0
CRM	33-65	0,2±0,06	0,1±0,04	0,1±0,02	1,2±0,2	Не обнаруж.	4,0±0,8	5,2±1,2	0
CRM1(g)	65-125	0,1±0,05	0,05±0,01	0,06±0,01	0,6±0,1	Не обнаруж.	2,1±0,2	3,2±0,4	0

\*Здесь и далее: x – среднее значение, σ – стандартное отклонение

Сравнение структуры и состава комплекса типичных микромицетов показало, что в почвах 46-летней залежи и участка ненарушенной тундры практически идентичен состав видов – доминантов (табл. 2).

Таблица 2. Структура комплекса типичных видов микромицетов почвы 46-летней залежи

Доминирующие (ЧВ*>60%)	Частые (ЧВ 30-60%)	Редкие (ЧВ 10-30%)
46-летняя залежь		
<i>Geomyces pannorum</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
<i>Mycelia sterilia</i> (светлоокрашенный)	<i>P.thomii</i>	<i>P. raciborskii</i>
<i>Penicillium camemberti</i>	<i>P. canescens</i>	<i>P. tardum</i>
<i>Penicillium kapuscinskii</i>	<i>Mycelia sterilia</i> (темноокрашенный)	<i>Penicillium</i> sp.
<i>P. lanosum</i>		<i>T. viride</i>
		<i>Trichoderma</i> sp.
Ненарушенная ерниково-ивняковая тундра		
<i>Geomyces pannorum</i>	<i>P. raciborskii</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
<i>Mycelia sterilia</i> (светлоокрашенный)	<i>P. tardum</i>	<i>Cl. herbarum</i>
<i>Penicillium kapuscinskii</i>	<i>P.thomii</i>	<i>Mucor hiemalis</i>
<i>P. lanosum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium camemberti</i>
	<i>Mycelia sterilia</i> (темноокрашенный)	<i>P. chrysogenum</i>
		<i>Trichoderma symposium</i>
		<i>T. viride</i>

Здесь и далее ЧВ – частота встречаемости (число образцов, в которых был обнаружен данный вид, % от общего числа образцов)

По данным 2004 г. (Биологическое разнообразие..., 2005) из почвы 46-летней залежи выделено всего 6 видов и две формы стерильного мицелия. По частоте встречаемости и обилию доминировали виды *Mucor hiemalis*, *Penicillium lanosum* и стерильный мицелий. При сравнении видового состава этих двух экосистем коэффициент сходства составил 26 %. В настоящее время коэффициент сходства видового состава почвенных грибов ненарушенной и вторичной экосистем составляет 76 %, что свидетельствует о практически полном восстановлении микробного комплекса.

Сравнительный анализ численности микроорганизмов 16-летней залежи и ненарушенной экосистемы показал, что численность бактерий в органогенном горизонте 16-летней залежи выше, чем в почве ненарушенной экосистемы, а численность спор грибов, наоборот ниже (табл. 3).

Таблица 3. Численность и биомасса микроорганизмов в почве 16-летней залежи

Горизонт	Глубина, см	Численность бактерий, млрд. кл./г а.с.п.			Численность спор грибов, млн. кл./г а.с.п.	Длина мицелия грибов, м/г а.с.п.	Биомасса мг/г а.с.п.		Грибного мицелия
		Общая	Живые клетки	Мертвые клетки			Бактерий	Спор грибов	
Постагрогенная экосистема									
W	0-1	2,3±0,6	1,9±0,6	0,4±0,1	26,8±1,3	97,7±13,8	45,9±8,2	51,2±11,6	196,8±22,4
AY1ao	1-5.5	1,7±0,5	1,4±0,4	0,3±0,1	25,7±1,2	40,8±5,6	33,5±4,2	32,4±9,6	92,8±12,5
AY2ao	5.5-7	0,6±0,2	0,5±0,1	0,1	2,4±1,1	11,9±3,1	13,9±2,3	6,5±1,4	25,6±4,3
AY3pa, g	7-13	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1	0,4±0,1	2,8±1,3	3,3±1,1	1,6±1,1	8,1±2,3
Bg(G)	13-39	0,1±0,1	0,1±0,1	0,03	0,4±0,1	не обнаруж.	2,1±0,9	2,3±0,8	0
CRM	39-77	0,1	0,05	0,03	0,4±0,1	не обнаруж.	1,7±0,7	2,0±0,5	0
CRM1C(g)	77-88	0,4±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	2,8±1,3	не обнаруж.	8,2±1,5	5,6±1,4	0
CRM2Cg	88-132	0,5±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	5,2±1,1	не обнаруж.	11,0±3,1	10,6±2,3	0

Распределение микробной биомассы по профилю почвы согласуется с распределением численности микроорганизмов. Основная доля в общей микробной биомассе в верхних горизонтах принадлежит грибам, в биоморфологической структуре микромицетов мицелий доминирует над спорами. С глубиной доли спор грибов и бактерий в общей микробной биомассе имеют равные значения. Для постагрогенной экосистемы характерна более высокая доля бактерий, нежели спор грибов как для почвы ненарушенной экосистемы. При сравнении с данными, полученными Ф.М. Хабидуллиной в 2004 г. (Биологическое разнообразие..., 2005), за 10-летний период постагрогенной сукцессии в общей микробной биомассе увеличивается доля спор (6% – 2004 г., 16% – 2014 г.) и снижается доля мицелия (78% – 2004 г., 67% – 2014 г.), что является признаком «отундровения» микробного комплекса.

Анализ видового состава почвенных микромицетов постагрогенной почвы показал, что доминирующее положение по числу видов занимают роды *Mucor*, *Penicillium* и *Trichoderma*. Остальные роды насчитывали по 1-2 вида. В почве постагрогенной экосистемы обилие *Penicillium* невелико (10-16%), большее обилие отмечено для видов родов *Mucor* (32-36%) и *Cladosporium* (15-20%), которые являются доминантами и по частоте встречаемости (табл. 4).

Таблица 4. Структура комплекса типичных видов микромицетов почвы 16-летней залежи

Доминирующие (ЧВ>60%)	Частые (ЧВ 30-60%)	Редкие (ЧВ 10-30%)
Постагрогенная экосистема (2004 г)**		
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Geomyces pannorum</i>	<i>Mucor racemosus</i>
<i>Mycelia sterilia</i> (с/о)	<i>Mortierella verticillata</i>	<i>M. plumbeus</i>
<i>Penicillium lanosum</i>	<i>Mycelia sterilia</i> (т/о)	<i>Mortierella alpina</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>M. vinacea</i>
		<i>Penicillium cyclopium</i>
		<i>Trichoderma viride</i>
		<i>Chaetomium globosum</i>
Постагрогенная экосистема (2014 г.)		
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Geomyces pannorum</i>	<i>Penicillium kapuscinskii</i>
<i>Cl. herbarum</i>	<i>P. tardum</i>	<i>P. lanosum</i>
<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Mycelia sterilia</i> (светлоокрашенный)	<i>Penicillium</i> sp.
		<i>Trichoderma viride</i>

\* по Ф.М. Хабибуллиной (Биологическое разнообразие..., 2005).

В комплексе типичных видов доминируют и часто встречаются как типичные тундровые виды, такие как *Geomyces pannorum*, виды рода *Mucor*; стерильные формы мицелия *Mycelia sterilia*. Сохранение структуры комплекса доминантов свидетельствует о стабильном функционировании комплекса почвенных микромицетов, отвечающего условиям окружающей среды. По сравнению с предыдущим периодом исследования среди доминантов по частоте встречаемости в комплексе микромицетов постагрогенной почвы не был выделен вид *Fusarium oxysporum*, который ранее являлся доминантом и характеризовался как типичный представитель освоенных почв (Биологическое разнообразие..., 2005). В комплексе типичных видов микромицетов появляется вид *Penicillium kapuscinskii* – типичный тундровый вид, который не был выделен ранее.

### Заключение

Таким образом, на данном этапе самовосстановления состав и структура почвенного микробного комплекса 46-летней залежи незначительно отличается от ненарушенной тундровой экосистемы. Полученные данные свидетельствуют о том, что в пятом десятилетии сукцессии постагрогенная экосистема находится на завершающем этапе преобразования. Установлено значительное сходство микробных комплексов залежной почвы и почвы зональной тундровой экосистемы по ряду показателей: состав и структура микробоценоза, профильное распределение численности и биомассы микроорганизмов, соотношение компонентов микробной биомассы с доминирующим положением грибов, а также видовой структурой, где наибольшее обилие и частоту встречаемости имели виды рода *Penicillium*, *Geomyces pannorum* и стерильный мицелий.

Микробоценоз почвы 16-летней залежи при сопоставимых показателях общей микробной биомассы и аналогичным ее профильным распределением с микробным сообществом ненарушенной тундры характеризуется повышенной долей бактерий и грибного мицелия, пониженной долей спор в общей микробной биомассе, специфическим видовым составом микромицетов (уменьшение доли видов рода *Penicillium*, увеличением доли видов рода *Mucor*, *Trichoderma*). Таким образом, данная постагро-

генная экосистема обнаруживает принадлежность, как к предшествующему этапу сукцессии, так и к целинному аналогу.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Комплексной программы УрО РАН №15-12-4-45 "Функционирование и эволюция экосистем криолитозоны европейского северо-востока России в условиях антропогенных воздействий и изменения климата".

### Цитированная литература

- Перспективы развития биологии почв // Перспективы развития почвенной биологии /под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд. Макс-Пресс, 2001. С. 10-21.
- Агроэкологическое состояние и перспективы использования земель России, выбывших из активного сельскохозяйственного оборота // Мат-лы Всерос. науч. конф. М.: Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2008. 405 с.
- Люри Д.И., Горячкин С.В., Караваева Н.А., Денисенко Е.А., Нефедова Т.Г. Динамика сельскохозяйственных земель России в XX веке и постагрогенное восстановление растительности и почв. М.:ГЕОС, 2010. 412 с.
- Телеснина В.М. Постагрогенная динамика растительности и свойств почвы в ходе демулационной сукцессии в южной тайге // Лесоведение, 2015. №4. С. 293-306.
- Биологическое разнообразие и продуктивность антропогенных экосистем Крайнего Севера. Екатеринбург, 2005. 120 с.
- Экологические принципы природопользования и природовосстановления на Севере. Сыктывкар, 2009. 176 с.
- Особенности природопользования и перспективы природовосстановления на Крайнем Севере России. Екатеринбург: УрО РАН, 1998. 147 с.
- Полянская, Л.М. Прямой микроскопический подсчет спор и мицелия грибов в почве // Изучение грибов в биогеоценозах. Свердловск, 1988. С. 30.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии / Ред. Д.Г. Звягинцев. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- Головченко А.В., Полянская Л.М. Сезонная динамика численности и биомассы микроорганизмов по профилю почвы // Почвоведение. 1996. № 10. С. 1227-1233.
- Кураков, А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем: Учебно-методическое пособие. М.: МАКС Пресс, 2001. 92 с.
- Domsh K.H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi. IHW-Verlag Eching, 2007. 672 p.
- Ramirez C. Manual and atlas of the Penicillia. Amsterdam-N.-Y.- Oxford: Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 p.

## MICROBIOLOGICAL INDICATORS OF POSTAGROGENIC SOILS OF TUNDRA ECOSYSTEMS

Kovaleva V.

The most recent research conducted postagrogenic ecosystems in the taiga zone of Russia, where large areas of abandoned arable land. But in the tundra, too, have postagrogenic ecosystems. About them very little information. Currently, the process postagrogenic transformation of soil microbial community in tundra remains virtually unexplored. Establishment of the regularities of self-healing necessary to predict the process of preserving environmental sustainability and disclosure mechanisms postagrogenic succession in the tundra zone. The study was carried out in the Vorkuta district of the Komi Republic. The study area is located in the South-Eastern part Bolshezemelskaya tundra. The study was performed at three sites: undisturbed tundra, postagrogenic ecosystem 46, postagrogenic ecosystem 16. The results of the study showed that after 46 years of postagrogenic-healing ecosystem for all microbiological indicators corresponds to the undisturbed counterpart. The considerable similarity of the microbial complexes in fallow soil and soil zonal tundra ecosystems in a number of indicators: the composition and structure of the microbiocenosis, the profile distribution of the number and biomass of microorganisms, the ratio of microbial biomass with a dominance of fungi as well as species structure, where the highest abundance and frequency of occurrence were species of the genus *Penicillium*, *Geomyces pannorum* and a sterile mycelium. Microbiocenosis of soil 16 years of postagrogenic ecosystems with comparable indices of total microbial biomass and its the same core distribution with the microbial community of the undisturbed tundra, is characterized by a high proportion of bacteria and fungal mycelium, a reduced share of the dispute in total microbial biomass, specific species composition of micromycetes (decrease in the proportion of species of the genus *Penicillium*, the increase in the share of species of the genus *Mucor*, *Trichoderma*). Thus, the postagrogenic ecosystem finds identity, like the previous stage of succession, and to the virgin counterpart.



# РАЗРАБОТКА РЕГИОНАЛЬНЫХ И ЛОКАЛЬНЫХ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Колесников С.И.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; kolesnikov@sfedu.ru

## Аннотация

Для установления региональной или локальной ПДК необходимо проведение полевого или лабораторного моделирования загрязнения соответствующей почвы соответствующим загрязняющим веществом. Схема опыта должна включать контроль (незагрязненную почву с фоновой концентрацией загрязняющего вещества) и не менее 3 вариантов с различными дозами загрязняющего вещества от 2 до 10 фонов. Повторность каждого варианта не менее 3-х. Через 30 суток после загрязнения из всех вариантов опыта отбирают образцы почвы. В каждом образце почвы определяют шесть биологических показателей: общая численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы, активность дегидрогеназы, целлюлозолитическая активность, длина корней редиса. Повторность каждого анализа не менее 6-ти. На основе указанных биологических показателей рассчитывают интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы. Для этого значение каждого из шести показателей в незагрязненной почве принимают за 100% и по отношению к нему выражают в процентах значения в вариантах с загрязненной почвой. Затем определяют среднее значение шести показателей в вариантах с загрязненной почвой. Полученные значения ИПБС выражены в процентах к фону (к 100%). Далее определяется уравнение регрессии, отражающее зависимость снижения значений ИПБС от содержания в почве загрязняющего вещества. По этому уравнению рассчитывается концентрация загрязняющего вещества, при которой ИПБС снижается на 10% от контроля, что свидетельствует и нарушении целостных биогеоэкологических функций почвы.

**Ключевые слова:** химическое загрязнение, региональные нормативы, биологические показатели, экологические функции почв

## Введение

В настоящее время для многих загрязняющих веществ (элементов) не разработаны экологически безопасные нормы их содержания в почве (например, нефть и нефтепродукты, многие тяжелые металлы и т.д.). Для тех веществ, для которых нормативы установлены, значения этих нормативов (ПДК и ОДК) носят общий («глобальный») характер. Они разработаны, как правило, либо для «почвы в целом» (ПДК), либо для «крупных групп почв» (ОДК), сходных по основным свойствам почвы, определяющим их устойчивость к загрязнению (гранулометрический состав, pH и др.). Однако значения этих нормативов часто оказываются несостоятельными в силу как объективных, так и субъективных причин. Целесообразно создание методики, позволяющей устанавливать «региональные» и «локальные» нормативы содержания в почве загрязняющих веществ (элементов) с учетом местных эколого-геохимических особенностей территории.

В последнее время и в России, и за рубежом, при оценке состояния окружающей среды и нормировании ее качества экологический подход стал доминирующим. Нами предлагается оценивать степень негативного воздействия химического загрязнения на основе «эмерджентного» подхода по степени нарушения экологических и хозяйственных функций, выполняемых почвой в природной экосистеме, агроэкосистеме или урбосистеме. Это возможно благодаря тому, что нарушение (срыв) экологических функций почвы происходит в определенной очередности в зависимости от силы антропогенного воздействия. Сначала нарушаются информационные функции, затем биохимические, физико-химические, химические и целостные, и в последнюю очередь физические функции почвы.

## Материалы и методы

В качестве критерия степени нарушения экофункций предлагается использовать интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы, определенный на основе набора наиболее информативных биологических показателей, первыми реагирующими на антропогенное воздействие.

Для установления региональной или локальной ПДК необходимо проведение полевого или лабораторного моделирования загрязнения соответствующей почвы соответствующим загрязняющим веществом. Схема опыта должна включать контроль (незагрязненную почву с фоновой концентрацией загрязняющего вещества) и не менее 3 вариантов с различными дозами загрязняющего вещества от 2 до 10 фонов. Повторность каждого варианта не менее 3-х.

Наиболее информативным сроком экспозиции является 30 суток. Через 30 суток после загрязнения из всех вариантов опыта отбирают образцы почвы. В каждом образце почвы определяют шесть биологических показателей: общая численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы, активность дегидрогеназы, целлюлозолитическая активность, длина корней редиса. Повторность каждого анализа не менее 6-ти.

Выбор биологических показателей обусловлен следующими причинами. Общая численность бактерий характеризует состояние редуцентов в экосистеме. Бактерии рода *Azotobacter* традиционно используют как индикатор химического загрязнения почвы. Активность каталазы и дегидрогеназы отражают интенсивность минерализационных процессов в почве. Длина корней редиса характеризует благоприятность почвы для растений.

На основе указанных биологических показателей рассчитывают интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы. Для этого значение каждого из шести показателей в незагрязненной почве принимают за 100% и по отношению к нему выражают в процентах значения в вариантах с загрязненной почвой. Затем определяют среднее значение шести показателей в вариантах с загрязненной почвой. Полученные значения ИПБС выражены в процентах к фону (к 100%).

Почва выполняет свои экологические функции полноценно, пока не произошло снижение значений ИПБС. При его снижении в той или иной степени происходит нарушение тех или иных экологических функций почвы.

Ранее установлено, что если значения ИПБС уменьшаются менее чем на 5 %, то почва выполняет свои экологические функции нормально, при снижении значений ИПБС на 5-10% происходит нарушение информационных экофункций, на 10-25 % — биохимических, физико-химических, химических и целостных, более чем на 25 % — физических.

Устойчивость почвы к загрязнению или иным деградационным процессам должна пониматься, прежде всего, под устойчивостью именно целостных биогеоэкологических функций, таких как аккумуляция и трансформация веществ и энергии в биогеоценозе, санитарная функция, функция буферного и защитного биогеоэкологического экрана, условия существования и эволюции организмов. Нарушение этой группы функций следует считать порогом устойчивости почвы к антропогенному воздействию, превышение которого чревато экологическим кризисом или даже катастрофой для экосистемы. Следовательно, ПДК загрязняющего вещества в почве можно считать такую концентрацию, при которой ИПБС снижается не более чем на 10 % по сравнению с незагрязненной почвой.

По результатам полевого и лабораторного моделирования химического загрязнения почвы определяется уравнение регрессии, отражающее зависимость снижения значений ИПБС от содержания в почве загрязняющего вещества. По этому уравнению рассчитывается концентрация загрязняющего вещества, при которой ИПБС

снижается на 10% от контроля, то есть происходит нарушение целостных биогеоценологических функций почвы.

### **Результаты**

На сегодняшний день разработаны (предложены) региональные нормативы содержания тяжелых металлов, металлоидов, нефти и нефтепродуктов в основных почвах юга России:

— As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, F, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, V, W, Zn в черноземах обыкновенных;

— Cr, Cu, Ni, Pb, нефти в черноземах обыкновенных, черноземах южных, черноземах выщелоченных слитых, черноземах остаточно-карбонатных; темно-каштановых, каштановых, светло-каштановых; бурых полупустынных; коричневых типичных, коричневых выщелоченных, коричневых карбонатных; желтоземах; бурых лесных кислых, бурых лесных кислых оподзоленных; серых лесных; дерново-карбонатных типичных, дерново-карбонатных выщелоченных; горно-луговых; солонцах; солончаках; песчаных;

— Cd, F, Mo, Se, Zn в черноземах обыкновенных, черноземах выщелоченных слитых; бурых лесных; серых лесных; дерново-карбонатных; горно-луговых;

— нефти, бензина, дизельного топлива, мазута в черноземах обыкновенных, черноземах выщелоченных слитых; бурых лесных; серых лесных; дерново-карбонатных; горно-луговых.

### **Заключение**

Предлагаемый способ разработки региональных и локальных нормативов содержания химических веществ в почве можно использовать при экологическом нормировании загрязнения почв; при разработке остаточного допустимого количества загрязняющего вещества в почве при рекультивации; при разработке путей и методов санации загрязненных почв; при прогнозировании экологических последствий хозяйственной деятельности на данной территории; при оценке риска катастроф; при проведении экологической экспертизы, паспортизации, сертификации территории или хозяйственного объекта и т.д.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

## **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА РАСЧЕТА ЛОКАЛЬНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НОРМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ДЫХАНИЕ ПОЧВ ПРОВИНЦИИ ПАВИЯ (ИТАЛИЯ)**

**Коновалов А.Г.<sup>1</sup>, Рисник Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва, Россия; magko@rambler.ru

<sup>2</sup>Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

### **Аннотация**

В работе был апробирован метод локальных экологических норм как альтернатива концепции предельно допустимых концентраций (ПДК), лежащей в основе системы экологического нормирования в России. Метод ЛЭН позволяет рассчитать величины границ нормы индикаторов (ГНИ) и границ нормы факторов (ГНФ). Границы норм индикаторов разделяют классы качества окружающей среды по уровню благополучия по биологическим показателям, границы норм факторов – классы с различной степенью допустимости и недопустимости значений

фактора. В работе были использованы данные по биологическим и физико-химическим показателям состояния почв, полученные итальянскими учеными при работе над "Проектом Павия" в 2004-2005 г.г. "Проект Павия" – это проект комплексной оценки экологического состояния почв в итальянской провинции Павия, принадлежащей региону Ломбардия. В качестве биоиндикаторов рассмотрены следующие показатели качества почв: базальное дыхание Сбаз, биомасса микроорганизмов, метаболический коэффициент, коэффициент минерализации. В качестве факторов были использованы концентрации в почвах тяжёлых металлов – Mn, Hg, Co, Cu, Cr, Pb, Zn, Cd, As, Ni. Для всех индикаторов и факторов были установлены нижние границы нормы. По всем факторам, за исключением содержания кобальта, установленные границы нормы не противоречат нормативам, т.е. метод ЛЭН позволил дополнить нормативы нижней границей зоны толерантности. По итогам работы можно сделать вывод о том, что метод локальных экологических норм хорошо подходит для определения границ норм для содержания тяжёлых металлов и металлоидов. Основными эффективными почвенными биоиндикаторами из апробированных в работе выступают показатели почвенного дыхания и минерализации органического вещества, что отражает чувствительность почвенного микробоценоза к содержанию тяжёлых металлов и металлоидов. Использование метода ЛЭН помогает преодолевать некоторые недостатки концепции ПДК и традиционных методов статистического анализа.

**Ключевые слова:** ПДК, ЛЭН, ГНИ, ГНФ, биоиндикаторы, факторы, тяжёлые металлы, почвы, почвенное дыхание, минерализация

## Введение

Вопросы экологического нормирования почв являются одним из приоритетных направлений деятельности в сфере охраны окружающей среды, но на сегодняшний день действующая в России система нормирования имеет некоторые недостатки. В основе её лежат ПДК (предельно допустимые концентрации), которые и являются санитарно-гигиеническим критерием качества окружающей среды.

Концепция предельно допустимых концентраций сталкивается с рядом трудностей, заставляющих усомниться в её эффективности [1]:

1) Экстраполяция нормативов ПДК на реальные природные объекты не всегда правомерна.

2) Нормативы ПДК применяют как единые нормативы для значительных административных территорий, поэтому они не могут охватить и учесть специфику функционирования экосистем в различных природно-климатических зонах и биогеохимических провинциях.

3) Существующие списки нормативов ПДК не содержат многие вещества: канцерогены, мутагены, некоторые радиоактивные загрязнения и т.п.

4) Возможна ошибочная оценка ПДК высококумулятивных веществ, ввиду кратковременности лабораторного изучения.

5) При обосновании ПДК не учтён разный трофический статус экосистем, сезонные особенности природных факторов, на фоне которых проявляется токсичность загрязняющих веществ [2].

6) Нормативы ПДК не учитывают многообразие форм химических компонентов.

7) Не учтено, что токсическое воздействие многих веществ существенно меняется в зависимости от условий среды, таких как температура, pH и др.

8) Если в лабораторных опытах на тестовую популяцию воздействует единственный испытуемый фактор и предполагается, что действие остальных не приводит к неблагоприятию, то в природных экосистемах нет изолированного действия факторов, т.е. все они одновременно влияют на каждую из биологических характеристик и могут совместно приводить к неблагоприятию.

9) Существующие методы определения ПДК предусматривают расчет лишь максимально допустимых нагрузок на испытываемые популяции, в то время как к неблагоприятно биоты могут и слишком низкие значения некоторых факторов [3].

10) Кроме химических веществ негативное влияние на биологические организмы и человека, в частности, оказывают многие другие факторы, например, тепловое, радиационное, электромагнитное, шумовое или биологическое загрязнения, определением ПДК для которых никто не занимается.

### Материалы и методы

В работе были использованы данные по биологическим и физико-химическим показателям состояния почв, полученные итальянскими учеными при работе над "Проектом Павия" в 2004-2005 г.г. "Проект Павия" – это проект комплексной оценки экологического состояния почв в итальянской провинции Павия, принадлежащей региону Ломбардия.

Мониторинг состояния почв включал определение содержания тяжёлых металлов и металлоидов, макроэлементов, элементов-биоенов, показателей дыхания и микробиологического состояния почв (коэффициент минерализации, кумулятивное дыхание, базальное дыхание, метаболический коэффициент, биомассу микроорганизмов в пересчёте на углерод) [4].

В ходе исследования были проведены 3 мониторинговые кампании. Для их проведения была использована мониторинговая сеть LUCAS (Land Use Cover Area from Statistical Survey) с ячейками 18x18 км. Нами были использованы данные по 2 и 3 кампаниям. В ходе второй кампании было отобрано в пределах регулярной сети 34 пробы, в ходе третьей – 116, причём в третьей кампании пробы отбирали в пределах шести областей провинции с максимальным уровнем промышленной нагрузки. Пробы отбирали методом конверта с квадратов 5x5 метров с поверхности до 30 см.

В качестве негативных факторов рассмотрены концентрации тяжелых металлов и металлоидов: As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn (в мг/кг почвы), кроме того, определяли содержание алюминия в %.

В качестве биоиндикаторов рассмотрены следующие показатели качества почв:

1. Базальное дыхание  $C_{баз}$  – равновесная скорость дыхания почвы, которая является следствием минерализации органического вещества в почве (мг  $C-CO_2$ /кг почвы в день). Величина  $C_{баз}$  может быть интерпретирована как минимальная скорость метаболизма, необходимая для поддержания функционирования организма.

2. Биомасса микроорганизмов в пересчёте на углерод  $C_{мик}$  (мг/кг почвы).

3. Метаболический коэффициент  $qCO_2$  (мг  $C-CO_2$  в час / мг биомассы микроорганизмов), показывает степень эффективности ассимиляции пулом микроорганизмов доступного органического вещества, единица измерения ( $qCO_2 = C_{баз} / C_{мик} / 24$ ). Этот показатель тем выше, чем ниже эффективность ассимиляции.

4. Коэффициент минерализации  $qM$  – отношение суммарного базального дыхания за период исследования к содержанию суммарного органического углерода в почве [5].

Как альтернатива концепции ПДК в работе рассмотрен метод локальных экологических норм (метод ЛЭН). Метод ЛЭН позволяет [6, 7, 8]:

- выявить существенные для экологического неблагоприятия факторы среды,
- ранжировать их по вкладу в частоту случаев неблагоприятия,
- рассчитать величины границ нормы индикаторов (ГНИ) и границ нормы факторов (ГНФ). Границы норм индикаторов разделяют классы качества окружающей

среды по уровню благополучия по биологическим показателям, границы норм факторов – классы с различной степенью допустимости и недопустимости значений фактора,

- оценить достаточность программ наблюдения за потенциально опасными факторами среды,
- сопоставить индикационный потенциал различных биологических характеристик.

Различные значения индикаторной характеристики соответствуют различным уровням благополучия-неблагополучия или, другими словами, принадлежат различным классам качества окружающей среды по биологическим показателям. Исключительно важная черта *in-situ*-методологии состоит в том, что, назначая биоиндикатор, специалист априорно не указывает границы между этими классами качества. Значения ГНИ представляют один из главных результатов совместного анализа биологических и физико-химических данных.

Второй главный результат применения *in-situ*-методологии – границы нормы для факторов окружающей среды (ГНФ), которые играют роль границ классов качества окружающей среды по физико-химическим показателям.

Метод ЛЭН основан на компьютерном анализе взаимного распределения биологических и физико-химических характеристик, а именно на поиске таких ГНФ и ГНИ, чтобы благополучные значения индикатора соответствовали допустимым значениям фактора, а недопустимые значения фактора – неблагоприятным значениям индикатора.

Для неблагоприятия низких значений индикатора и недопустимости низких значений факторов, положение границ проиллюстрировано на рисунке 1.

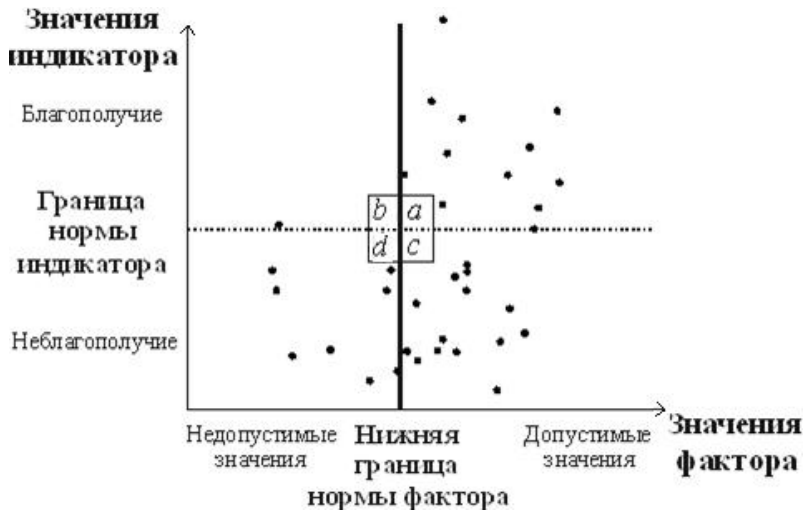


Рисунок 1. Классы значений индикатора и фактора при одновременном воздействии нескольких факторов среды. Области "a", "b", "c", "d" обозначают качественные классы на диаграмме: "a" – благополучие индикатора при допустимых значениях фактора, "b" – благополучные значения индикатора при недопустимых значениях, "c" – неблагоприятие индикатора при допустимых значениях фактора, "d" – неблагоприятие индикатора при недопустимых значениях.

Если выбранная биологическая характеристика действительно является индикатором, то область "b" на диаграмме должна быть пустой, поскольку благополучие

индикатора при недопустимых значениях фактора невозможно. При рассмотрении воздействия одного фактора область "с" также должна быть пустой, однако в реальной ситуации к неблагоприятию индикатора может приводить совокупное действие других факторов среды.

### Результаты

Для каждой кампании все индикаторы были упорядочены по критерию количества значимых факторов и по критерию достаточности. Достаточность – доля наблюдений, недопустимых хотя бы по одному из факторов, участвующих в анализе, среди всех наблюдений, неблагоприятных по индикатору. Ещё одной важной характеристикой, описывающей вклад фактора в степень неблагоприятия конкретного индикатора, является полнота. Полнота – доля наблюдений, недопустимых по заданному фактору и неблагоприятных по заданному индикатору среди всех неблагоприятных по этому индикатору наблюдений.

В таблицах 1 и 2 приведены границы ГНИ и ГНФ по сводным данным по 2-й и 3-й пробоотборным кампаниям. Уровень значимости результатов  $\alpha = 0.05$ , количество точек в выборке – 149.

Таблица 1. Области нормы индикаторов и достаточность программы наблюдений для отражения причин неблагоприятия.

Индикатор	Область нормы по индикатору	Достаточность программы наблюдений	Число значимых факторов
$C_{\text{мик}}$	>157,1	0,95	10
$C_{\text{баз}}$	>11,3	0,90	10
qM	>2,45	0,82	8
qCO <sub>2</sub>	>0,4	0,60	2

Из таблицы 1 видно, что биомасса микроорганизмов и базальное дыхание более чувствительны к концентрациям тяжёлых металлов, и для этих же факторов характерна наибольшая достаточность программы наблюдений.

Таблицу 2 необходимо читать следующим образом: значения концентрации никеля ниже 27 мг/кг приводят к снижению базального дыхания ниже 11,3 мг C-CO<sub>2</sub>/кг почвы в день, 40% неблагоприятных значений индикатора сопряжены с негативными значениями концентрации никеля.

Проведено сравнение полученных границ с отечественными и зарубежными нормативами.

Для ряда тяжёлых металлов в России имеются установленные нормативы ПДК (для валового содержания в почве) [9].

Устойчивость почвы к воздействию тяжёлых металлов в наибольшей степени определяют кислотно-щелочные условия и гранулометрический состав. Для различных сочетаний гранулометрического состава и кислотности среды в России установлены различные нормативы ОДК [10].

В Италии Министерством окружающей среды также были установлены нормативы содержания ряда тяжёлых металлов в почвах [11].

Установленные нами границы норм укладываются в диапазон средних значений для почв Италии [12].

Таблица 2. Области нормы факторов и полноты их вклада в неблагоприятное индикаторов.

Индикатор	Фактор	Область нормы по фактору	Полнота	Индикатор	Фактор	Область нормы по фактору	Полнота
C <sub>мик</sub>	Co, мг/кг	>10,5	0,70	C <sub>баз</sub>	Zn, мг/кг	>74	0,55
	Cu, мг/кг	>25,7	0,65		Cu, мг/кг	>22,4	0,54
	Cr, мг/кг	>67	0,61		Pb, мг/кг	>17,8	0,45
	Zn, мг/кг	>75	0,60		Ni, мг/кг	>27	0,40
	Ni, мг/кг	>34	0,55		Cr, мг/кг	>48	0,38
	Cd, мг/кг	>0,2	0,52		Al, %	>4,3	0,34
	Mn, мг/кг	>381	0,50		Cd, мг/кг	>0,15	0,32
	Al, %	>4,7	0,44		Hg, мг/кг	>0,05	0,32
	As, мг/кг	>7,2	0,40		As, мг/кг	>5,9	0,30
	Pb, мг/кг	>15,9	0,30		Co, мг/кг	>6,4	0,30
qM	Al, %	>5,3	0,57	qCO <sub>2</sub>	Co, мг/кг	<12,9	0,44
	Cr, мг/кг	>64	0,57		Al, %	<6	0,40
	Cu, мг/кг	>24,1	0,57				
	Mn, мг/кг	>378	0,50				
	As, мг/кг	>7,2	0,39				
	Ni, мг/кг	>26	0,38				
	Cd, мг/кг	>0,17	0,35				
	Zn, мг/кг	>60	0,32				

В работе Водяницкого [13] утверждается, что при невысоком загрязнении, когда почва еще сохраняет растительность, тяжелые металлы (в первую очередь Cr), стимулируя микробиологическую активность, усиливают дыхание почвы и выделение CO<sub>2</sub>. Это совпадает с тем, что для базального дыхания выявлены нижние ГНФ ряда тяжёлых металлов, т.е. их снижение содержания ниже определённого порога приводит к снижению уровня почвенного дыхания.

Данные по существующим нормативам и ГНФ, полученные при помощи метода ЛЭН приведены в табл. 3. Поскольку исследуемые почвы имеют суглинистый грану-

Таблица 3. Сопоставление нормы содержания тяжёлых металлов в почвах и границ области нормы факторов (усредненные по разным индикаторам).

Перечень элементов	ПДК [9]	ОДК для суглинистых почв, рН <sub>KCl</sub> > 5,5 [10]	Нормативы для почв Италии [11]	Область нормы по фактору
Mn, мг/кг	1500			>380
Hg, мг/кг	2,1			>0,05
Co, мг/кг	5			(6,4-10,5;12,9)
Cu, мг/кг		132	120	>22,4-25,7
Cr, мг/кг			120	>48-67
Pb, мг/кг	32	130	100	>15,9-17,8
Zn, мг/кг		220	150	>60-75
Cd, мг/кг		2		>0,15-0,20
As, мг/кг		10		>5,9-7,2
Ni, мг/кг		80		>26-34



лометрический состав с рН близким к нейтральному в таблице приведены ОДК для почв с аналогичными свойствами.

По всем факторам, за исключением содержания кобальта, установленные границы нормы не противоречат нормативам, т.е. метод ЛЭН позволил дополнить нормативы нижней границей зоны толерантности. Однако границы нормы фактора по кобальту противоречат действующим ПДК, это может быть обусловлено тем, что ПДК для кобальта взята для подвижной формы, а не для валового содержания, как у остальных элементов в таблице.

### **Заключение**

По итогам работы можно сделать вывод о том, что метод локальных экологических норм хорошо подходит для определения границ норм для содержания тяжёлых металлов и металлоидов. Основными эффективными почвенными биоиндикаторами из апробированных в работе выступают показатели почвенного дыхания и минерализации органического вещества, что отражает чувствительность почвенного микробиоценоза к содержанию тяжёлых металлов и металлоидов. Использование метода ЛЭН помогает преодолевать некоторые недостатки концепции ПДК и традиционных методов статистического анализа.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 16-04-01024).

### **Цитируемая литература**

1. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н. Теоретические и методические основы технологии регионального контроля природной среды по данным экологического мониторинга. М.: НИА-Природа, 2004. – 271 с.
2. Фрумин Г.Т. Экологически допустимые уровни воздействия металлами на водные экосистемы // Биол. внутр. вод, 2000. № 1. С. 125–131.
3. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Фурсова П.В. Insitu-методология оценки качества среды обитания: Основные положения // Использование и охрана природных ресурсов в России. 2012; 6: С. 35–37.
4. Roberto M. Cenci, Fabrizio Sena. Dioxins, Trace elements, bioindicators and biodiversity on soil. EUR 23935 EN – Joint Research Centre – Institute for Environment and Sustainability, 2009.
5. Moscatelli M.C., Lagomarsino A., Marinari S., De Angelis P. et al. Soil microbial indices as bioindicators of environmental changes in a poplar plantation. Ecological Indicators, 2005. V. 5, pp. 171–179.
6. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Рисник Д.В. "In situ"-технология установления локальных экологических норм // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – С. 32-57.
7. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Максимов В.Н., Фурсова П.В. Insitu-методология оценки качества среды обитания: основные положения // Использование и охрана природных ресурсов в Рос-сии. 2012. № 6. – С. 35-37.
8. Левич А.П., Булгаков Н.Г., Рисник Д.В. и др. Поиск связей между биологическими и физико-химическими характеристиками экосистемы Рыбинского водохранилища. Часть 3. Расчет границ классов качества вод // Компьютерные исследования и моделирование, 2013. Т. 5. № 3. – С. 451–471.
9. ГН 2.1.7.2041-06 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.
10. ГН 2.1.7.2042-06 Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве.
11. Imperato M., Adamo P., Naimo D., Arienzo M. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city (Italy). Environmental Pollution, 2003. V. 124, pp. 247–256.
12. Abollino O., Aceto M., Malandrino M., Mentasti E. et al. Heavy metals in agricultural soils from Piedmont, Italy. Distribution, speciation and chemometric data treatment. Chemosphere. 2002 Nov;49(6):545-57.
13. Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжёлыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор). // Почвоведение. 2013. №7. – С. 872-881.

# APPLICATION OF LOCAL ECOLOGICAL NORMS METHOD FOR DETERMINATION OF SOIL HEAVY METALS CONTENT INFLUENCE ON RESPIRATION OF SOILS OF PROVINCE PAVIA (ITALY)

**Konvalov A., Risnik D.**

The method of local ecological norms was used in the research as an alternative of maximum available concentrations conception on which russian system of ecological regulation is based. This method allows to calculate the values of boundaries of indicator's norm and boundaries of factors norm. Boundaries of indicators norm divide the classes of environment quality by the level of biological indices well-being, boundaries of factors norm divide the classes of different degree of factor values acceptability or non-unacceptability. In the research there were used the data of biological, physical and chemical indices of soil quality obtained by Italian scientists during the work on "Pavia" Project in 2004-2005. This project is a project of complex monitoring of soil ecological condition of Italian province Pavia.

Basal respiration, soil microbial biomass, metabolic quotient and mineralization quotient were taken as soil bioindicators. Mn, Hg, Co, Cu, Cr, Pb, Zn, Cd, As, Ni soil concentration were taken as factors. Lower norm boundaries were determined for all indicators and factors. The determined norm boundaries of all factors except Co don't contradict established by law standards, so the method of local ecological norms complemented the standards with the lower boundaries of tolerance zone.

To conclude we can say that the local ecological norms method is well applicable for determination of norms boundaries of heavy metals and metalloids. The main effective soil bioindicators from used in the research are soil basal respiration and mineralization quotient. This fact reflects the sensibility of microbial cenosis to heavy metals and metalloids concentration. The usage of local ecological norms method helps to overcome the disadvantages of maximum available concentrations conception and of some conventional statistic analysis methods.

## ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ - БИОИНДИКАТОРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЙ НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ

**Корнейкова М.В.<sup>1</sup>, Лебедева Е.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского научного центра РАН, Апатиты, Россия; korneykova@iner.ksc.ru, korneykova.maria@mail.ru

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия

### Аннотация

В работе представлены результаты многолетних исследований по изучению влияния выбросов предприятий цветной металлургии (медно-никелевые комбинаты «Североникель» и «Печенганикель» и Кандалакшский алюминиевый завод) на численность, биомассу, видовое разнообразие и структуру комплексов почвенных микроскопических грибов. Выявлено достоверное снижение численности и биомассы комплексов микромицетов в зоне воздействия промышленных предприятий, изменение видового состава и смена доминирующих видов. Выявлены виды биоиндикаторы на загрязнение почв фтором и тяжелыми металлами. Отмечено увеличение доли темноокрашенных микромицетов в районе медно-никелевых предприятий и ее снижение вблизи алюминиевого предприятия.

**Ключевые слова:** микромицеты, загрязнение, фтор, тяжелые металлы, биоиндикаторы

### Введение

Микроскопические грибы имеют важное биоиндикационное значение в экологической оценке наземных экосистем. Проявление биоиндикационных признаков микромицетов фиксируется на разных уровнях организации микобиоты – уровнях со-

обществ, популяций и организмов (Терехова, 2007). Сообщества почвенных микроорганизмов устойчивы к техногенным воздействиям, поэтому необходимы значительные нагрузки для того, чтобы произошли заметные изменения их состава и структуры. На территории Мурманской области расположены три крупных промышленных предприятия: комбинат «Североникель» (г. Мончегорск, 1935 г.), комбинат «Печенганикель» (г. Заполярный и п. Никель, 1940 г.) и Кандалакшский алюминиевый завод (КАЗ) (г. Кандалакша, 1955г.). Выбросы предприятий, несомненно, оказывают негативное влияние на состояние воздуха, почвы и почвенной микобиоты, влияют на ее численность, видовой состав и структуру.

### Материалы и методы

Исследования в зоне воздействия комбината «Североникель» проводили в 70-е годы прошлого столетия, а также в 2007-2009 г.г., в районе комбината «Печенганикель» – в 2012-2014 г.г., в зоне КАЗа – в 2003-2006, 2011-2015гг. На основании состояния почвенного покрова и содержания приоритетных загрязнителей в почве Cu и Ni (для медно-никелевых предприятий) и F (для алюминиевого завода) было проведено зонирование территорий по градиенту загрязнения. В районе комбината «Североникель» выделено 3 зоны: *зона сильного загрязнения* распространяется на небольшое расстояние от комбината (до 3 км), *зона среднего загрязнения* – до 25 км, *фоновая зона* – на расстоянии 50 км от источника выбросов. В районе комбината «Печенганикель» выделено 4 зоны: *сильного загрязнения* – до 3 км от источника выбросов, *среднего загрязнения* – до 16 км, *слабого загрязнения* – до 25 – 30 км в юго-западном направлении и *фоновая зона* – в 50 км от завода (Евдокимова и др., 2014). В районе КАЗа выделено 3 зоны: до 2 км – *зона сильного загрязнения*, до 15 км – *зона умеренного загрязнения* и *фоновая зона* – в 50 км от завода (Евдокимова и др., 2013). Отбор почвенных образцов (Al-Fe-гумусовые подзолы) проводили на стационарных площадках, расположенных по градиенту загрязнения воздушными выбросами промышленных предприятий. Численность микроорганизмов определяли методом посева на питательную среду сусло-агар с молочной кислотой. Биомассу грибов – методом флуоресцентного микрокопирования с использованием темноокрашенных поликарбонатных мембранных фильтров Nucleopor Black с диаметром 0,8 мкм. Идентификацию микроскопических грибов проводили на основе культурально-морфологических признаков с использованием стандартных определителей. В лабораторном опыте по определению степени токсичности фтора и меди для микроорганизмов использовали следующие концентрации фтор-иона, мг/л: 50, 100, 300, 500, 700 и иона меди, мг/л: 10, 50, 100, 300, 500. Сравнивали биомассу культур, инкубированных на среде с различной концентрацией загрязняющих веществ, с контрольным вариантом.

### Результаты

Еще в конце прошлого столетия была выявлена устойчивость грибов к высоким концентрациям тяжелых металлов (Cu, Ni, Co) в почвах. В эпицентре загрязнения выбросами комбината «Североникель» (грунты промышленной площадки) микроорганизмы были абсолютными доминантами в микробном комплексе на фоне ингибированного прокариотного компонента (Евдокимова, 1995). Однако их численность достоверно снижалась вблизи медно-никелевых предприятий. В зоне воздействия комбината «Североникель» численность почвенных микроорганизмов начинает повышаться на расстоянии 10-15 км от комбината, достигая 100-125 тыс. КОЕ в 1 г против 0,1-3,0 тыс. КОЕ/г вблизи источника выбросов. В районе комбината «Печенганикель» численность грибов существенно увеличивалась с 16 по 30 км, достигая 400 тыс. КОЕ/г, что в 40 раз больше, чем вблизи завода.

Данные по биомассе грибов, рассчитанные на основании прямого микроскопирования, свидетельствуют о глубокой деградации почв в зоне воздействия комбината. Биомасса почвенной микобиоты в зоне сильного загрязнения в районе комбината «Североникель» ( $0,8 \pm 0,2$  мг/г) была в 2 – 6 раз, а в зоне воздействия комбината «Печенганикель» ( $0,6 \pm 0,1$  мг/г) почти в 14 раз меньше, чем в фоновой почве.

Выбросы алюминиевого завода также оказывают ингибирующее действие на развитие почвенных микромицетов. Численность грибов в почве сильнозагрязненного участка ( $65 \pm 13$  тыс. КОЕ/г) была в 2 раза меньше количества грибов в почве умереннозагрязненного участка ( $128 \pm 29$  тыс. КОЕ/г) и в 4 раза меньше, чем на фоновом участке ( $253 \pm 32$  тыс. КОЕ/г). Причем эти различия четче выявляются при определении численности грибов методом посева на питательную среду, чем при определении биомассы грибов прямым микроскопическим методом.

В районе комбината «Североникель» из почвы зоны сильного загрязнения было выделено 39 видов микромицетов, зоны среднего загрязнения – 49 видов и фоновой участка 54 вида. На всех участках по видовому разнообразию доминировали грибы рода *Penicillium*. Особый интерес представляет увеличение доли представителей рода *Aspergillus* от 7 % в фоновой почве до 13 % в сильнозагрязненной. Грибы данного рода доминируют в южных почвах, тенденция к увеличению их разнообразия в антропогенно-загрязненных почвах отмечалась ранее рядом исследователей (Лебедева, 1993; Зачиняева, Лебедева, 2005; Марфенина, 2005). Доля представителей порядка *Mucorales*, как известно, чувствительных к разного рода антропогенным загрязнениям, снижается с 11% в фоновой почве до 5 % в сильнозагрязненной. В зоне сильного загрязнения доминируют виды *Penicillium spinulosum*, *P. glabrum*, *Trichoderma viride*, в фоновой – *P. implicatum*, *Umbelopsis isabellina*, *Mortierella longicollis*. В тоже время в почве данной зоны не выявлены виды грибов, выделяемые из фоновой почвы: *Acremonium kiliense*, *Aureobasidium pullulans*, *Gliocladium fimbriatum*, *Mortierella ramanniana*, *M. longicollis*, *Mucor griseo-cyanus*, *M. racemosus*, *Penicillium adametzii*, *P. brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. cyaneum*, *P. janczewskii*, *P. lanosoceruleum*, *P. lividum*, *P. notatum*, *P. steckii*, *P. variabile*, *P. viridicatum*, *P. verrucosum*, *Torula herbarum*, *Trichoderma hamatum*, *T. lignorum*, *Umbelopsis isabellina*. Однако в зоне сильного загрязнения отмечалось появление таких грибов, как *Aphanocladium aranearum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. terreus*, *A. ustus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. funiculosum*, *P. lilacinum*, *P. luteum*, *P. ochrochloron*, *P. jensenii*, *Philophora melinii*.

Видовое разнообразие комплексов почвенных микроскопических грибов в районе комбината «Печенганикель» представлено в зоне сильного загрязнения 8 видами, среднего загрязнения – 10, в зоне слабого – 14, на фоновом участке 18 видами. Одной из причин низкого видового разнообразия комплексов микромицетов в зоне комбината «Печенганикель» является более короткий период исследований в этом районе (2012-2014 г.г.) и расположение завода в более суровых климатических условиях. Грибы р. *Penicillium* составляли почти 50% от общего количества выделенных видов. Вид *Torula lucifuga* встречался только в почве сильнозагрязненного участка, а виды *Gliomastix murorum* var. *murorum*, *Memnoniella echinata*, *Mortierella longicollis*, *Muxotrichum deflexum*, *Penicillium canescens*, *P. chermesinum*, *P. implicatum*, *P. lividum*, *Phoma eupyrena* – только в фоновой. В зоне сильного загрязнения по обилию доминировал гриб *Trichoderma viride*, на участке со слабым загрязнением – *P. trzebinskii*; в зоне среднего загрязнения и на фоновом участке – *P. raistrickii*.

Видовое разнообразие комплексов микроскопических грибов в зоне воздействия КАЗа представлено 31 видом, на фоновом участке – 35 видами. Виды *Aspergillus repens*, *Exophiala jeanselmei*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. lividum*, *P. nalgiovense*, *P. ochrochloron*, *Talaromyces variabilis*, *Torula herbarum*, *Trichoderma koningii* встречались только в 2 км зоне, виды *P. corylophilum*, *P. godlewskii*,

*Sclerotinia sclerotiorum*, *T. polysporum*, *Wardomyces anomalus* – на фоновом участке. В почве вблизи алюминиевого завода (2 км от завода) доминировали виды *P. spinulosum*, *P. implicatum* и *Trichoderma viride*; на фоновом участке – *Cladosporium resinae*, *P. trzebinskii*, *Umbelopsis isabellina*.

Важным показателем влияния выбросов промышленных предприятий на состав грибных комплексов в почве является изменение количества светло- и темноокрашенных грибов. В наших исследованиях показано, что промышленные предприятия по-разному влияли на этот показатель. Выбросы медно-никелевых предприятий стимулировали развитие темно-пигментированных грибов. Их доля возрастала в 2 раза по сравнению с фоном. Выбросы алюминиевого предприятия, напротив, угнетали развитие темноокрашенных грибов. Однако лабораторные опыты по определению степени токсичности фтора для микромицетов, выделенных из почв, загрязненных выбросами алюминиевого завода показали, что виды, способные развиваться при высоких концентрациях фтора относились к группе темноокрашенных. Самым устойчивым к фтору оказался темноокрашенный гриб *Cladosporium cladosporioides*, менее устойчивым – вид *Alternaria alternata*, умеренно-толерантными – *Amorphoteca resinae*, *Wardomyces anomalus*.

В ходе исследований был выявлен вид-биоиндикатор *Aspergillus niger*. Несмотря на то, что тяжелые металлы оказывают более сильное воздействие на живые организмы, чем фтор, гриб *Aspergillus niger* оказался более чувствителен к фтору, чем к меди. Даже при низких концентрациях фтора в среде (50 мг/л) отмечалось снижение биомассы культуры, ингибирование процесса спорообразования и пигментации спор.

### Заключение

Выбросы промышленных предприятий медно-никелевого и алюминиевого производства, расположенных на территории Кольского полуострова, подавляют развитие почвенных микроскопических грибов, снижая их численность, биомассу, приводят к изменению видового состава и структуры их комплексов. К выбросам медно-никелевых предприятий наиболее чувствительны представители пор. *Mucorales* (грибы pp. *Mortierella*, *Umbelopsis*, *Mucor*) и некоторые виды pp. *Acremonium*, *Gliocladium*, *Gliomastix*, *Memnoniella*, *Myxotrichum*, *Penicillium*, *Phoma*, *Torula*, *Trichoderma*. Вблизи комбинатов в составе грибных комплексов появляются виды pp. *Aspergillus*, *Aphanocladium*, *Phialophora*, *Penicillium* и *Torula*, которые не встречаются в фоновой почве. Чувствительными к выбросам алюминиевого предприятия являются представители pp. *Penicillium*, *Sclerotinia*, *Trichoderma* и *Wardomyces*, устойчивыми – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Exophiala*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Torula*, *Trichoderma*. Вблизи медно-никелевых предприятий доля темноокрашенных микромицетов в почве возрастает, а в районе алюминиевого завода, напротив, снижается, по сравнению с незагрязненной почвой. Однако виды микромицетов, наиболее устойчивые к высоким концентрациям фтора (*Alternaria alternata*, *Amorphoteca resinae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Wardomyces anomalus*), относятся к группе темноокрашенных. Вид-биоиндикатор *Aspergillus niger* более чувствителен к фтору, чем к меди. При низкой концентрации фтора в среде (50 мг/л) отмечалось снижение биомассы культуры, ингибирование процесса спорообразования и пигментации спор.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность д.б.н., профессору Евдокимовой Г.А. за ценные советы и рекомендации в ходе проведения исследований, а также с.н.с. лаборатории экологии микроорганизмов ИППЭС КНЦ РАН Мозговой Н.П. за помощь в проведении работы.

### Цитируемая литература:

- Евдокимова Г.А., Корнейкова М.В., Мозгова Н.П. Изменения свойств почв и почвенной биоты в зоне воздействия аэротехногенных выбросов Кандалакшского алюминиевого завода // Почвоведение. № 10. 2013. С. 1274-1280.
- Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П. Микрофлора почв тундровой зоны Кольского полуострова // Почвоведение. 1995. № 12. С.1487-1497.
- Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П., Корнейкова М.В. Содержание и токсичность тяжелых металлов в почвах зоны воздействия газозадушных выбросов комбината "Печенганикель" // Почвоведение. № 5. 2014. С. 625-631.
- Зачиняева А.В., Лебедева Е.В. Микромицеты загрязненных почв Северо-западного региона России и их роль в патогенезе аллергических форм микозов // Микология и фитопатология. 2005. Том 37, вып. 5. С. 69-73.
- Лебедева Е.В. Микромицеты почв в окрестностях комбината цветной металлургии на Кольском полуострове // Микология и фитопатология. 1993. Т.27, вып.1. С. 12-17.
- Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
- Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. – М.: Наука, 2007. – 215 с.

## SOIL MICROMYCETES - BIOINDICATORS OF POLLUTION ON THE KOLA PENINSULA

Korneykova M.V.<sup>1</sup>, Lebedeva E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of the Industrial Ecology Problems of the North Kola Science Centre RAS, Apatity

<sup>2</sup>Botanical Institute by V.L. Komarov RAS, Saint Petersburg

The results of year's researches of the effect of non-ferrous metallurgy plants emissions (copper-nickel plants "Severonikel" and "Pechenganikel" and Kandalaksha aluminum plant) on the number, biomass, species diversity and structure of soil microscopic fungic complexes are presented. A significant decrease in the number and biomass micromycete complexes in the area affected plants, changes in species composition and structure are revealed. Species-bioindicators of fungi of soil pollution by heavy metals and fluorine are noted. An increasing proportion of dark-colored micromycetes in the area of copper-nickel plants and its decline near the aluminum plant are presented.

## APPLICATIONS OF LUMINOUS BACTERIA ENZYMES IN ECOTOXICOLOGY

Kratasyuk V.<sup>1</sup>, Esimbekova E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia; valkrat@mail.ru

<sup>2</sup>Institute of Biophysics, SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

### Abstract

The principle and applications of bioluminescent enzymatic toxicity bioassays is described. This type of assays uses bacterial coupled enzyme systems: NADH:FMN-oxidoreductase and luciferase to replace living organisms in developing cost-competitive biosensors for environmental, medical and industrial applications. These biosensors instantly signal chemical and biological hazards and allow for detecting a great amount of toxic compounds with advantages associated with fast results, high sensitivity, simplicity, low cost and safety of the procedure.

**Keywords:** bioluminescence, luciferase, bioluminescent toxicity assay, total toxicity, immobilization of enzymes

### Introduction

Historically, the application of bacterial luminescence in toxicology began with the usage of luminous bacteria for ecological monitoring and they are still widely used (Girotti

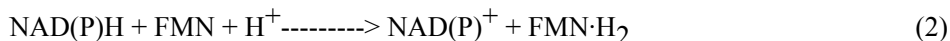
et al., 2008; Fernández-Piñas et al., 2014). These methods made it possible to determine environmental pollution by comparing the light emission intensity of luminous bacteria in control with samples. As opposed to other test objects such as paramecia, algae, crustaceans, and so on, the bioluminescent assay is faster (typically < 30 min). However, as with other living organisms, living luminous bacteria is petulant. The failure to maintain the stable state of bacterial culture during measurements and storage results in low accuracy of measurement, a clear disadvantage of this method caused by the “petulance”. The bacteria react to the appearance of toxic substances either by decreasing or by increasing the luminous intensity, often leading to ambiguous interpretation of results. Because of these shortcomings the assay based on luminous bacteria didn’t show very good results in ecological laboratories. To overcome those difficulties it was suggested to use enzymes of luminous bacteria NAD(P)H:FMN-oxidoreductase and luciferase in soluble and immobilized forms (Kratasyuk, 1990; Esimbekova et al., 2013). Since 1990, bioluminescent enzymatic toxicity assay has been developed (Kratasyuk, 1990), and is nowadays actively used in ecology, medicine, agriculture, and other areas (Esimbekova et al., 2014).

The bacterial coupled enzyme system: NAD(P)H:FMN-oxidoreductase + luciferase (Red + Luc) involves two reactions:

*Luciferase (Luc)*



*NAD(P)H:FMN-oxidoreductase (Red)*



In Reaction 1, luciferase catalyzes the oxidation of long-chain aliphatic aldehydes involving reduced flavin mononucleotide. One of the products of this reaction is a quantum of light in the blue-green spectrum. To provide luciferase with reduced flavin mononucleotide, the luciferase reaction is coupled with the reaction catalyzed by NAD(P)H:FMN-oxidoreductase (Reaction 2) (Shimomura, 2006).

Application of bioluminescent enzymatic toxicity assays is justified by the fact that Red as a part of enzymatic assays is present in all living organisms, leading to good correlation between the effect of toxic substances on living organisms and that on the coupled enzyme system of luminous bacteria. The main principle of the bioluminescent toxicity enzymatic assays is inhibition of Red and/or Luc activities by the toxic components of analyzed samples.

The principles of bioluminescent enzymatic toxicity assay were successfully used for the analysis of aquatic environments (Kratasyuk et al., 2001; Kratasyuk et al., 1999; Vetrova et al., 2002) as well as air and soil pollutions (Rimatskaya et al., 2012, 2014).

### **Materials and methods**

#### *Chemicals*

This work was done using the lyophilized preparations of highly purified enzymes produced in the laboratory of nanobiotechnology and bioluminescence of the Institute of biophysics SB RAS (Krasnoyarsk, Russia). Each vial of the lyophilized preparation of enzymes contained 0.5 mg luciferase EC 1.14.14.3 from the recombinant strain *E. coli* and 0.15 units of NADH:FMN-oxidoreductase EC 1.5.1 (Bezrukikh et al., 2014) from *Vibrio fischeri* culture collection IBSO 836. To prepare the enzymes solutions 5 mL of potassium-phosphate buffer was added to the vial with enzymes.

The immobilized multi-component reagents "Enzymolum" were produced by Prikladnye Biosistemy Ltd. (Krasnoyarsk, Russia). The reagents contain enzymes (Red + Luc) co-immobilized with substrates (NADH and myristic aldehyde) into 3% (w/v) starch

gel or 1% (w/v) gelatin gel (Kratasyuk and Esimbekova, 2011; Bezrukikh et al., 2014).

FMN (Serva); NADH (Gerbu) and tetradecanal (Merck) were used as the substrates of Red and Luc. 0.0025 % (v/v) solution of myristic aldehyde was prepared by mixing 50  $\mu$ L of 0.25 % (v/v) ethanol solution of aldehyde and 5 mL of 0.05 M potassium-phosphate buffer (pH 6.9). NADH solution was prepared in 0.05 M potassium-phosphate buffer (pH 6.9).

*Principle of bioluminescent enzymatic toxicity assays*

Bioluminescent enzymatic toxicity assay can be carried out using different schemes (Figure 1). The first scheme places a cuvette with all the necessary components of the bacterial coupled enzyme system (enzymes, their substrates and buffer solution) into a bioluminometer, register the maximum light emission intensity  $I_c$  (control), add the sample or pollutant solution into the cuvette, and finally registers the maximum light emission intensity  $I_{exp}$  again (Figure 1A). This approach is the quickest and has demonstrated good repeatability of results.

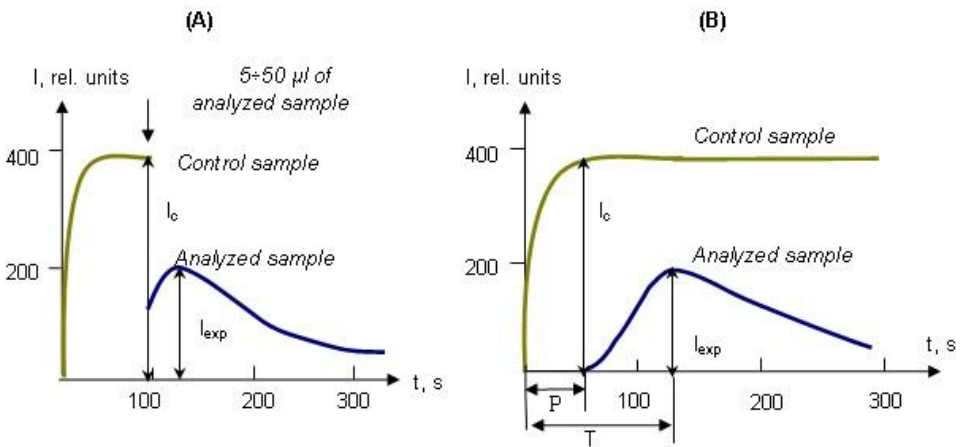


Figure 1. (A) Bioluminescent assay scheme; (B) modified scheme of bioluminescent assay.

When analyzing toxicity of the water samples, the luciferase index ( $LI$ ) or toxicity coefficient ( $TC$ ) are calculated according to the formulas:

$$LI = (I_{exp} / I_c) \cdot 100 \%$$

$$TC = [(I_c - I_{exp}) / I_c] \cdot 100 \%$$

$$TC = 100 - LI.$$

$LI$  and  $TC$  are the residual luminescence and the degree of inhibition of the bacterial coupled enzyme system Red + Luc in the presence of analyzed sample, respectively. The criterion of toxicity is a 50 % decrease in the maximum of light emission for the bacterial coupled enzyme system Red + Luc after the analyzed sample is added, as compared to the control. To estimate toxicity of individual substance values of  $EC_{50}$  and  $EC_{20}$  are calculated. They constituted 50% and 20% of the loss of luminescence for the coupled enzyme system Red + Luc. The decay constant  $k_d$  is also estimated according to the following formula:  $k_d = [\ln(I_2/I_1)]/\Delta t$ , where  $I_1$  is the peak of bioluminescence intensity,  $I_2$  is the bioluminescence intensity at the certain moment of time after reaching the bioluminescence maximum, and  $\Delta t$  is the time needed for  $I_1$  to reach  $I_2$ .



The second scheme involves testing of the control sample (usually distilled water or buffer solution) and analyzed sample in different cuvettes. This approach is possible to achieve higher sensitivity of the assays to the toxic substances. The results are also calculated by the values of  $TC$  and  $k_d$ . But in that case, it is possible to use one more parameter – the time when the coupled enzyme system reached the luminescence maximum ( $T_{max}$ ; Figure 1B).

## Results

### *The set of bioluminescent enzymatic toxicity assays*

Bioluminescent enzymatic toxicity assay provides an instrument to solve a problem of complex evaluation of environmental toxicity. It is well-known that to estimate environmental toxicity it is necessary to use the battery of bioassays. Usually they represent different levels of organisms such as cells, organs, organisms and ecosystems. Due to the coupling with bacterial luciferase, it is possible to design new enzymatic bioassays in toxicology and combine them into a set to provide the toxicity control at the enzymatic level (Kratasyuk and Gitelson, 1987). The set includes enzymes of different classes, or key enzymes of metabolic processes in living organisms. The bacterial luciferase may be the terminal enzyme in coupling chains for more than 100 enzymes including such as lactate dehydrogenase, trypsin, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and others, making it possible to measure the enzyme activities according to the light emission intensity.

To develop the set of bioluminescent enzymatic toxicity bioassays different enzyme interaction mechanisms were suggested (Figure 2). For example, in research by Kratasyuk et al. (2001) to estimate toxicity of water samples two enzymes were chosen: alcohol dehydrogenase (ADH) and trypsin, because they belong to different classes (oxidoreductases and hydrolases), and secondly, because they interact differently with bacterial luciferase, providing sensitivity to the different toxic substances (Kudryasheva et al., 1999, 2003).

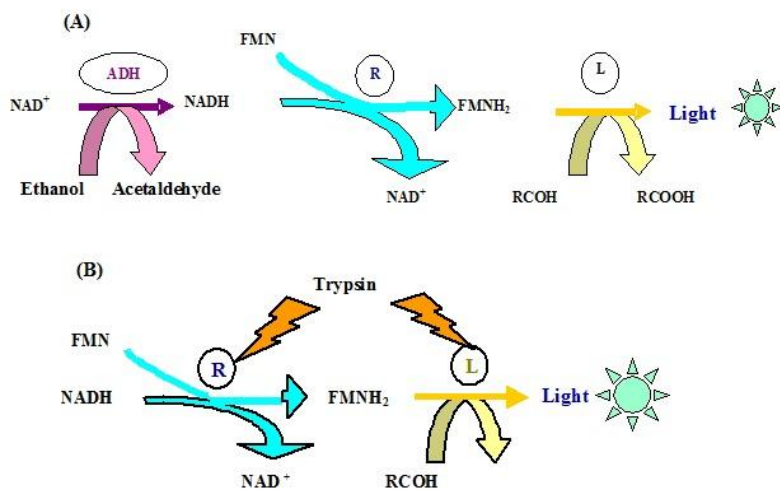


Figure 2. Examples of coupling of the enzymatic reactions. (A) The sequence of enzymes in the triple enzyme system: ADH + Red + Luc (Petushkov et al., 1987); (B) interaction of enzymes in the triple enzyme system: trypsin + Red + Luc (Njus et al., 1974).

The effect of toxic substances on the activities of the triple enzyme system with ADH and trypsin were measured using the bioluminescence decay constant. Moreover, it became

possible to regulate the sensitivity of enzymatic toxicity assays. For example, it was shown that the sensitivity of enzymatic assays to the toxic substances may be increased by extending the coupling chain of enzymatic reactions (Kudryasheva et al., 1999).

The set of bioluminescent enzymatic toxicity assays was used for monitoring natural and laboratory aquatic ecosystems (Kratasyuk et al., 2001) and for studying the seasonal dynamics of zooplankton non consumptive mortality (Dubovskaya et al., 2002), as well as for toxicity analysis of pesticides (Vetrova et al., 2007) and sanitary assessment of natural polymers polyhydroxyalkanoates (Shishatskaya et al., 2002).

#### *Enzymatic Reagents for Bioluminescent Analysis*

Widespread use of the available bioluminescent enzymatic toxicity bioassays is limited by the instability of the enzymes during use, limited shelf-life of enzymes–reagents, the need to control ambient conditions (i.e., pH, temperature, etc.), high manufacturing cost, and other factors. These problems can be solved by using immobilized enzymes that possess high catalytic activity and stability for long-term storage and successfully serve as biological modules of biosensors.

For the last 30 years immobilization has been widely used for production of stable reagents for bioluminescent analysis based on various bioluminescent systems: luminous bacteria, and bacterial and firefly luciferases. Many of the available immobilized reagents are successfully used in analytic measurements and in biosensors, because they simplify the analysis procedure, sometimes enabling full automation. At present, there are more than 40 different methods of immobilizing luminous organisms and enzymes (Kratasyuk and Esimbekova, 2003). An important advantage of immobilized enzymes is the possibility to control the enzyme stability to physical and chemical factors by way of choosing a suitable microenvironment. The optimal microenvironment for bacterial luciferase is natural polymer gels such as gelatin or starches (potato, rice, or corn). By varying gel concentration, time, and mode of drying of immobilized enzymes it is possible to make reagents with different enzymatic activity (Esimbekova et al., 2007, 2015).

It was shown that coupled enzyme system Red + Luc immobilized in starch or gelatin gel, saves its activity for 2 years (Lonshakova-Mukina et al., 2015). Moreover, immobilization in these gels leads to a considerable stabilization of the coupled enzyme system with regard to denaturation treatment: pH optimum of the enzymes expands both to the acid and alkaline areas; high enzyme activity is maintained at increased salt concentration; thermal stability increases essentially, especially in case of starch gel immobilization (Esimbekova et al., 2009; Bezrukikh et al., 2014).

Several substrates of bacterial bioluminescent reaction can be co-immobilized together with the coupled enzyme system to make the final test much simpler. For example, homogeneous multicomponent reagent named Enzymolum contains the enzymes Red and Luc, their substrates (myristic aldehyde and NADH) and buffer salts, co-immobilized in starch or gelatin gel (Kratasyuk and Esimbekova, 2011). The reagent is currently produced in flake form and can be used in the cuvette bioluminometer. The multicomponent reagent Enzymolum is a flake of dried gel, diameter 6–7 mm; dry weight  $1.5 \pm 0.2$  mg.

The advantages of enzymatic assays using Enzymolum are their rapidity (the time of analysis does not exceed 3–5 min), high sensitivity, one-step measuring procedure and possibility of automation of analysis.

#### **Conclusion**

Thus, the new approach to develop the bioluminescent enzymatic biosensors, toxicity bioassays and reagents has been described. To solve the problem of how to detect, identify, and measure the contents of the numerous chemical compounds in environmental monitoring, food product monitoring, and medical diagnostics, the bioluminescent

enzymatic toxicity assays were proposed, wherein the bacterial coupled enzyme system NAD(P)H:FMN-oxidoreductase-luciferase substitutes for living organisms. The immobilized reagent Enzymolum was introduced to facilitate and accelerate the development of cost-competitive enzymatic systems for use in biosensors for toxicological assays. The reagent is easy to use and convenient to be applied not only in toxicology studies but also in course of education, mainly in ecological and enzymological practical courses. Prototype biosensors offer cost advantages, versatility, high sensitivity, rapid response, extended shelf and flexible storage conditions.

## Reference

- Bezrukikh, A., Esimbekova, E., Nemtseva, E., Kratasyuk, V., Shimomura, O. (2014) Gelatin and starch as stabilizers for the coupled enzyme system of luminous bacteria NADH:FMN-oxidoreductase-luciferase. *Anal Bioanal Chem* 406:5743-5747.
- Dubovskaya, O.P., Gladyshev, M.I., Esimbekova, E.N. et al (2002) Study of possible relation between seasonal dynamics of zooplankton nonconsumptive mortality and water toxicity in a pond. *Inland Water Biol* 3:39-43.
- Esimbekova, E., Kondik, A., Kratasyuk, V. (2013) Bioluminescent enzymatic rapid assay of water integral toxicity. *Environ Monit Assess* 185:5909-5916.
- Esimbekova, E., Kratasyuk, V., Shimomura, O. (2014) Application of enzyme bioluminescence in ecology. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 144:67-109.
- Esimbekova, E.N., Kratasyuk, V.A., Torgashina, I.G. (2007) Disk-shaped immobilized multicomponent reagent for bioluminescent analyses: correlation between activity and composition. *Enzyme Microb Tech* 40:343-346.
- Esimbekova, E.N., Lonshakova-Mukina, V.I., Bezrukikh, A.E., Kratasyuk, V.A. (2015) Design of multicomponent reagents for enzymatic assays. *Dokl Biochem Biophys* 461.
- Esimbekova, E.N., Torgashina, I.G., Kratasyuk, V.A. (2009) Comparative study of immobilized and soluble NADH:FMN-oxidoreductase-luciferase coupled enzyme system. *Biochemistry (Moscow)* 74:695-700.
- Fernández-Piñas, F., Rodea-Palomares, I., Leganés, F. et al. (2014) Evaluation of the ecotoxicity of pollutants with bioluminescent microorganisms. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 145:65-135.
- Girotti, S., Ferri, E.N., Fumo, M.G. et al (2008) Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. *Anal Chim Acta* 608:2-29.
- Kratasyuk, V.A. Principle of luciferase biotesting. In: *Biological luminescence, Proceedings of the first international school, Wroclaw, Poland, June 20-23, 1989; World Scientific Publishing Co.: Singapore, 1990; pp. 550-558.*
- Kratasyuk, V.A., Gitelson, J.I. (1987) Application of luminous bacteria in bioluminescent analysis. *Uspekhi microbiologii* 21:3-30.
- Kratasyuk, V.A.; Esimbekova, E.N.; Gladyshev, M.I. et al (2001) The use of bioluminescent biotests for study of natural and laboratory aquatic ecosystems. *Chemosphere* 42:909-915.
- Kratasyuk, V.A., Esimbekova, E.N. (2003) Polymer immobilized bioluminescent systems for biosensors and bioinvestigations. In: Arshady R (ed) *Polymeric biomaterials, The PBM Series (Introduction to Polymeric Biomaterials)*, vol 1. Citus Books, London, pp 301-343.
- Kratasyuk, V.A., Esimbekova, E.N. (2011) Russian Federal Service for Intellectual Property Patent RU 2,413,772. Bioluminescent biomodule for analyses of various media toxicity and method of its preparation.
- Kratasyuk, V.A., Vetrova, E.V., Kudryasheva, N.S. (1999) Bioluminescent water quality monitoring of salt Lake Shira. *Luminescence* 14:193-195.
- Kudryasheva, N.S., Esimbekova, E.N., Rimmel, N.N. et al (2003) Effect of quinones and phenols on the triple—enzyme bioluminescent system with protease. *Luminescence* 18:224-228.
- Kudryasheva, N.S., Kudinova, I.Y., Esimbekova, E.N. et al (1999) The influence of quinones and phenols on the triple NAD(H)-dependent enzyme systems. *Chemosphere* 38:751-758.
- Lonshakova-Mukina, V., Esimbekova, E., Kratasyuk, V. (2015) Impact of enzyme stabilizers on the characteristics of biomodules for bioluminescent biosensors. *Sensor Actuat B-Chem* 213:244-247.
- Njus, D., Baldwin, T.O., Hastings, J.W. (1974) A sensitive assay for proteolytic enzymes using bacterial luciferase as a substrate. *Anal Biochem* 61:280-287.
- Petushkov, V., Shefer, L., Rodionova, N. et al (1987) Bioluminescent method of determination of NAD(P)H dehydrogenase activity. *Appl Biochem Biotech* 23:270-274.
- Rimatskaia, N., Baigina, E., Kazanceva, M., et al (2014) Application of bioluminescent enzymatic method for assessment of the state of the soil. *Luminescence* 29:66-67.
- Rimatskaya, N.V., Nemtseva, E.V., Kratasyuk, V.A. (2012) Bioluminescent assays for monitoring of air pollution. *Luminescence* 27:154.
- Shimomura, O. (2006) *Bioluminescence: chemical principles and methods.* World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, Singapore.
- Shishatskaya, E.I., Esimbekova, E.N., Volova, T.G. et al (2002) Hygienic assessment of polyhydroxyalkanoates—natural polyethers of new generation. *Gigiena Sanitaria* 4:59-63.
- Vetrova, E., Esimbekova, E., Rimmel, N. et al (2007) A bioluminescent signal system: detection of chemical toxicants in water. *Luminescence* 22:206-214.

### Acknowledgements

The research was supported by the Russian Science Foundation, project No 16-14-10115.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, РАСТВОРИМЫХ В ВОДЕ

Кувичкина Т.Н., Решетиллов А.Н.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; kuv@ibpm.pushchino.ru

### Аннотация

Взаимодействие некоторых ксенобиотиков (в частности, алифатических и моноароматических соединений) с аэробными микроорганизмами приводит к изменению их дыхательной активности, обусловленной, в том числе, окислением соединения оксидоредуктазами микроорганизма с потреблением молекулярного кислорода. Это свойство аэробных микроорганизмов может быть использовано в аналитических целях. Биосенсорный, а именно, амперометрический подход, используемый нами, основан на регистрации потреблённого кислорода микроорганизмами, окисляющими субстрат. Целью работы являлось использование иммобилизованных аэробных микроорганизмов для создания моделей биосенсоров для определения низкомолекулярных органических соединений растворимых в воде, а именно: алифатических метилированных аминов (метиламина, диметиламина, триметиламина) и моноароматического соединения динатриевой соли орто-фталевой (бензол-1,2-дикарбоновой) кислоты. Оценка содержания соединения при использовании микроорганизма, не является высокоспецифической, однако может быть применена для решения ряда аналитических задач. Микроорганизмы выращивали при глубинном культивировании в колбах на качалке. Биомассу отделяли, промывали буфером, иммобилизовали методом физической адсорбции. Биорецептор фиксировали на кислородном электроде, который служил преобразователем биохимического сигнала в электрический. Разработаны модели биосенсоров, в которых подобраны пары "микроорганизм - вещество". Однако обнаружено, что некоторые соединения могут окисляться различными микроорганизмами. Так, при помощи биосенсорного подхода показано, что метиламин может окисляться метилотрофными бактериями такими как *Methylobacterium extorquens* ВКМ В-206, *Paracoccus kondratievae* ВКМ В-2222 и *Methylophila musalis* ВКМ В-2646 [1, 2], а динатриевая соль орто-фталевой (бензол-1,2-дикарбоновой) кислоты бактериями *Glucanobacter oxydans* 9.4 и актинобактериями *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2631 Д [3, 4]. Изучение взаимодействия вещество-микроорганизм может быть полезно как для оценки содержания соединения в водной среде, так и для изучения свойств микроорганизма.

**Ключевые слова:** иммобилизация, метилотрофные бактерии, актинобактерии, глюконобактер, амперометрический биосенсор, метиламин, орто-фталат

### Цитируемая литература

1. Кувичкина Т.Н., Решетиллов А.Н., Полякова А.В., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А. Биосенсор для определения метиламина, диметиламина и триметиламина в водной среде. // Бюллетень изобретений полезных моделей. 2013. № 28. Патент РФ на полезную модель № 133126. Зарегистрирован 21.06.2013. Заявка № 2013128380.
2. Кувичкина Т. Н., Капаруллина Е.Н., Решетиллов А. Н. Окисление метиламина иммобилизованными метилотрофными бактериями *Methylophila musalis* ВКМ В-2646 // Евразийский союз учёных (ЕСУ) г. Москва. 2015. Ч. 7. №5 (14). С.21-23.

3. Кувичкина Т.Н., Будина Д.В., Олькова А.С., Плотникова Е.Г., Макаренко А.А., Решетилов А.Н. Биосенсор для определения динатриевой соли ортофталата в водной среде // Бюллетень изобретений полезных моделей. 10.11.2015. № 31. Патент РФ на полезную модель № 156546. Заявка № 2015125211/04. Зарегистрирован 26.06.2015.
4. Кувичкина Т.Н., Будина Д.В., Решетилов А.Н. Окислительная деградация орто-фталата иммобилизованными клетками *Rhodococcus* и *Gluconobacter* // Международный Научный Институт "Educatio" г. Новосибирск 2015. Часть 4 № 5 (12). С. 38-41.

### Благодарности

Авторы благодарят Плотникова Е.Г. за возможность работы со штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2631 Д.

## USE OF IMMOBILIZED AEROBIC MICROORGANISMS FOR DETERMINING SOME LOW MOLECULAR ORGANIC COMPOUNDS SOLUBLE IN WATER

**Kuvichkina T.N., Reshetilov A.N.**

The amperometric microbial sensors on the base of aerobic microorganisms for detection of methylamine, monoaromatic compound ortho-phthalate have been developed. It is shown that the immobilized cells the strains of methylbacteria *Methylobacterium extorquens* VKM B-206, *Paracoccus kondratievae* VKM B-2222, *Methylophila musalis* VKM B-2646 can form the basis of the receptor of an amperometric biosensor for methylamine detection. Enzymatic oxidative degradation of ortho-phthalate has been investigated using immobilized cells *Rhodococcus wratislaviensis* VKM Ас-2631D and *Gluconobacter oxydans* 9.4.

## PCDD/F LEVELS IN FREE RANGE CHICKEN EGGS FROM NORTH AND SOUTH OF VIETNAM

**Kudryavtseva A.D., Shelepchikov A.A., Brodsky E.S.**

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia, a.kudryavtseva1@gmail.com

### Annotation

This study concerns free range chicken eggs contamination with dioxins in Vietnam. In 2010 and 2011 years the study covered 10 provinces in southern and northern parts of Vietnam with a total of 22 pooled egg samples. PCDD/F levels ranged from 0.4 to 108 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid. In 2013 62 individual eggs from 14 sites in southern part of Vietnam were analyzed. Almost all samples from southern part of Vietnam exceeded the EC limit for eggs and egg products 2.5 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid, while none from the northern part did. Mean dioxin concentrations ranged from 1.3 to 361 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid. The highest concentration of 490 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid was observed in Buu Long near the Bien Hoa airport, which is the second highest concentration ever reported in free range chicken eggs.

**Keywords:** dioxin contamination, eggs, monitoring, PCDD/F

### Introduction

Being lipophilic and persistent in the environment PCDD/F are able to bio-accumulate intensively (Focant et al, 2008). Poultry eggs (particularly chicken eggs) are widely used as bio-indicators of dioxin contamination and for human health risk assessment, for they are common food item, their sampling and transportation is relatively easy compared to most other biological samples (such as blood, breast milk, meat), and their fat content is appropriate for dioxin analysis. Moreover, free-range hens can easily access and ingest soil particles and soil organisms, and therefore reflect environmental levels (Chang et al., 1989, Di Gangi and Petrlik, 2005). Other pathways of soil related exposure in chickens are: inhalation of dust and skin contact (Schuler et al., 1997). In addition, it was shown

that congener profiles seen in chicken eggs (as well as in liver tissue) more nearly approximate the profiles of exposure than profiles seen in adipose (Chang et al., 1989). The uptake of contaminants in soil and its carry-over to eggs depend on several factors, such as the concentration of the contaminant in the soil, bioavailability, metabolic stability, flock size, foraging behavior, time spent outdoors, and accessibility of feed (Schuler et al., 1997, De Vries et al., 2006, Kijlstra et al., 2007). Hens foraging on soil contaminated with PCDD/Fs, even at low levels (ppt), can accumulate these compounds to an unacceptable concentration.

Chicken meat and eggs are an important source of animal fat and proteins for Vietnamese. Large territories in the southern part of Vietnam were subjected to Agent Orange (AO) spraying, while northern territories were not. It is also worth-mentioning that northern part of Vietnam is generally less industrialized than southern, what can also impact dioxin levels found in chicken eggs.

The aim of the present study was to assess current contamination of free-range chicken eggs by PCDD/F in different Vietnam provinces. As a preliminary study two expeditions were organized in 2010 and 2011 to southern and northern provinces of Vietnam respectively. Only pooled samples were analyzed. As obtained results showed higher concentrations in southern part of Vietnam (Kudryavtseva et al., 2013) it was decided to conduct more thorough research in the area, this time analyzing individual eggs instead of pooled samples, in order to obtain more detailed information on PCDD/F levels in eggs, their range and variation within separate housings.

### **Methods and materials**

Egg samples were collected at common Vietnamese private housings, where people live and rear animals for their own use or sometimes for sell. Also, burning trash in their backyards is very common. In 2010 chicken eggs were collected from private housings in Lao Cai province in the northern part of Vietnam and in the following provinces in southern part of Vietnam: Dong Nai, Binh Thuan, Ninh Thuan, Khanh Hoa, Dak Nong and Kon Tum. In 2011 4 provinces in northern part of Vietnam were covered: Lao Cai, Yen Bai, Phu Tho and Vinh Phuc. A total of 24 chicken egg samples consisting of 2-6 individual eggs were analyzed. In 2013 sampling was carried out only in the southern part of Vietnam (Dong Nai, Binh Thuan, Ninh Thuan, Khanh Hoa provinces). A total of 62 individual eggs from 14 private housings (3 to 5 eggs from each site depending on availability) were sampled and analyzed separately. Due to the lack of eggs in several housings it was not always possible in 2013 to obtain samples from exactly the same housings as in 2010. In such cases samples were obtained in the closest available housing. To our knowledge, the housings were not located in the vicinity of any special dioxin source (except for the sites near the Bien Hoa airport).

After sampling all eggs were hard boiled and frozen. Prior to extraction samples were spiked with a mixture of  $^{13}\text{C}_{12}$ -labelled standards. Two extraction methods were used: pressurized liquid extraction(1:1Hexane:Ethanol) for freeze-dried samples (Klyuev et al., 2003) and  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  salting-out extraction for wet samples (Shelephikov et al., 2008). Clean-up procedure consisted of three steps: activated carbon column (AX-21), multi-layer column and aluminum oxide column (Klyuev et al., 2003). Following purification recovery standards were added. Extracts were then analyzed for 17 2,3,7,8-substituted PCDD/F using HRGC-HRMS method. Lipid content was determined gravimetrically.

Calculation of total TEQ was based on WHO-TEF<sub>2005</sub> (Van den Berg et al., 2006) and on WHO-TEF<sub>1998</sub> (Van den Berg et al., 1998) for comparison with other studies. In case of

egg samples for values below the limit of detection (LOD) the respective LODs were used.

## Results

To assess background levels of dioxin contamination eggs from private housings in Sa Pa district Lao Cai province were chosen, for this district is located in mountainous area away from main traffic arteries and other evident dioxin sources. Mean value was 0.67 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub> g<sup>-1</sup>lipid (0.74 WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup> lipid), which is relatively similar to the levels observed in free-range eggs from Greece and Ireland (0.37 and 0.47 pg WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup>lipid respectively) (Leondiadis et al., 2008; Trustos et al., 2004). For comparison, in the IPEN study the range from 0.2 to 1.2 pg WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup> lipid was used as background level (Di Gangi and Petrlik, 2005).

In the southern part of Vietnam PCDD/F concentrations in chicken egg samples at 9 sites out of 14 exceeded the current EC limit for eggs and egg products (2.5 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub> g<sup>-1</sup> lipid (EC, 2011)). Whereas all samples from the northern part of Vietnam were below this value. It should be noted that 2,3,7,8-TCDD contribution to the total toxicity in southern samples was generally higher than in northern samples. In 2013 elevated dioxin concentrations in home-produced eggs in southern part of Vietnam were confirmed – mean PCDD/F concentrations in eggs from 12 sites out of 14 were higher than EC limit.

To characterize Bien Hoa hot spot (location of a large US Air Force base and Agent Orange storage during the Vietnam War) eggs were collected in a private housing in Buu Long district (to the west of the airbase). PCDD/F concentration was 107.6 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub> g<sup>-1</sup> lipid (108.4 g WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup> lipid, 104 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> lipid), which is actually among the highest dioxin concentrations ever reported in chicken eggs (713 pg WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup>lipid, 514 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> lipid, 126 and 122 pg WHO-TEQ<sub>1998</sub> g<sup>-1</sup> lipid in Belgium (Larebeke et al., 2001), Germany (Malisch et al., 1996), Egypt (Di Gangi and Petrlik, 2005) and France (Pirard et al., 2004) respectively). However, it is worth mentioning that unlike other cases the Belgian "dioxin incident" occurred in not free range farms. As this housing had stopped existing by the time of our next expedition, in 2013 samples were collected in another housing in Buu Long district and in a housing in Tan Phong district (to the east of the airbase). Mean concentration found in Buu Long was 361 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub>g<sup>-1</sup> lipid (355 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> lipid) with min 302 and max 490 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub>g<sup>-1</sup> lipid. Concentrations in eggs from housing in Tan Phong ranged from 9.0 to 14.5 (mean value 11.1). 2,3,7,8-TCDD contribution to total TEQ amounted to 84.5 %, which is in line with a study of Hoang et al. (2014) in the same area (TCDD accounted for 61-96% of the total TEQ). Another dominant contributor was 1,2,3,7,8-PeCDD (8.4 %), while contributions of other congeners were lower than 2 % of the total TEQ.

Second highest concentration was found in housing in Ma Da logging site (16.3 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub> g<sup>-1</sup>lipid), with 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD and 2,3,4,7,8-PeCDF being dominant contributors to TEQ (59%, 21% and 6% respectively). Because of such a high level and 2,3,7,8-TCDD domination it was decided to collect samples from one more

housing in this area in 2013. Although TEQ values in both housings in 2013 were lower than in 2010 (6.7. and 4.0 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub>g<sup>-1</sup>lipid), their profiles were quite identical. Only profiles of the samples from the 2nd housing were characterized by somewhat less contribution of 2,3,7,8-TCDD - about 40 %. It should be mentioned that Ma Da territory was subjected to AO spraying during the Vietnam war.

Total TEQs from other sites in southern part in 2010 ranged from 0.8 in Dak Nong province to 8.0 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub>g<sup>-1</sup> lipid in Vinh An, Vinh Cuu district, Dong Nai province. In 2013 somewhat higher levels were observed in Vinh An: mean 10.6 (range 5.7-16.8). In Tan Binh, another site in Vinh Cuu district, TEQs ranged from 3.3 to 7.9. For comparison in the study of Hoang et al. (2014), total TEQs in chicken eggs from Vinh Cuu district ranged from 3.3 to 9.7 pg WHO-TEQ<sub>2005</sub>g<sup>-1</sup> lipid.

Among the sites investigated in 2013 9 sites were the same or closely located to those investigated in 2010. It cannot be stated whether PCDD/F concentration had significantly changed over 3 years, taking account of different sampling strategies. However congener patterns were in most cases quite similar in both studies. Rather different profiles were observed only in case of Vinh An, Dong Nai province (although samples were obtained from the same housing). In eggs sampled in 2010 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD and 2,3,4,7,8-PeCDF made the main contribution with 45 %, 24 % and 12.5 % respectively. Whereas in eggs sampled in 2013 their values were 22 %, 31 % and 9.5 % respectively and 1,2,3,4,7,8-HxCDD was also one of dominant contributors with 17.5 % of total TEQ.

Almost all other samples TEQs were dominated mostly by 1,2,3,7,8-PeCDD and 2,3,4,7,8-PeCDF. For comparison, a profile found in free-range eggs from a polish farm was dominated by 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDD and 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (J.Piskorska-Pliszczynska et al., 2014).

In all samples OCDD made the main contribution to the total PCDD/F concentration (24-88%), which is in line with other studies (Pussemier et al., 2004, Van Overmeire et al., 2009; Rawn et al., 2012, J. Piskorska-Pliszczynska et al., 2014). However, its contribution to the total toxicity did not exceed 1.5 %. In samples, collected in 2013, the fact of OCDD domination in total PCDD/F concentration (pg g<sup>-1</sup> lipid) was confirmed in all sites except for the housing in Buu Long, Bien Hoa (Bien Hoa airbase hot spot) and one sample in Ham Tan, Binh Thuan, where 2,3,7,8-TCDD made the main contribution.

As for range of concentrations in individual eggs within a separate housing, relative standard deviations of total TEQ ranged from 6 to 53 % (mean 30.5 %). Differences in the contents may be explained by peculiarities of the hens as well as unevenly distributed dioxins in the top soil layer (J.Piskorska-Pliszczynska et al., 2014).

## Conclusion

Dioxin levels in chicken eggs in the southern part of Vietnam are generally higher than in the northern part. 2,3,7,8-TCDD contribution in a number of southern sites is substantially higher than normally observed in background and industrially contaminated areas. As TEQs in egg samples from majority of investigated housings in southern part of Vietnam exceeded the EC limit it is not advised to use them as a foodsource. Range of concentrations in individual eggs within a separate housing is relatively small, thus a pooled sample can provide a sufficiently precise characteristic of contamination.



## Reference

- Brodsky E.S., Shelepchikov A.A., Feshin D.B., Roumak V.S., Umnova N.V., Kuznetsov A.N., Trin Khak Sau, Ngien Xuan Truong, Pavlov D.S. The Current Level of Dioxin Pollution in the Area of Large Scale Spraying of Agent Orange in Vietnam *Doklady Biological Sciences*, 2009, 429 526-530
- Chang R., Hayward D., Goldman L., Harnly M., Flattery J., Stephens R. Foraging farm animals as biomonitors for dioxin contamination. *Chemosphere* 1989; 19(1-6):481-86
- De Vries M., Kwakkel R.P., Kijlstra A. Dioxins in organic eggs: a review *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* Volume 54, Issue 2, 2006, Pages 207–221
- DiGangi J., Petrlik J. The Egg Report. Contamination of chicken eggs from 17 countries by dioxins, PCB and hexachlorobenzene, 2005 – IPEN. EC, 2011.
- Commission Regulation (EC) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and nondioxin-like PCBs in food stuffs. Official Journal of the European Union. L320, pp. 18–23.
- Feshin D.B., Shelepchikov A.A., Brodskii E.S., Kalinkevich G.A., Mir-Kadyrova E.Ya., Rumak V.S., Pavlov D.S. Current Levels of PCDDs and PCDFs in the Placenta and Breast Milk of the Population of Vietnam. *Doklady Biological Sciences*, 2008 423, 443-446
- Focant J.-F., Eppe G., De Pauw E. Analytical measurement and levels of dioxins and PCBs in biological samples. *Impact of Pollution on Animal Products* 2008:17-39.
- Hoang Thu T., Traag Wim A., Murk Alber Tinka J., Hoogenboom Ron L.A.P. Levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans (PCDD/Fs) and dioxin-like PCBs in free range eggs from Vietnam, including potential health risks. *Chemosphere* Volume 114, November 2014, Pages 268–274
- Kijlstra A, Traag W.A., Hoogenboom L.A.P. Effect of flock size on dioxin levels in eggs from chickens kept outside. *Poult Sci.* 2007 Sep;86(9):2042-8.
- Klyuev N.A., Shelepchikov A.A., Soifer V.S., Brodskii E.S. A Method of Flow Solvent Extraction from Solid Substances. *J. Anal. Chem* 2003;58(7):629-630.
- Kudryavtseva A.D., Shelepchikov A.A., Brodsky E.S. Dioxin levels in poultry eggs in Vietnam. *Organohalogen Compounds* Vol. 75, 1028-1031 (2013)
- Larebeke, N. van, Hens, L., Schepens, P., Covaci, A., Baeyens, J., Everaert, K., Bernheim, J. L., Vlietinck, R., Poorter, G. De. The Belgian PCB and dioxin incident of January–June 1999: exposure data and potential impact on health. *Environ Health Perspect* 2001;109(3):265-73.
- Leondiadis L., Costopoulou D., Vassiliadou I., Papadopoulos A. Monitoring of dioxins and dioxin-like PCBs in food, feed, and biological samples in Greece. *Fate POPs Environ* 2008;83–98.
- Malisch, R., Schmid, P., Frommberger, R., Fuerst, P. Results of a quality control study of different analytical methods for determination of PCDD/PCDF in eggs samples. *Chemosphere* 1996;32(1):31-44.
- Pavlov D.S., Shelepchikov A. A., Brodskii E.S., Feshin D.B., Rumak V.S., Zhil'nikov V.G. Formation of Octachlorodibenzo-p-dioxin in Tropical Ecosystems *Doklady Chemistry*, 2007, 415(2) 189-192
- Pavlov D.S., Klyuev N.A., Shelepchikov A.A., Feshin D.B., Brodskii E.S., Rumak V.S. Vertical Distribution of Polychlorinated Dibenzop-dioxins and Dibenzofurans in Vietnam Soils *Doklady Earth Sciences*, 2005 402(4) 607-609
- Pirard C., Focant J.-F., Massart A.-C., De Pauw E. Assessment of the impact of an old MSWI. Part 1: Level of PCDD/Fs and PCBs in surrounding soils and eggs. *Organohalogen Compounds* 2004;66: 2085-90.
- Piskorska-Pliszczynska J., Mikolajczyk S., Warenik-Bany M., Maszewski S., Strucinski P. Soil as a source of dioxin contamination in eggs from free-range hens on a Polish farm. *Sci Tot Environ* 2014;466-467:447-54
- Pussemier L., Mohimont L., Huyghebaert A., Goeyens L. Enhanced levels of dioxins in eggs from free range hens; a fast evaluation approach. *Talanta* 2004;63:1273-6
- Rawn D.F.K., Sadler A.R., Quade S. C., Sun W-F., Kosarac I., Hayward S., Ryan J.J. The impact of production type and region on polychlorinated biphenyl (PCB), polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran (PCDD/F) concentrations in Canadian chicken egg yolks. *Chemosphere* 2012;89 (8):929-35.
- Schuler F., Schmid P., Schlatter Ch. The transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from soil into eggs of foraging chicken. *Chemosphere* 1997;34(4):711-8
- Shelepchikov A.A., Shenderyuk V.V., Brodsky E.S., Feshin D., Baholdina L.P., Gorogankin S.K. Contamination of Russian Baltic fish by polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like biphenyls. *Environ Toxicol Pharm* 2008;25:136-43.
- Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T.C., Brunstrom B., Cook P., Feeley M., Giesy J.P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S.W., Kubiak T., Larsen J.C., van Leeuwen F.X.R., Liem A.K.D., Nolt C., Peterson R.E., Poellinger L.S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Warn F., Zacharewski T. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 1998;106:775-92.
- Van den Berg M., Birnbaum, L.S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R.E. The 2005 World Health Organization re-evaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006;93:223–41.
- Van Overmeire I., Waegeneers N., Sioen I., Bilau M., De Henauf S., Goeyens L., Pussemier L., Eppe G. PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in home-produced eggs from Belgium: levels, contamination sources and health risks. *Sci Tot Environ* 2009;407:4419-29.

## PCDD/F LEVELS IN FREE RANGE CHICKEN EGGS FROM NORTH AND SOUTH OF VIETNAM

Kudryavtseva A.D., Shelepchikov A.A., Brodsky E.S.

This study concerns free range chicken eggs contamination with dioxins in Vietnam. In 2010 and 2011 years the study covered 10 provinces in southern and northern parts of Vietnam with a total of 22 pooled egg samples. PCDD/F levels ranged from 0.4 to 108 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid. In 2013 62 individual eggs from 14 sites in southern part of Vietnam were analyzed. Almost all samples from southern part of Vietnam exceeded the EC limit for eggs and egg products 2.5 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid, while none from the northern part did. Mean dioxin concentrations ranged from 1.3 to 361 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid. The highest concentration of 490 pg WHO-TEQ2005 g-1 lipid was observed in Buu Long near the Bien Hoa airport, which is the second highest concentration ever reported in free range chicken eggs.

## ГОРМЕЗИС КАК НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ В ТОКСИКОЛОГИИ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ МОНИТОРИНГА РАДИАЦИОННОЙ ТОКСИЧНОСТИ С ПОМОЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МОРСКИХ БАКТЕРИЙ

Кудряшева Н.С.<sup>1</sup>, Рожко Т.В.<sup>2</sup>, Петрова А.С.<sup>1</sup>, Гусейнов О.А.<sup>2</sup>, Захватаев В.Е.<sup>2</sup>,  
Хлебопорец Р.Г.<sup>2</sup>, Бадун Г.А.<sup>3</sup>, Разживина И.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>КНЦ СО РАН, Институт биофизики; Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия; n\_qdr@yahoo.com

<sup>2</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия;

<sup>3</sup>МГУ, Москва, Россия

### Аннотация

Результаты исследований эффектов низкодозовой радиации на биотестовую систему (люминесцентные бактерии) обсуждается в терминах новой концепции - радиационного гормезиса. Продемонстрировано отсутствие линейной зависимости доза-эффект при низкодозовых воздействиях на бактерии. В кинетике биолюминесценции бактерий в растворах альфа- и бета-излучающих радионуклидов (соответственно америций-241 и тритий) выделено три стадии: 1 – отсутствие эффекта (или распознавание стресс-фактора), 2 – активация (или адаптивная реакция) и (3) – ингибирование (подавление физиологической функции или радиационная токсичность). Такой отклик приписан явлению радиационного гормезиса. Рассмотрена роль активных форм кислорода (вторичных продуктов радиационного распада в водных растворах) и ионизации среды в процессах активации и ингибирования биолюминесценции радионуклидами. С использованием пленок, меченных тритием, т.е. в условиях, препятствующих проникновению радионуклида в клетки, продемонстрирована роль мембранных процессов в низкодозовых воздействиях на бактерии. Не обнаружены мутации в бактериальной ДНК в условиях хронической низкодозовой нагрузки под действием излучения альфа-, бета-, гамма- типов. На основе анализа результатов воздействия альфа- и бета-излучающих радионуклидов предложено использовать время воздействия, при котором стадия активации переходит в стадию ингибирования, в качестве кинетического параметра биолюминесценции, определяющего радиотоксичность растворов.

**Ключевые слова:** гормезис, низкодозовая радиация, растворы радионуклидов, радиотоксичность

### Введение

Линейные и/или пороговые зависимости доза-эффект являются общепринятыми моделями в токсикологии. В последние десятилетия развивается новая концепция, которая описывается термином «гормезис». Эта концепция предполагает нелиней-

ную зависимость доза-эффект, включающую активацию физиологических функций при низких дозах и ингибирование – при высоких [1]. С 80-х годов идет экспоненциальный рост цитирования термина «гормезис»/«горметик» [2]. Широко обсуждаются механизмы гормезиса [2-4] и проблемы использования этой концепции при оценке экологических рисков [4].

Исследуемые нами процессы низкодозового воздействия радионуклидов на биотестовую систему (морские одноклеточные микроорганизмы, люминесцентные бактерии) [5-11] укладываются в рамки концепции гормезиса.

Люминесцентные морские бактерии уже несколько десятилетий используются в качестве клеточного биотеста для оценки токсичности водных растворов. Тестовым параметром физиологической активности бактерий является интенсивность биолюминесценции. Благодаря простоте и высокой скорости анализа, бактерии являются удобным объектом для изучения биологического действия низкоинтенсивных факторов окружающей среды, в частности, низкодозовой радиации, т.к. обеспечивают проведение большого числа анализов в сопоставимых условиях и, следовательно, достоверность статистической обработки.

### Материалы и методы

Для изучения биологического отклика на радиоактивное воздействие использовали лиофилизированный препарат и интактные бактерии *Photobacterium phosphoreum*. Изучено воздействие излучения различного типа (альфа, бета, гамма) в условиях хронической низкодозовой нагрузки ( $< 0.1$  Гр) при варьировании интенсивности и времени облучения. Исследованы биологические эффекты таких радионуклидов, как америций-241, уран-235+238, тритий. Для оценки механизмов этих воздействий использован комплекс кинетических, биохимических, микроскопических, генетических и радиометрических методов. Для оценки мутагенности излучения использованы методы секвенирования и рестрикционного анализа.

### Результаты

Продемонстрировано отсутствие линейной зависимости доза-эффект при низкодозовых воздействиях на бактерии. В кинетике биолюминесценции бактерий в растворах альфа- и бета-излучающих радионуклидов (соответственно америций-241 и тритий) выделено три стадии: 1 – отсутствие эффекта (или распознавание стресс-фактора), 2 – активация (или адаптивная реакция) и (3) – ингибирование (подавление физиологической функции или радиационная токсичность). Такой отклик приписан явлению радиационного гормезиса. На рисунке 1 в качестве примера представлена кинетика биолюминесценции бактерий в присутствии бета-излучающего радионуклида трития в составе тритиевой воды.

Рассмотрена роль активных форм кислорода (вторичных продуктов радиационного распада в водных растворах) и ионизации среды в процессах активации и ингибирования биолюминесценции радионуклидами. С использованием пленок, меченных тритием, т.е. в условиях, препятствующих проникновению радионуклида в клетки, продемонстрирована роль мембранных процессов в низкодозовых воздействиях на бактерии.

Для растворов альфа- и бета-излучающих радионуклидов, а также гамма-радиации продемонстрирована зависимость биологического эффекта от времени радиационного воздействия и отсутствие зависимости от удельной радиоактивности раствора (или мощности дозы). Не выявлено активации при низкодозовом гамма-воздействии.

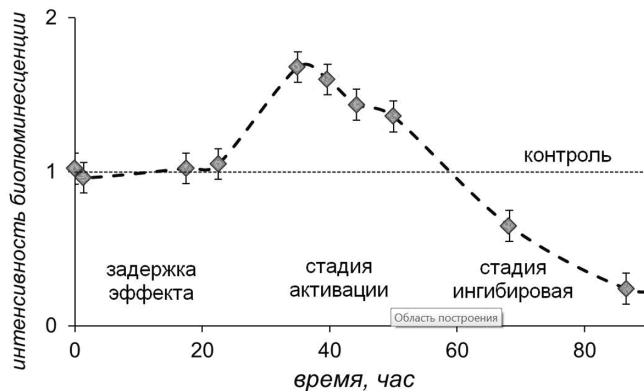


Рисунок 1. Иллюстрация радиационного гормезиса в присутствии бета-излучающего радионуклида трития в составе тритиевой воды. Удельная радиоактивность раствора 2 МБк/л.

Не обнаружены мутации в бактериальной ДНК в условиях хронической низкодозовой нагрузки под действием излучения альфа-, бета-, гамма- типов. Сделан вывод, что эффекты низкодозовой радиации могут быть рассмотрены в рамках нового направления, экспозомики, которая, в дополнение к геномике, рассматривает негенетическое влияние внешних условий на организмы и их структурные компоненты. В частности, для клеточных систем актуально рассмотрение эффективности трансмембранных, ферментативных и др. процессов.

### Заключение

Таким образом, показано, что результаты хронического воздействия радионуклидов на люминесцентный бактериальный биотест согласуются с моделью радиационного гормезиса, т.е. включают стадию активации и стадию ингибирования люминесцентной функции бактерий.

На основе анализа результатов воздействия альфа- и бета-излучающих радионуклидов предложено использовать время воздействия, при котором стадия активации переходит в стадию ингибирования (Рис.1), в качестве кинетического параметра биолюминесценции, определяющего радиотоксичность растворов.

### Цитируемая литература

1. Calabrese E.J., Baldwin L.A. Toxicology rethinks its central belief. *Nature*. 2003. 421, 691-692.
2. Calabrese E.J. Hormetic mechanisms. *Crit. Rev. Toxicol.* 2013, 43, 580-606.
3. Burlakova, E.B., Kudryasheva, N.S., Tarasova, A.S., Pollutant toxicity and detoxification by humic substances: mechanisms and quantitative assessment via luminescent biomonitoring. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015, 22, 155-167. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3459-6>.
4. J. Shi1, M. Huber, T. Wang, W Dali, Z. Lin, Yin Chun-Sheng. Progress in the studies on hormesis of low-dose pollutants. *Environmental Disease*. 2016, 1, 58-64.
5. Kudryasheva, N.S., Rozhko, T.V. Effect of low-dose ionizing radiation on luminous marine bacteria: radiation hormesis and toxicity. *J. Environ. Radioact.* 2015, 142, 68–77.
6. Alexandrova, M., Rozhko, T., Vydryakova, G., Kudryasheva, N. Effect of Americium-241 on Luminous Bacteria. Role of Peroxides. *J. Environ. Radioact.* 2011, 102, 407–411.
7. Rozhko, T.V., Badun, G.A., Razzhivina, I.A., Guseynov, O.A., Guseynova, V.E., Kudryasheva, N.S. On mechanism of biological activation by tritium. *J. Environ. Radioact.* 2016. 157, 131–135. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2016.03.017
8. Rozhko, T.V., Bondareva, L.G., Mogilnaya, O.A., Vydryakova, G.A., Bol-sunovsky, A.Y., Stom, D.I., Kudryasheva, N.S. Detoxification of Am-241 solutions by humic substances: bioluminescent monitoring. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, 400, 329–333.
9. Rozhko, T.V., Kudryasheva, N.S., Kuznetsov, A.M., Vydryakova, G.A., Bondareva, L.G., Bolsunovsky, A.Y. Effect of low-level  $\alpha$ -radiation on bioluminescent assay systems of various complexity. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2007, 6, 67–70.

10. Selivanova, M.A., Rozhko, T.V., Devyatlovskaya, A.S., Kudryasheva, N.S. Comparison of chronic low-dose effects of alpha- and beta-emitting radionuclides on marine bacteria. *Cent. Eur. J. Biol.* 2014, 9, 951–959.
11. Selivanova, M.A., Mogilnaya, O.A., Badun, G.A., Vydryakova, G.A., Kuznetsov, A.M., Kudryasheva, N.S. Effect of tritium on luminous marine bacteria and enzyme reactions. *J. Environ. Radioact.* 2013, 120, 19–25.

### **Благодарности**

Работа выполнена при частичном финансировании за счет средств государственного задания на проведение фундаментальных исследований РАН (проект № 01201351504), средств гранта РФФИ № 16-34-00695

## **HORMESIS AS A NEW CONCEPT IN TOXICOLOGY. MONITORING OF RADIATION TOXICITY USING LUMINOUS MARINE BACTERIA**

**Kudryasheva N.S., Rozhko T.V., Petrova A.S., Zakhvataev V.A., Khlebopros R.G., Badun G.A., Razzhivina I.A.**

Luminous marine bacteria are highly sensitive to the presence of toxic compounds; this is a reason why they are applied as bioassays for several decades to monitor environmental toxicity. Tested physiological parameter here is bioluminescent intensity. The last decade has shown the bacteria-based bioluminescent assay to be a proper tool for monitoring biological effects of low-intensive environmental exposures. Simplicity and high rates of the assay procedure provide a possibility of simultaneous analyses of a lot of test-samples, resulting in a minimization of the main problem of low-dose measurements – a deficiency of reproducibility.

The paper develops a concept of hormesis involving adaptive reaction of organisms as a response to low-intensive environmental exposures. A series of studies of chronic low-dose effects on luminous bacteria in model radionuclide solutions are presented. Hormesis effects of alpha- and beta-emitting radionuclides (americium-241 and tritium) that include low-dose bioluminescence activation (adaptive response) and the bioluminescence inhibition (toxic effect), are under discussion. Role of reactive oxygen species, ionization of water media, changes in membrane processes, content and crystallinity of intracellular components, DNA-dependent processes are analyzed as constituents of low-dose adaptive response of bacterial cells. Time of bioluminescence inhibition is suggested to use as parameter for radiotoxicity evaluation in solutions.

## **НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ РАННЕГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ**

**Кузнецова Т.В., Холодкевич С.В.**

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия; kuznetsova\_tv@bk.ru

### **Аннотация**

Проблемы оценки токсичности водной среды по-прежнему остаются актуальными и до сих пор нерешенными. Как правило, негативные эффекты загрязнения раньше всего могут быть выявлены на организменном уровне, т.е. задолго до наступления серьезных изменений или даже деградации популяций, сообществ и нарушений экосистем. Среди интегральных показателей могут использоваться показатели работы сердечно-сосудистой системы (ЧСС, вариабельность сердечного ритма). Вариабельность сердечного ритма – надежный показатель ранних стадий ухудшения функционального состояния организма под влиянием факторов различного происхождения, модальности и интенсивности (Depledge et al., 1995; USA Protocols, Кузнецова и др., 2010). Мониторинг

этих показателей с помощью биосенсорных систем обеспечивает генерацию своевременного сигнала об опасном изменении токсичности воды. Однако использование таких систем имеет свои не решенные пока проблемы. Одна из них - это большая естественная вариабельность индикативных показателей загрязнения у беспозвоночных животных. Было отмечено (Кузнецова и др., 2010), что такая вариабельность ЧСС у раков и моллюсков одной размерно-весовой группы может достигать 40%, что может быть обусловлено их разным функциональным состоянием. Это существенно сказывается на результатах оценки качества вод как среды обитания этих гидробионтов, поэтому было предложено отбирать референтные (однородные по своему состоянию) группы животных с помощью функциональных нагрузочных тестов (Кузнецова, 2015). Сформированная группа животных демонстрирует сходные ответные реакции. Подход был апробирован в Системе биомониторинга качества природной воды на ГУП "Водоканал Санкт-Петербурга" и показал свою эффективность. Однако его использование в натурных *in situ* исследованиях осложняется тем, что мы лимитируем естественную вариабельность в изучаемой популяции животных. При оценке эффектов хронического загрязнения среды обитания на гидробионтов анализ времени восстановления измеряемых показателей после нагрузок (1ч изменение солености воды на 50%) дает возможность оценить состояние животных и определить два индикативных показателя – время восстановления ЧСС (Твосст) после снятия нагрузки и коэффициент вариации ЧСС (КВчсс) (Kuznetsova, Kholodkevich, 2015). Установлено, что эти показатели значительно различаются для животных, обитающих в разных по загрязнению акваториях: в относительно чистых акваториях Твосст и КВчсс были значительно ниже этих биомаркеров для загрязненных акваторий. Однако и здесь не все так просто. Для сравнения акваторий по предложенной процедуре тестирования и оценке состояния животных очень важно иметь базовые данные о норме реакции для наблюдаемых в референтной акватории видов животных. Необходимы исследования по каким критериям выбирать саму эту «референтную» акваторию. Для садковых исследований (когда животных в садках переносят из референтной акватории в локации загрязненные и экспонируют в течение 2-3-х месяцев с целью сравнения эффектов экспозиции) также важно, чтобы условия обитания сравниваемых групп животных из разных акваторий были сходными по солености, температуре, активной реакции среды (pH), растворенному кислороду, доступности пищи и некоторым другим абиотическим признакам. Не исключено, что в дальнейшем придется устанавливать отдельные стандарты референтных значений индикативных показателей для каждой водной системы (заливы, реки, озера, или даже для их частей).

**Ключевые слова:** биодиагностика, водные организмы, биосенсорные системы, функциональное состояние, функциональная нагрузка, референтная группа.

## **SOME PROBLEMS IN ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT OF AQUATIC SYSTEMS BASED ON EARLY WARNING BIOSENSOR SYSTEMS**

**Kuznetsova T.V., Kholodkevich S.V.**

Abstract deals with the unsolved problems of application of biological sensor systems for water quality control based on cardiac activity monitoring. Changes in heart rate and its variability are used as indicative parameters of dangerous changes in water quality. Application of such systems in water supplying stations and in environmental monitoring has some limitations and need future scientific studies including study of natural individual variations, development of methodological basement, working out of specific test load for evaluation of functional state of biosensor organism. The problems of usage of biosensor systems in active biomonitoring are also discussed.

# ХАРАКТЕРИСТИКА ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД г. ВЛАДИКАВКАЗА, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ФИТОИНДИКАЦИИ

Кусова Н.Х., Оказова З.П.

Чеченский государственный педагогический университет, Грозный, Россия; okazarina73@mail.ru

## Аннотация

Экологические системы крупных промышленных городов находятся под постоянным техногенным воздействием большого количества источников загрязнения. Цель работы – инвентаризация древесных пород г. Владикавказ, применяемых в фитоиндикационных исследованиях. Исследование проводилось на территории г. Владикавказ в период с 2012-2015 гг. Установлено, что на территории города произрастает большое количество древесных пород пригодных для фитоиндикационных исследований: тополь черный (*Populus nigra* L.), тополь пирамидальный (*Populus pyramidalis* L.), тополь дрожащий (*Populus pyramidalis* L.), тополь канадский (*Populus deltoides* L.), тополь белый (*Populus alba* L.), липа крупнолистная (*Tilia platyphyllos* L.), липа мелколистная (*Tilia cordata* L.), каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), клен остролистный (*Acer platanoides* L.), клен явор (*Acer pseudoplatanus* L.), ясень зеленый (*Fraxinus lanceolata* L.), ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior* L.), сосна Банкса (*Pinus banksiana* Lamb.), ель обыкновенная (*Picea abies* L.), туя западная (*Thuja occidentalis* L.). В ходе проведенного исследования можно сделать вывод, что среди древесных растений, используемых в целях фитоиндикации, во Владикавказе преобладают лиственные породы, которые составляют 91,5% (30286 шт.) от общего объема древесных пород.

**Ключевые слова:** древесные растения, лиственные породы, хвойные породы, фитоиндикация

## Введение

На современном этапе в большинстве крупных городов, промышленных центрах России и мира проводилось биогеохимическое и биоиндикационное изучение городской среды, которое имело достаточно узкое направление: исследовалась или концентрация тяжелых металлов или использовались фитоиндикационные методы, при этом изучения древесной растительности города на основании морфометрических показателей не проводилось [1, 6]. Цель работы – инвентаризация древесных пород г. Владикавказ, применяемых в фитоиндикационных исследованиях.

## Материалы и методы

Исследования проводились на территории города Владикавказ в период 2012-2015 гг.

## Результаты

**Тополь черный (осокарь)** Высота 30 метров, растет достаточно быстро. Крона раскидистая, ствол имеет диаметр до 2 метров. кора ствола бывает темно-серой, толстой, трещиноватой. Листья темно-зеленой окраски сверху, снизу они светлые, в период распускания отличаются слабой волосистостью. Характеризуется продолжительным вегетационным периодом. Засухоустойчивое растение.

**Тополь пирамидальный.** Светолюбивое, засухоустойчивое, морозостойкое, адаптируемое к повышенной загазованности среды растение. Требователен к обеспеченности почвы элементами питания. Растения достигают высоты 40 метров, продолжительность жизни – до 300 лет. Колонновидная крона. Диаметр ствола до 1 метра. Форма листьев широкотреугольная, расположение очередное, длина листовой пластины до 9 см, лист темно-зеленый сверху, блестящий, сизый снизу, мелкозубчатый по краю. Корешок короткий сплюснутый. Мощная корневая система. Произрастает вдоль дорог, интенсивно используется при озеленении парков [3].

Таблица 1 – Древесные растения улиц г. Владикавказ, используемые в фитоиндикации (2012-2015 гг.)

№	Название растения	Количество
1	Тополь черный ( <i>Populus nigra</i> L.)	189
2	Тополь пирамидальный ( <i>Populus pyramidalis</i> (L.))	377
3	Тополь дрожащий ( <i>Populus pyramidalis</i> (L.))	13
4	Тополь канадский ( <i>Populus deltoides</i> (L.))	1421
5	Тополь белый ( <i>Populus alba</i> (L.))	107
6	Липа крупнолистная ( <i>Tilia platyphyllos</i> (L.))	1710
7	Липа мелколистная ( <i>Tilia cordata</i> (L.))	10820
8	Каштан конский обыкновенный ( <i>Aesculus ippocastanum</i> (L.))	4234
9	Клен остролистный ( <i>Acer platanoides</i> (L.))	1267
10	Клен явор ( <i>Acer pseudoplatanus</i> (L.))	3518
11	Ясень зеленый ( <i>Fraxinus lanceolata</i> (L.))	3561
12	Ясень обыкновенный ( <i>Fraxinus excelsior</i> (L.))	3069
13	Сосна Банкса ( <i>Pinus banksiana</i> Lamb.))	315
14	Ель обыкновенная ( <i>Picea abies</i> (L.))	309
15.	Туя западная ( <i>Thuja occidentalis</i> (L.))	2179
Всего		33089

**Тополь дрожащий (осина).** Высота до 20 метров. Кора серая, гладкая. Расположение листьев очередное, форма округлая или округло-ромбическая, длина и ширина листовой пластины 3-7 см, листья голые, сверху зеленые, снизу сизоватые, имеющие по краю неровные крупные закругленные зубцы. Продолжительность жизни порядка 90 лет.

**Тополь канадский.** Высота – до 50 метров. диаметр ствола около 2 м. Листопадное дерево. Имеет широкояйцевидную или широкопирамидальную крону. Форма листьев округло-треугольная, заостренная, при основании лист прямосрезанный или ширококлиновидный, край железисто-зубчатый, с обеих сторон почти одного цвета, голые. Лист имеет сильно сплюснутый черешок, красноватого цвета. При условии достаточного увлажнения дерево нормально растет и развивается и в тени [5].

**Тополь белый.** Дерево достигает высоты 30 метров, ствол толстый, крона широкая, округлая. Кора на стволе гладкая, сероватая, у основания ствола черная трещиноватая. Побеги серовато-белого цвета, опушенные. Лист пятилопастный, беловатого оттенка снизу. Размножение осуществляется корневыми отпрысками. Теплолюбивое, светолюбивое растение, предъявляет повышенные требования к обеспеченности влагой и элементами питания. Корневая система мощная. Дает мягкую древесину. В городском дизайне ценится его пирамидальная форма.

**Липа крупнолистная.** Липа крупнолистная является широко распространенной по всей территории России. Продолжительность жизни, порядка 600 лет. Морозостойчива, засухоустойчива. Растение, широко применяемое в парковой архитектуре, возделываемое с целью создания аллей, живой изгороди и других элементов ландшафтного дизайна. Крона дерева формирует плотную тень. Высота до 40 метров, широкопирамидальная крона имеет диаметр 25 метров. Листья крупные, побеги



опушенные, малинового цвета. Листья искривлено-сердцевидной формы, опушены снизу, имеют размер около 15 см. Длина черешка до 6 см.

**Липа мелколистная.** Липа мелколистная также широко распространена на территории России. Высота до 30 метров. Ствол прямой, диаметром до 2 метров, крона широкопирамидальная. Кора имеет темно-серую окраску с красноватым оттенком, поверхность гладкая. Листья среднего размера до 6 см, голые сверху, темно-зеленого-цвета, с нижней стороны отличаются сизоватым оттенком. Наибольшая чувствительность липы мелколистной к загрязняющим веществам отмечается во конце июня- начале июля и проявляется в виде хлорозов, некрозов, выпадении участков листа.

**Каштан конский обыкновенный.** Продолжительность жизни до 300 лет. Высота около 30 м, крона широкая, густооблиственная, ствол диаметром до 2 метров, кора серовато-бурая. Форма листьев сложная, черешки длинные, лист из 5-7 сидячих листочков разных размеров, они расходятся веерообразно. Лист сверху темно-зеленый, без опушения, снизу рыжеопушен [2, 4].

Размер каштана коричневого цвета 2 – 4 см. Во Владикавказе цветение происходит в середине мая. Каштан конский является высокодекоративным растением и широко применяется для озеленения городов в лесостепной зоне. Применяется для озеленения парков, скверов, садов. Взрослые особи переносят пересадку. Теневынослив. Предпочитает рыхлые, глубокие, умеренно влажные почвы. Плохо переносит чрезмерно влажные и соленые почвы. Зимостоек. Происходит повреждение молодых особей под воздействием пониженных температур. Использование в качестве биоиндикатора возможно благодаря высокой чувствительности к загрязняющим веществам.

**Клен остролистный.** Клен остролистный, листопадное дерево, крона широкая, густая, высотой до 30 м. Продолжительность жизни более 200 лет. Кора молодых деревьев красновато-серого цвета. Листья пятилопастные, размером до 18 см в диаметре. Сверху листья темно-зеленые, снизу окраска несколько светлее. Черешок длинный. Дерево способно удерживать загрязняющие вещества, в том числе тяжелые металлы и их соединения, пары бензола, что способствует улучшению экологической ситуации в городе. Клен остролистный распространен повсеместно.

**Клен явор.** Высота 35-40 метров в высоту, а его мощная раскидистая крона – 20-25 метров в диаметре. Клен явор растет достаточно быстро: на ранних этапах жизни дерево ежегодно способно прибавлять в высоту 80 см, а далее – 40-50 см. Продолжительность жизни 200-250 лет. Листья крупные – 10-15 см в длину и ширину, с 5-15-сантиметровым черешком, зубчатыми краями и матовой текстурой. Помимо своего декоративного предназначения клён явор часто выращивается ради износоустойчивой древесины. В естественной среде белый клен можно встретить в южной и центральной частях Европы, северной Турции и Кавказе. Клен явор очень требовательный к влаге и плодородию почвы, при этом почва должна быть слабокислая или нейтральная; дерево не переносит сухую или засоленную почву. Теплолюбивое растение.

**Ясень зеленый.** Ясень зеленый является мощным листопадным деревом, высота около 15 метров, крона широкоокруглая, светлая. Кора имеет темно-серый цвет с мелкими трещинами. Ветви высокоподнятые сероватые либо серовато-зеленые. Почка коричневого цвета. Расположение листьев супротивное, лист непарноперистый. Отличается стройным стволом, компактной кроной, блестящими листьями темно-зеленого цвета сверху, бледно-зелеными снизу. Дымо- и газо-устойчив, менее требователен к почве и более устойчив к городским условиям, чем другие виды ясеней. Широко используется в загородном озеленении. Зимостоек, засухоустойчив, неприхотлив к почве, плодоносит. Светолюбив.

**Ясень обыкновенный.** Теплолюбивое листопадное дерево, обитает преимущественно на Кавказе. Высота до 30 м. Ствол высокий, стройный. Ясень светолюбив. Расположение листьев супротивное, размер около 35 см. Корневая система ясеня зависит от условий произрастания. залегает близко к поверхности. Ясень — эстетичный элемент садово-парковых ансамблей — широко используется в ландшафтном дизайне. Он очень декоративен. Предпочитает солнечные места и дренированные плодородные почвы, не переносит повышенное увлажнение.

**Сосна Банкса.** Высота до 20 м, крона редкая, кора бурая, трещиноватая. Продолжительность жизни хвои 3-5 лет, длина 3,5-4,5 см.

Быстрорастущее дерево, рано стареет и теряет декоративность; к почве нетребовательна, может расти на песках; морозостойка. Ввиду малой декоративности в зеленых насаждениях городов высаживается редко. Рост характеризуется следующими показателями: в 5 лет 1,5-2,0; в 10 лет 4-4,8; в 20 лет 7-8 м.

**Ель обыкновенная.** Высота до 50 м. Крона - правильный узкий, острый конус, густая, плотная, пропускает мало света. Продолжительность жизни около 400-700 лет. Верхушка ели острая. Кора буровато-серая, часто шелушится. Ветви сгруппированы в мутовки. Хвоя игловидной формы, короткая, в сечении сплюснuto-четырёхгранной формы, темно-зеленого цвета, хвоинки в длину до 3 см, продолжительность жизни хвоинок до 12 лет. Ель теневынослива. Нижние ветки сохраняются. Корневая система горизонтальная. Чувствительна к поздневесенним заморозкам. Распространена повсеместно. Отрицательно отзывается на низкую влажность почвы и воздуха.

**Туя западная.** Медленно растущее вечнозеленое хвойное дерево с гладкой корой и оригинальной чешуевидной хвоей. Высота порядка 38 метров, компактная пирамидальная либо яйцевидная крона. Кора растения в основном гладкая и серая, в позднем возрасте может отслаиваться тонкими лентами, красноватого либо коричнево-серого цвета, гладкая, с возрастом становится трещиноватой, отслаивается тонкими пластинками.

### Заключение

Среди древесных растений, используемых в целях фитоиндикации, во Владикавказе преобладают лиственные породы, которые составляют 91,5% (30286 шт.) от общего объема древесных пород.

### Цитируемая литература

1. Ваниев А.Г., Салбиева М.Г. Декоративные породы в реконструкции зеленых насаждений г. Владикавказ // Известия горского государственного аграрного университета. 2016. № 2. С. 157-162.
2. Гарифуллина И.И., Байтелова А.И. Оценка последствий загрязнения атмосферного воздуха на зеленые насаждения города Стерлитамака. // Новая наука: современное состояние и пути развития. 2016. № 4. С. 50-55.
3. Оказова З.П., Кадзаева О.Э., Цомартова М.А., Кодзаева Л.С. Анализ состояния парковых территорий г. Владикавказ. // Научный альманах. 2015. № 8. С. 1224-1233.
4. Петункина Л.О. Оценка степени экологического неблагополучия по состоянию зеленых насаждений города. // Альманах современной науки и образования. 2007. № 6. С. 93-96.
5. Санаев И.В. Город и зеленые насаждения. // Вестник Московского государственного университета леса. 2006. № 3. С. 74-77.
6. Сатуева Л.Л., Убаева Р.Ш. Влияние комплекса факторов экологического неблагополучия окружающей среды города на зеленые насаждения. // Вестник Чеченского государственного университета. 2015. № 1. С. 186-189.

## CHARACTERISTICS OF TREE SPECIES IN THE CITY OF VLADIKAVKAZ USED IN PHYTOINDICATION

Kusova N.H., Okazova Z. P.

Ecological systems of large industrial cities are exposed to a constant anthropogenic impact of a vast array of pollutants. The aim of the presented work was an inventory of tree species of Vladikavkaz, which are used as phytoindicators. The study has been carried out on the territory of Vladikavkaz during the year of 2012-2015. It has been defined that a large number of tree, which are applicable as phytoindicators, grows on the territory of the city: black poplar (*Populus nigra* L.), lombardy poplar (*Populus pyramidalis* L.), trembling poplar (*Populus pyramidalis* L.), Canadian poplar (*Populus deltoides* L.), white poplar (*Populus alba* L.), large-leaved linden (*Tilia platyphyllos* L.), small-leaved linden (*Tilia cordata* L.), common horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.), Norway maple (*Acer platanoides* L.), sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.), green ash (*Fraxinus lanceolata* L.), common ash (*Fraxinus excelsior* L.), pine banks (*Pinus banksiana* Lamb.), common spruce (*Picea abies* L.), Western arborvitae (*Thuja occidentalis* L.). It has been concluded that the deciduous were dominant (91.5% of the total amount of tree species) among the woody plants, which are used as phytoindicators on the territory of Vladikavkaz.

**Keywords:** woody plants, hardwoods, conifers, phytoindication

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ТАЕЖНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА

Лаптева Е.М., Виноградова Ю.А., Перминова Е.М.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; lapteva@ib.komisc.ru

### Аннотация

Исследованы особенности формирования микробных сообществ в почвах еловых лесов европейского северо-востока России. Оценены особенности профильного распределения микробной биомассы и численности различных групп микроорганизмов в подзолистых и глееподзолистых почвах, определены закономерности их изменения в ряду почв: подзолистая (глееподзолистая) – торфянисто-подзолисто-глееватая – торфяно-подзолисто-глеевая. Показано, что автоморфные почвы (подзолистые и глееподзолистые) отличаются достаточно высоким функциональным потенциалом микробных сообществ, маркирующим условия трансформации органического материала в их верхних горизонтах. Антропогенное воздействие дестабилизирует экологическое состояние микробных сообществ таежных почв, обуславливая снижение их функционального разнообразия и функциональной активности. Наиболее резко в биоклиматических условиях средней и северной тайги реагируют на техногенное воздействие микробные сообщества автоморфных почв – подзолистых и глееподзолистых.

**Ключевые слова:** подзолистые и болотно-подзолистые почвы, микробные сообщества, мультисубстратное тестирование, антропогенное воздействие, вырубки

### Введение

Таежные почвы, формирующиеся в хвойных лесах европейского северо-востока России (ЕСВР), в отличие от почв южной и центральной части России, испытывают существенно меньший техногенный и агрогенный пресс. Однако и они, в связи с промышленными рубками, разработкой нефте-газовых месторождений, развитием инфраструктуры, подвержены процессам антропогенной трансформации, которая зачастую проявляется на уровне изменения химических и биологических свойств почв, без изменения их морфологической структуры. Учитывая слабую изученность микробиоты подзолистых и болотно-подзолистых почв Республики Коми, занимаю-

щей значительную по площади территорию ЕСВР, нами была проведена комплексная оценка почвенных микробных сообществ, а также рассмотрена возможность применения мультисубстратного тестирования (МСТ) для характеристики экологического состояния таежных почв Севера и оценки его изменения под влиянием природных и антропогенных факторов.

### **Материалы и методы**

В работе использовали стандартные методы микробиологических исследований. Численность и соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭТГМ) определяли методом посева, содержание микробной биомассы – методом люминесцентной микроскопии (Методы..., 1991), функциональную активность микробных сообществ – методом мультисубстратного тестирования (Горленко, Кожевин, 2005). Объектами исследования послужили ряды почв, формирующиеся в градиенте влажности еловых лесов. В подзоне средней тайги такой ряд представлен подзолистой – торфянисто-подзолисто-глеевой почвой, в подзоне северной тайги – глееподзолистой – торфянисто-подзолисто-глеевой – торфяно-подзолисто-глеевой. Кроме того, были исследованы ряды почв, испытывающих различную антропогенную нагрузку. В подзоне средней тайги такими объектами послужили подзолистые почвы ельников черничных и их аналогов, представленных на разновозрастных вырубках, в подзоне северной тайги – почвы еловых лесов, подвергшихся трансформации в процессе строительства автомобильной дороги, а также воздействия разлива дизельного топлива.

### **Результаты**

Как показали проведенные исследования, распределение ЭТГМ в профилях рассмотренных почв имеет типичную для таежных экосистем картину. Максимум численности микроорганизмов приходится на верхнюю часть подстильно-торфяных горизонтов с их снижением в нижней части лесных подстилок на 2-3 порядка. При переходе от органогенных к минеральным горизонтам отмечаются резкое уменьшение общего количества ЭТГМ и изменение их соотношения. В верхней части подстилки основной вклад вносят аммонификаторы, в нижней – микроорганизмы, ассимилирующие минеральные формы азота, и олиготрофы. Оценка численности микроорганизмов с помощью люминесцентной микроскопии показала несколько иную картину. Максимум численности бактерий, спор грибов и длины грибного мицелия приходится на нижнюю часть органогенных горизонтов, где протекают основные процессы трансформации растительного материала и гумификации. В структуре биомассы основную роль играет мицелий микроскопических грибов. На его долю, в зависимости от типа почвы, генетического горизонта и погодных условий года, может приходиться от 70 до 99 % общей биомассы микроорганизмов. В направлении от органогенных к минеральным горизонтам доля грибного мицелия снижается при существенном возрастании в структуре биомассы микромицетов доли спор грибов. Переувлажнение почв в ельниках долгомошных и ельниках сфагновых обуславливает закономерное снижение численности бактерий, длины грибного мицелия и суммарной биомассы микроорганизмов в болотно-подзолистых почвах.

Анализ функциональной активности микроорганизмов свидетельствует о достаточно высоком функциональном потенциале почвенных микробных сообществ еловых лесах Севера. В их органогенных горизонтах микробиотой из 47 субстратов утилизируется 18-38 источников органического углерода, в подзолистых горизонтах – 10-19 субстратов. Микробные сообщества автоморфных почв (подзолистые, глее-

подзолистые), заселяющие верхние подгоризонты лесных подстилок, сбалансированы по интенсивности потребления различных групп соединений. Здесь микроорганизмами ассимилируются все группы соединений, но наиболее активно – углеводы. В нижней части подстилки спектр потребляемых субстратов смещается в сторону аминокислот и азотсодержащих органических соединений. В минеральных (подзолистых) горизонтах сохраняется высокая доля потребления аминокислот и азотсодержащих соединений при активизации потребления солей низкомолекулярных органических кислот и полимерных соединений. Нарастание уровня увлажнения в почвах водораздельных ландшафтов обуславливает снижение общего количества потребляемых субстратов за счет уменьшения потребления сахаров, аминокислот и спиртов.

Промышленные рубки и последующее естественное восстановление растительного покрова оказывают неоднозначное влияние на функциональное разнообразие почвенных микробных сообществ. С одной стороны, в почвах вырубок отмечено возрастание их функционального разнообразия, что обусловлено расширением спектра поступающих органических веществ в почву и на ее поверхность в результате смены пород. С другой стороны, в горизонтах лесных подстилок почв вырубок наблюдается снижение как численности и биомассы микроорганизмов, так и их функциональной активности. Расчет коэффициентов рангового распределения потребления субстратов  $d$  (как меры дестабилизации или возмущенности системы) и интегрального параметра общего благополучия системы  $G$  (как отношения биоразнообразия к нестабильности) свидетельствует о дестабилизации почвенных микробных комплексов на ранних стадиях сукцессии после рубки еловых лесов. Это обусловлено ухудшением экологических условий жизнедеятельности почвенных микроорганизмов за счет развития временного переувлажнения почв на вырубках, усиления в них процессов оглеения и повышения кислотности.

«Запечатывание» почв при прокладке автодорог и воздействие на них органических поллютантов существенно меняют экологическое состояние микробных сообществ, что проявляется в снижении общей численности микроорганизмов, их эколого-трофических групп, функциональной активности и функционального разнообразия. Однако наиболее резкое нарушение (изменение стабильности) микробных сообществ прослеживается в почвах, формирующихся в автоморфных позициях рельефа и характеризующихся в биоклиматических условиях таежной зоны наиболее благоприятными условиями существования почвенной микробиоты.

### **Заключение**

Таким образом, на основе использования комплексного подхода, включающего применение классических (посев на элективные среды) и современных (люминесцентная микроскопия, мультисубстратное тестирование) методов почвенной микробиологии, дана характеристика микробного статуса подзолистых и болотно-подзолистых почв, формирующихся в градиенте влажности средне- и северотаежных еловых лесов. Оценены особенности профильного распределения микробной биомассы и численности различных групп микроорганизмов в подзолистых и глееподзолистых почвах, определены закономерности их изменения в ряду почв: подзолистая (глееподзолистая) – торфянисто-подзолисто-глееватая – торфяно-подзолисто-глеевая. Показано, что автоморфные почвы (подзолистые и глееподзолистые) отличаются достаточно высоким функциональным потенциалом микробных сообществ, маркирующим условия трансформации органического материала в их верхних горизонтах. Антропогенное воздействие дестабилизирует экологическое состояние микробных сообществ таежных почв, обуславливая снижение их функционального раз-

нообразия и функциональной активности. Наиболее резко в биоклиматических условиях средней и северной тайги реагируют на техногенное воздействие микробные сообщества автоморфных почв – подзолистых и глееподзолистых.

### **Цитируемая литература**

- Дымов А.А., Бобкова К.С., Тужилкина В.В., Ракина Д.А. Растительный опад в коренном ельнике и лиственно-хвойных насаждениях // Лесной журнал, 2012. №3. С.7-18.
- Горленко М.В., Кожевин П.А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ. М.: МАКС Пресс, 2005. 88 с.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Комплексной программы УрО РАН №15-12-4-45 «Функционирование и эволюция экосистем криолитозоны европейского северо-востока России в условиях антропогенных воздействий и изменения климата».

## **THE USE OF MULTISUBSTRATE TESTING TO EVALUATE THE ECOLOGICAL STATE OF TAIGA SOILS IN THE RUSSIAN EUROPEAN NORTHEAST**

**Lapteva E.M., Vinogradova Yu.A., Perminova E.M.**

Institute of Biology Komi SC UrB RAS, Syktyvkar, Russia

The features of the formation of microbial communities in soils of spruce forests of the European North-East of Russia have been studied. The features of the profile distribution of microbial biomass and the abundance of different microorganism groups in podzolic and gleypodzolic soils have been estimated. The patterns of these changes among the range of soils: podzolic (gleypodzolic) – peaty-podzolic – peat-podzolic have been defined. It has been shown that the automorphic soils (podzolic and gleypodzolic) had the relatively high functional potential of microbial communities, which marked the conditions of the organic material transformation on upper soil horizons. Anthropogenic impact destabilized the ecological state of microbial communities of taiga soils, causing a decline in the functional diversity and the functional activity. The microbial communities of automorphic soils (podzolic and gleypodzolic) in the bioclimatic conditions of the middle and northern taiga responded to technological impact the most dramatically.

**Key words:** podzolic and bog-podzolic soils, microbial communities, MST, anthropogenic impact, forest cutting

## **ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЖИМА НАГОРНЫХ ДУБРОВ СРЕДНЕГО ПОДОНЬЯ МЕТОДАМИ ДЕНДРОХРОНОЛОГИИ И МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЙ БИОИНДИКАЦИИ**

**Луговская Л.А.**

Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Российская Федерация; zairasag@yandex.ru

### **Аннотация**

Сохранение устойчивого лесопользования нагорных дубрав лесостепи в современной трактовке имеет экологические, экономические и социальные аспекты. В связи с этим, одной из важнейших задач современной стратегии лесопользования является разработка природной основы, обеспечивающей неистощимость экологического потенциала нагорных дубрав в

процессе устойчивого управления, которое должно опираться на организацию биоиндикационного мониторинга. В статье предлагается биоиндикационные методы изучения среды обитания и функционального режима нагорных дубрав Среднего Подонья с использованием дендрохронологического метода и метода флуктуирующей асимметрии формы листа дуба черешчатого. На основе биоиндикационных методов исследований выявлено, что для лесных массивов нагорных дубрав средняя повторяемость благоприятных лет составляет 3,42%. В каждое десятилетие наблюдается в среднем три благоприятных года и ритмы прироста главных лесообразующих пород определяются динамикой осадков. По мере увеличения периода ритмов, возрастает экологическая значимость независимого хода тепло- и влагообеспеченности. При оптимальных условиях всплески геомагнитной активности оказывают наибольшее воздействие на увеличение прироста, а в пессимальных условиях не проявляется. В настоящее время в связи с резким изменением климатических процессов возрастает интерес к изучению функционального режима лесных геосистем. Это позволяет выбрать оптимальный путь их сохранения и использования. Сопряженная оценка природных и антропогенных факторов устанавливает причины формирования современного инварианта лесных нагорных экосистем и определяет характер их изменений в пространстве и во времени. Для целей биодиагностики необходима разработка специфических шкал дендрохронологии и флуктуирующей асимметрии листовых пластин для оценки растительных организмов. В научном исследовании нами предпринята попытка разработки подобной шкалы на основе полученных репрезентативных результатов. Использование методов дендрохронологии и морфолого-анатомической биодиагностики позволит организовать экспресс-мониторинг лесостепных дубрав. Сравнительный анализ результатов, полученных с использованием исследований анатомической структуры осевых побегов и методики флуктуирующей асимметрии листовых пластин дал возможность проверить диапазон колебания признаков различных органов растения и рекомендовать методики для использования с целью оценки комплекса параметров состояния окружающей среды. Наряду с дендрохронологическими исследованиями для повышения репрезентативности данных необходимо использовать методики морфолого-анатомической биодиагностики дуба. Сравнительный анализ результатов позволит усилить достоверность исследования при оценке комплекса параметров состояния окружающей среды геосистем дубрав и выявлять негативные процессы. Разработанная шкала изменений лесных геосистем дубрав позволяет определить смену главной лесообразующей породы; потерю способности породы-индикатора к естественному самовосстановлению, сокращения ареала обитания, а также их антропогенную трансформацию и деградацию. Теоретически обоснованные и апробированные методы исследования на основе анатомо-морфологического и дендрохронологического строения могут найти применение при исследовании нагорных дубрав различных регионов. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-35-5-0076

**Ключевые слова:** дендрохронология, флуктуирующей асимметрия формы листа дуба

## Введение

В настоящее время в связи с резким изменением климатических процессов возрастает интерес к изучению функционального режима лесных геосистем. Это позволяет выбрать оптимальный путь их сохранения и использования.

В научной литературе широко известны попытки оценки на основе дендрохронологических данных, определения характера климатических флуктуаций. Особый интерес представляет определение тенденций изменения состояния лесных геосистем в лесостепной зоне. Необходимость такого сопоставления определяется тем, что дендрохронологические данные дают возможность проверить, насколько изменения лесов были вызваны антропогенными или природными факторами. Анализ дендрохронологических данных как метод оценки и прогноза изменений состояния геосистем под влиянием не только антропогенных воздействий, но и естественных местообитаний требует разработки специфических шкал для оценки каждого конкретного вида растительного организма, учитывающей диапазон нормы реакции конкретной популяции. Уровень морфологических отклонений от нормы минимален при опре-

деленных оптимальных условиях среды и неспецифически возрастает при стрессовых воздействиях. Теоретические вопросы изучения динамики геосистем достаточно широко освещены в отечественной литературе. По определению И.И. Мамай, под состоянием геосистем понимается свойства его структуры, которые сохраняются на протяжении более или менее длительного периода времени. Ф.Н. Мильков, рассматривая развитие геосистем лесостепи, различает флуктуирующую и направленную динамику.

Ведущим фактором, определяющим динамику изменения границ растительных сообществ, изменение режима почвообразования являются климатические флуктуации. Смену флористической формации следует признать качественным переходом от одного инварианта геосистемы к другому. Для оценки пространственно динамических свойств геосистем необходимо указать, что в связи с ритмическим характером природных процессов необходимо рассматривать пульсационный характер изменения границ. Амплитуда осцилляций климатических условий, проявляющихся по ходу реализации ритмов различной продолжительности, неодинакова. Следовательно, правомерно различать изменения площади, занимаемой определенным типом геосистем по рангу ритмов, соответственно 40700-летнего, 1850-летнего и векового. Ритмические флуктуации меньшей продолжительности не способны привести к существенной перестройке природных компонентов. Однако, особенности коротко-периодной ритмики представляются весьма важным показателем, который характеризует современные тенденции изменения геосистем. Возрастание частоты осцилляций прироста дуба может характеризовать нестабильное состояние исследуемого инварианта лесной системы. На современном этапе изучение ритмической структуры динамики природных лесных геосистем с использованием биоиндикационного мониторинга остается слабо развитым научным направлением.

К понятию динамики геосистем относят все изменения, вызываемые хозяйственной деятельностью человека. В настоящее время задача изучения антропогенного прессинга лесные геосистемы лесостепи является одной из самых значимых. На фоне флуктуаций природных условий последствия антропогенного прессинга на геосистемы также не остаются постоянными. При благоприятном сочетании естественных факторов лесные геосистемы способны к самовосстановлению. Отмечено, что в биоклиматические эпохи, характеризующиеся пессимальными условиями, саморегулирующая функция может быть утеряна полностью или частично. Поэтому, даже при неизменном уровне антропогенного прессинга, последствия деятельности человека могут значительно изменяться на протяжении времени. Ритмические процессы, влияющие на лесные геосистемы лесостепи Русской равнины рассмотрены на примере дуба. В условиях Среднего Подонья дендрохронологические исследования дуба черешчатого имеет наиболее длинный ряд. Анализ дендрограм, приведенных в работах С.И. Костина, М.А. Цветкова, М.П. Скрыбина, выявил особенности хода как 1850-летнего, так и векового ритма в пределах всей территории лесостепи.

Наряду с дендрохронологическими исследованиями для повышения репрезентативности следует использовать методики морфолого-анатомической биодиагностики стебля и флуктуирующей асимметрии листовых пластин. Дуб, имея лопастную форму листа, обладает модификационной изменчивостью признака в зависимости от факторов среды. Сравнительный анализ результатов позволит усилить достоверность исследования при оценке комплекса параметров состояния окружающей среды геосистем дубрав и выявлять негативные процессы.

### **Материалы и методы**

В исследовании использована методика анализа дендрохронологических данных для определения динамики лесных геосистем нагорных дубрав малых промежутков



времени. Дендрохронологические данные были собраны в период летних полевых сезонов 2015-2016 г.г. Отбор осуществлялся с использованием методических рекомендаций, обоснованных в работах Н.В. Ловелиуса. Измерения колец проводились от края к центру по наибольшему уровню прироста. Учитывая, что прирост в молодом возрасте заметно выше, 15 годовых колец древесины от центра не измерялись. Известно, что в большинстве случаев кольца характеризуются эксцентричностью. Это явление объясняется положением дерева относительно солнца, неодинаковым развитием частей кроны и влиянием повторяющихся ветров в преобладающем направлении. Измерение годовых колец проводилось как по спилам, так и по кернам, полученным с помощью бура. Чтобы исключить влияние случайных факторов, данные были получены по 10 экземпляров. Также учитывалось влияние антропогенных факторов на камбиальный прирост дуба. По данным, полученным А.М. Луговским, на изменение камбиального прироста оказывает влияние загрязнение в 0.3 ПДК. В связи с этим образцы для исследования отбирались на удалении не менее тридцати километров от стационарных источников выбросов и от автодорог на расстоянии одного километра.

Пункты отбора дендроиндикационного материала были собраны в пределах горных дубрав Воронежской области: Шиповой дубравы и Телермановской рощи.

Наряду с дендрохронологическими исследованиями использовались фитоиндикационные, которые основывались на изучении асимметрии формы листа дуба. Форма листа дуба черешчатого представляет собой непарно перистолопастную с перисто-сетчатым жилкованием, хотя у некоторых видов дуба имеется и цельнокрайние формы листа. Размеры листа имеют сильное варьирование в связи с генетически закрепленной нормой реакции при сохранении его формы. Возврат к исходной в филогенезе цельной форме наблюдался при сильном радиационном воздействии в Чернобыльской зоне. Размер листа определяется в оптимальных условиях, прежде всего естественными факторами – наличие адаптации в виде листовой мозаики для эффективного использования света определяет размер листа в зависимости от места нахождения его в кроне. Количество листьев на побеге определяется количеством закладываемых почек в междоузлиях, и зависит как от внутренних факторов онтогенеза – стадией развития, местом побега в кроне, сезонным этапом формирования, так и факторами внешнего воздействия – почвенно-климатическими условиями, направлением кроны по отношению к свету, направлением господствующих ветров, взаимным расположением деревьев в фитоценозе, патогенными факторами, а также антропогенной деятельностью.

Онтогенез проводящих тканей жилок листа начинается с акропетального дифференциации прокамбия в ранней примордиальной стадии, при этом сохраняется непрерывность с листовыми следами стелы. Далее происходит развитие от центральной жилки к краям за счет маргинальных меристем. Формирование листовой пластинки по мере выхода из почки изменяется с апикально-маргинального на поверхностный рост. Поверхность листовой пластинки по длине и ширине протекает строго по всей поверхности листа за счет растяжения листовой пластинки в процессе деления клеток и их роста. Неблагоприятные факторы приводят к нарушению процесса формирования симметричной листовой пластинки с преобладанием параметров одной из сторон, длины правой или левой жилки по отношению к центральной, а также расстояния между жилками, зависящего от угла отхождения боковых жилок от центральной. Модификационная изменчивость и связанная с ней способность к адаптации, обеспечивающая гомеостаз как конкретного организма, так и популяции в целом – важнейший процесс, обеспечивающий ответную реакцию организма на изменение факторов среды. Явление симметрии (асимметрии) у живых организмов является одной из ключевых характеристик во взаимосвязях с факторами окружаю-

шей среды - при равномерном воздействии наблюдается лучевая или билатеральная симметрия. Симметричным является объект, состоящий из равных частей относительно ключевого значения признака. Симметрия характерна для подавляющего большинства живых организмов. Однако реально наблюдаются лишь приблизительно симметричные объекты с определенным отклонением от нормы, так как структурная организация не является жесткой системой. К такому типу изменений относится флуктуирующая асимметрия, проявляющаяся в незначительных и случайных отклонениях от строгой билатеральной симметрии объектов.

Оценка степени отклонения от средней или нормы является важным показателем стабильности показателя признака, посредством которого достаточно успешно возможна интегрированная оценка всего комплекса условий. Адаптация растений к действию факторов окружающей среды обеспечивается посредством перестройки комплекса функциональных систем и морфолого-анатомических признаков в онтогенезе, вплоть до образования новых норм реакций в филогенезе. Анализ флуктуирующей асимметрии как метод оценки и прогноза изменений состояния геосистем под влиянием не только антропогенных воздействий, но и естественных местообитаний требует разработки специфических шкал для оценки каждого конкретного вида растительного организма, учитывающей диапазон нормы реакции конкретной популяции. Уровень морфологических отклонений от нормы минимален при определенных оптимальных условиях среды и неспецифически возрастает при стрессовых воздействиях.

Разработанная шкала изменений лесных геосистем позволяет определить смену главной лесообразующей породы; потерю способности породы-индикатора к естественному самовосстановлению, сокращения ареала обитания, а также антропогенную трансформацию и деградацию.

### Результаты

Наиболее длительный хронологический ряд был получен на материале *Quercus robur* L. Прежде всего, в динамике прироста этой породы проявляется ход 1850-летний ритм увлаженности. На основе анализа статистического материала было установлено, что прирост дуба обусловлен, прежде всего, условиями увлаженности. Анализируя данные динамики осадков, температуры и солнечной активности была установлена корреляционная зависимость между климатическими показателями и приростом дуба. Изучение климатических флуктуаций выявило относительно слабую выраженность векового ритма. Всплески прироста отмечаются в периоды повышенной солнечной активности и осадков. Средний период колебаний близок к 24 годам.

Следует отметить в ритмическом ряду прироста дуба проявляется неоднородность. Так называемые циклы Брюкнера приурочены к вековым максимумам осадков. Здесь можно видеть, что промежуток времени между минимумами прироста составляет около 35 лет. Во внутривековые эпохи понижения осадков периоды осцилляций прироста укорачиваются и по своей гармонике приближаются к ритмике солнечной (геомагнитной) активности

Отметим, что образцы были взяты у деревьев, произрастающих в нагорных дубравах типичной лесостепи. Такие местоположения являются нетипичными для этой породы. Здесь можно видеть, что положительная корреляция солнечной активности с приростом отмечается только для периодов, характеризовавшихся высокими осадками. Во время спада осадков, по ходу векового ритма, солнечная активность практически не оказывает влияния на прирост деревьев. Внутривековые всплески прироста приурочены к периодам понижения температуры и повышения осадков. Увлажнение выступает в качестве лимитирующего фактора.

Рассмотренные ранее ритмы прироста были относительно хорошо изучены. Недостаточно изученным является 4-х летний ритм. Вместе с тем, он может иметь большое диагностическое значение.

Практически на всех дендрограммах выявляется так называемый ритм натурального ряда или “белый шум” продолжительностью в 2-7 лет. Такие волны правильнее было бы именовать “фликкер-шумом”. В физике так называются низкочастотные упорядоченные колебания, в отличие от “белого шума”. Согласно Е.В. Максимову, этот ритм носит глобальный для вселенной характер. Он обнаруживается в частоте вспышек сверхновых звезд, в слоистости древних осадков и т.д. Временной интервал между элементарными пиками изменяется в сравнительно широких пределах. Для изучения низкочастотных колебаний прироста дуба различные виды сглаживания ряда плохо подходят.

Следует заметить, что среди этих коротких колебаний можно выделить две разнородные группы. К одной из них относятся колебания, которые отслеживают динамику одного, главного фактора. Их следует считать прямым следствием космических ритмов. К другой группе принадлежат те из них, которые являются следствием разного соотношения тепла, влаги и множества других факторов. Можно сформулировать общую закономерность. Она заключается в том, что чем более значимым является какой-либо из факторов внешней среды для прироста породы, тем больше будут совпадать их частотные спектры.

Выраженность “фликкер-шума” может служить хорошим диагностическим признаком для оценки динамического состояния насаждений. Чем более выражены низкочастотные колебания тем, тем больше вероятность трансформации данного насаждения под воздействием внешних природных факторов. Эта особенность прироста характерна для главной лесообразующей породы всех лесных экосистем, находящихся в состоянии регрессии.

Статистический анализ климатических данных за временной период с 1731 по 2016 год отмечен как благоприятный для роста дуба. Таким образом, в данном районе средняя повторяемость благоприятных лет составляет 3,42%, или в каждое десятилетие наблюдается среднем три благоприятных года. Можно предположить, что такая периодичность засух является следствием интерференции упорядоченных осцилляций осадков и температуры, которые обусловлены 4-х летним ритмом деятельности Солнца.

Оценив общие особенности ритмики климата и прироста древесных растений можно перейти к изучению ритмики природных систем.

На основе проведенных морфолого-анатомических исследований особенностей структурной реакции листа методом флуктуирующей асимметрии и анатомо-гистологических исследований параметров признаков анатомического строения коры и древесины стебля молодых побегов и стволовой части можно сделать следующие заключения:

- На основе стабильных качественных признаков анатомического строения имеющих количественные изменения возможно создание шкалы для биодиагностики состояния условий среды

- Для целей биодиагностики наиболее подходят признаки имеющие достоверность отличий и широкий диапазон колебания признаков, процессуально напрямую связанных с изменяем воздействия факторов среды

- К числу биодиагностических признаков предлагаемых нами относятся – перечень

- Анализ параметров для исследования флуктуирующей асимметрии из числа использованных рядом исследователей для дуба подходит ширина листа относительно центральной жилки.

- Сравнительный анализ результатов методик флуктуирующей асимметрии и анатомо-гистологической реакции стебля показал репрезентативность результатов обеих методик что позволяет их использования в биоиндикационных целях

- На основе разработанных нами шкал флуктуирующей асимметрии и анатомо-гистологической реакции стебля дуба возможна оценка степени комфортности среды.

Исследование качественных показателей гистологических элементов и тканей коры однолетних побегов дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в различных типах пойменных и нагорных дубрав показало ярко выраженную реакцию по сравнению со ствольной частью на высоте 1,3 м и стеблями более старшего возраста. Диапазон колебания ширины коры однолетних побегов модельных деревьев в разных условиях произрастания колебался на 40%, тогда как в ствольной части диапазон колебания составлял до 20%. Различие в ширине годовичного кольца обусловлено неодинаковым развитием слагающих ее тканей – наиболее сильно изменяется ширина годовичного кольца проводящего луба и ширина механических тканей.

По мере оптимизации условий произрастания увеличивается ширина проводящей флоэмы, однако часто различия не носят достоверного характера и находятся в пределах нормы реакции. Это говорит о меньшей чувствительности коры ствольной части и невозможности использования его для целей дендроиндикации.

Более чувствительными являются молодые, особенно однолетние, стебли дуба черешчатого, причем особенно чутко реагирует ширина коры однолетних стеблей и ширина первичного механического кольца, что делает эти признаки ценными для целей индикации состояния качества среды. Древесина дуба, также как и кора не претерпевает качественных изменений по мере ухудшения условий произрастания. Остаются неизменными форма сосудов, сосудистых трахейд и либриформа, перфорация и тип поровости, форма кристаллов аксалата кальция, кольцесо-судистый тип организации. Анализируя ширину годовичного кольца молодых стеблей и ствольной части, следует отметить большую чувствительность древесины молодых стеблей по сравнению со ствольной частью, что иллюстрируется сравнительными наблюдениями за нормализацией камбиальной деятельности ствольной части при одновременной дестабилизацией в молодых побегах по мере оптимизации почвенно-климатических условий. При анализе соотношения ранней и поздней части в годовичном слое древесины взрослого ствола следует отметить более значительное сокращение поздней древесины, что приводит к ухудшению физико-химических свойств древесины в целом. Большое диагностическое значение, на наш взгляд, имеют сосуды ранней древесины в связи с уменьшением диаметра просветов у молодых стеблей до 40% в зоне подтопления в пойменной дубраве. В ствольной части это изменение незначительно и носит недостоверный характер.

Результаты при анализе флуктуирующей асимметрии в сравнении с результатами анализа морфолого-анатомического строения стебля дуба черешчатого сделать вывод о репрезентативности обеих методик. Данные использованы при картографировании местообитаний комфортности среды для дубравных геосистем.

Проведено картографирование территориального размещения нагорных дубрав в пределах Телермановской рощи и Шиповой дубравы.

Существенной причиной деградации дубрав, является солидный биологический возраст древостоев. Так, по данным Л.Н. Гумилева, интенсивное освоение бассейна Среднего Подонья началось около пяти веков назад. В этих безлесных районах единственным источником древесины могли быть нагорные и пойменные дубравы. В связи с этим, даже если оборот рубки составлял 70-100 лет, а основное возобновление происходило порослевым путем, нынешние дубравы могут быть представлены древостоями 5-7-го поколений. В структуре дубрав преобладают низкоплотные (0,3-

0,6) насаждения, что является следствием их многократного возобновления с неизбежным постепенным изреживанием и отмиранием.

Для исследования в целях индикации состояния среды с использованием: гистологических элементов и тканей дуба черешчатого нами предложены следующие признаки однолетнего стебля: ширина коры, механического кольца, луба, годичного слоя древесины, диаметр просветов сосудов ранней древесины.

### **Заключение**

Лесные геосистемы являются биоиндикатором природной среды. Оценка функционального их режима гео-экоиндикационных рядов, построенных на основе биоиндикационных исследований по принципам сравнительного анализа площадей формаций и индекса геоэкологического состояния позволила выявить различия.

Динамика среднегодовой температуры для Среднего Подонья обусловлена глобальной тенденцией к потеплению, а изменение количества осадков обусловлено главным образом, ритмикой западного переноса, и ближайшее десятилетие будет характеризоваться тенденцией к увеличению количества осадков и возрастанием среднегодовой температуры. Биоиндикация исследования в пределах нагорных дубрав Среднего Подонья позволяет сделать следующие выводы:

- Ведущим фактором развития лесных геосистем является их функциональная направленность, обусловленная преобладанием природных процессов.

- 1850-й и вековой ритмы прироста дуба, главной лесообразующей породы Среднего Подонья определяется в основном динамикой осадков.

- Хронологическая структура природных процессов заметно различается различается в ритмах разной продолжительности. По мере увеличения периода ритма, возрастает экологическая значимость независимого хода тепло- и влагообеспеченности. Напротив, чем меньше период ритма, тем незначительнее влияние этой климатической закономерности.

- Степень влияния геомагнитной активности на деятельность камбия обусловлена толерантностью данного вида к экологическим условиям конкретного местоположения. При оптимальных условиях всплески геомагнитной активности оказывают наибольшее воздействие на увеличение прироста. В пессимальных условиях роль геомагнитного воздействия не проявляется или выражена слабо.

- Предположение Н.В. Ловелиуса о возрастании прироста к 2000 году подтвердилось на нагорных дубравах в бассейне Среднего Подонья.

- Биометрические показатели наземной части дуба, произрастающих в различных условиях поймы и склонов, анализ качественных и количественных изменений их аналитических признаков дает возможность оценить этапы онтогенеза.

- Биоиндикационные исследования интразональных и зональных ландшафтов дает возможность сравнить природные и природно-антропогенные геосистемы, выявляя средостабилизирующие, средообразующие и средозащитные функции.

### **Цитируемая литература**

1. Буряк Ж.А. Бассейновый подход к организации природопользования в Белгородской области/Буряк Ж.А., Дегтярь А. В., Землякова А.В, Кузьменко Я.В. Белгород. БелГУ, 2013-01-01, 88 с.
2. Ловелиус Н. В, Проявление экстремумов 11- и 22-летнего циклов активности Солнца в приросте древесных растений и природных процессах / Н.В. Ловелиус // Современные проблемы солнечной цикличности. Тр. Г АО РАМ. - СПб., 1997. - С. 135-138.
3. Луговская Л.А., Луговской А.М., Межова Л.А. Дендроиндикационный мониторинг с использованием: анатомического строения сосны обыкновенной и дуба черешчатого в условиях особо охраняемых / Л.А. Луговская, А.М. Луговской. Л.А. Межова // Доклад о государственном надзоре и контроле за использованием природных ресурсов и состоянием окружающей среды Воронежской области в 2008 году. - Воронеж: ГУН ВО «ВОТ-Из-во», 2009. - С. 131-135.

4. Луговская Л.А. Дендроиндикация с использованием параметров анатомического строения дуба черешчатого / Л.А. Луговская // Проблемы региональной экологии. - №5. – 2009. - С. 137-140.
5. Луговской А.М. Оценка качества среды биоиндикационными методами / А.М. Луговской // Агроэкологический вестник. - Воронеж: ВГЛУ, 2002. - С. 50-57.

### **Благодарности**

Выражаем особую благодарность Земляковой А.В., руководителю проекта с кафедры природопользования и земельного кадастра Белгородского государственного национального исследовательского университета.

## **THE STUDY OF THE FUNCTIONAL MODE OF THE UPLAND OAK FORESTS OF THE MIDDLE DON THE METHODS OF DENDROCHRONOLOGY AND MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL BIOINDICATION**

**Lugovskaya L.A.**

The preservation of sustainable forest management of the upland oak forest to the modern interpretation has ecological, economic and social aspects. In this regard, one of the most important objectives of modern forest management strategy is to develop a natural framework for the inexhaustible environmental capacity of the upland oak forests in sustainable management, which should be based on the organization of monitoring. The article offers bioindicative methods for the study of environment and the functional mode of the upland oak forests of the Middle don with the use of dendrochronological method and the method of fluctuating asymmetry of leaf shape oak *chereshchatogo*.

On the basis of bioindicative research methods revealed that for forests the upland oak forests the average frequency of occurrence of favorable years is of 3.42%. In every decade there has been an average of three favorable year and the rhythms of growth of the main forest tree species are determined by the dynamics of precipitation. The longer the period of rhythms, increases the ecological importance of an independent turn of heat and humidity. Under optimal conditions, bursts of geomagnetic activity have the greatest impact on increasing growth, and in severe conditions is not evident. At the present time in connection with sharp change of climatic processes, increases the interest in the study of the functional mode of forest geosystems. This allows you to choose the best path for their conservation and use.

Coupled assessment of natural and anthropogenic factors establishes the causes of the formation of modern invariant upland forest ecosystems and determines the nature of their changes in space and in time.

For the purposes of biodiagnostic it is necessary to develop specific scales of dendrochronology and fluctuating asymmetry of leaf plates for assessment of plant organisms. In a scientific study, we attempted to develop a similar scale on the basis of the obtained representative results. Using the techniques of dendrochronology and morphological-anatomical biodiagnostic will allow you to organize rapid monitoring of the forest-steppe oak forests. Comparative analysis of results obtained from studies using anatomical structures of the axial shoots and methods of fluctuating asymmetry of leaf plates gave the opportunity to test the range of fluctuations of the characteristics of the various organs of the plant and to recommend methodologies to use to assess the complex parameters of the environment.

A number of dendrochronological studies to enhance the representativeness of the data it is necessary to use methods of morphological-anatomical biodiagnostic oak. Comparative analysis of the results will enhance the reliability of the test in the evaluation of complex parameters of environmental geosystems oak and to identify negative processes.

Scale changes of forest geosystems of oak allows to determine the change of the main tree species; the loss of the ability of the species-indicator for natural healing, reduction of habitat, as well as their anthropogenic transformation and degradation.

Theoretically grounded and tested methods of research based on anatomical and morphological and dendrochronology of the structure can find application in the study of upland oak forests in different regions.

## УСТАНОВЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ Г. АЛМАТЫ МЕТОДОМ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

Мынбаева Б.Н.<sup>1</sup>, Муздыбаева К.К.<sup>1</sup>, Асемкулова Г.Б.<sup>2</sup>,  
Калдыбаева Ж.<sup>1</sup>, Досан А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный педагогический университет им. Абая (КазНПУ им. Абая), Алматы, Казахстан; bmynbayeva@gmail.com

<sup>2</sup>Алматы менеджмент университет, Алматы, Казахстан

### Аннотация

Авторы использовали метод фитотестирования для определения токсичности урбаноземов Алматы, загрязненных тяжелыми металлами. Почвенные пробы были взяты на 4 участках урбаноземов и 1 контрольном (не загрязненном) участке. Тест-объектами служили семена горчицы белой и пресноводные микроводоросли. Для всех 4 участков урбаноземов через процентную величину угнетения проростков горчицы была установлена средняя токсичность: от 42 до 49%. Прирост численности клеток микроводорослей на почвенных вытяжках урбаноземов (от 15 до 41%) был очень низким по сравнению с контролем (212%). Таким образом, использованный метод фитотестирования оказался эффективным: угнетение параметров роста и развития фитотестов было значительным для урбаноземов, загрязненных тяжелыми металлами.

**Ключевые слова:** фитотоксичность, урбаноземы, тест-объекты

### Введение

В последнее время экологическое состояние урбаноземов и городской растительности является актуальным из-за деградации и загрязнения этих компонентов среды [2, 3], особенно тяжелыми металлами ТМ [4, 5]. Почвы г. Алматы не исключение: отмечено значительное их загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) в разные периоды мониторинга [6].

Исследователями показана зависимость содержания ТМ в урбаноземах Алматы и их токсичностью для отдельных представителей микрофлоры и микрофауны [7, 8, 9 и др.]. Экологическое состояние почв г. Алматы было проверено также с помощью мультисубстратного тестирования (МСТ) [10]. Выше названные исследования были осуществлены разными методами: микробиологическими, зоологическими, методом МСТ и др. В последнее время исследователи стали использовать также методы биодиагностики и биотестирования для установления степени токсичности почв г. Алматы, загрязненных ТМ.

Цель данного исследования: использовать фитотестирование для определения уровня токсичности урбаноземов Алматы. Использованный метод фитотестирования обладает высокой чувствительностью, универсальностью, интегральностью и простотой. Он широко применяется для определения токсичности поллютантов как в почве, так и в воде [11, 12].

### Материалы и методы

Почвенные образцы для определения их токсичности взяли методом «конверта» на 5 участках: уч. 1 – парковая зона КазНУ им. аль-Фараби (контроль для городских почв), уч. 2 – перекресток просп. Абая/просп. Сейфуллина, уч. 3 – перекресток просп. Райымбека/ул. Розыбакиева, уч. 4 – перекресток просп. Райымбека/просп. Сейфуллина, уч. 5 – перекресток просп. Райымбека/ ул. Пушкина. Пробы брали с

сохранением нативных структур почв. Почвенные пробы смешивали, просушивали и просеивали через сита диаметром 1 и 2 мм. Водную вытяжку из почвы для биотестирования готовили в соотношении: 1 часть почвы и 4 части культивационной воды.

В качестве тест-объектов служили семена горчицы белой *Sinapis alba* (L. 1753) и культура водорослей *Scenedesmus quadricauda* (Me yen 1829).

Биотестирование было проведено на факультете почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова в лаборатории экотоксикологического анализа почв (ЛЭТАП), имеющей растительные тесты и унифицированные методы биотестирования для определения фитотоксичности компонентов окружающей среды [1].

Для повышения экспрессности фитотестирования почв г. Алматы были использованы мелкие семена горчицы белой с небольшим запасом питательных веществ и прозрачные планшеты с вертикальной экспозицией. В ячейки планшета были разложены семена горчицы белой. Для изменения длины проростков не требуется вскрытие камер и использование традиционной линейки. Каждый вариант опыта проводился в 4 повторностях. Использована средняя длина проростков в качестве показателя фитотоксичности почвенных образцов. Средняя длина проростков горчицы белой из уч. 1 (парковая зона КазНУ им. аль-Фараби) взята как контроль (100%), результаты в других вариантах сопоставлялись с контролем (в %). Разность между установленной процентной величиной длины проростков и контролем соответствует суммарной токсичности в случае угнетения показателя. Использовано следующее ранжирование почв по токсичности: проба токсична, если процентная величина угнетения длины проростков равна или превышает 20-50%; проба высокотоксична – равна или превышает 50-75% и проба очень высокотоксична – равна или превышает 75%.

Интенсивность размножения водорослей устанавливалась через коэффициент прироста численности клеток в приготовленной почвенной вытяжке. Условия проведения опытов соответствовали методике [12]. Проведение опыта: готовили отдельно по 100 мл раствора каждой соли; питательную среду стерилизовали кипячением на слабом огне в течение 20-30 мин; колбы для культивирования водорослей стерилизовали сухим жаром в течение 1 час. при 180 °С. В колбу объемом 1,5-2 л с предварительно приготовленной средой Успенского № 1 стерильно внесли суспензию водорослей до получения численности 50-100 тыс. кл/мл (слабое бледно-зеленое окрашивание). Затем суспензию водорослей стерильно разлили по опытным колбам (объемом 50 мл) и добавили почвенную вытяжку. Колбы поместили в хорошо освещенное место, защищенное от прямых солнечных лучей. Продолжительность биотестирования с помощью водорослей: 96 час. Общее число клеток культур пресноводных микроводорослей подсчитывали в камере Горяева при стандартном объеме данных камеры 0,0001 мл. Затем провели пересчет на 1 мл (= 1 см<sup>3</sup>) по следующей формуле:  $X = t - 10^4$ , где X – общее количество клеток в 1 см<sup>3</sup>; t – количество (сумма) клеток в 25 больших квадратах. Количество клеток выражают в тысячах и миллионах на 1 мл, или в миллиардах на 1 л. При более высокой исходной плотности культур использовали двухсеточную счетную камеру Горяева.

## Результаты

Согласно показателю процентной величины угнетения длины проростков горчицы белой *Sinapis alba* почвенная проба с уч. 1 (парковая зона КазНУ им. аль-Фараби) оказалась не токсичной – средняя длина проростков составила 17% (ниже допусти-



мого предела 20%). Следовательно, почву на уч. 1 можно считать контрольной. Процентная величина угнетения проростков горчицы на почвах с уч. 2, 4 и 5 составила 42, 38 и 44% соответственно, что свидетельствовало о средней токсичности почвенных проб (рис. 1).

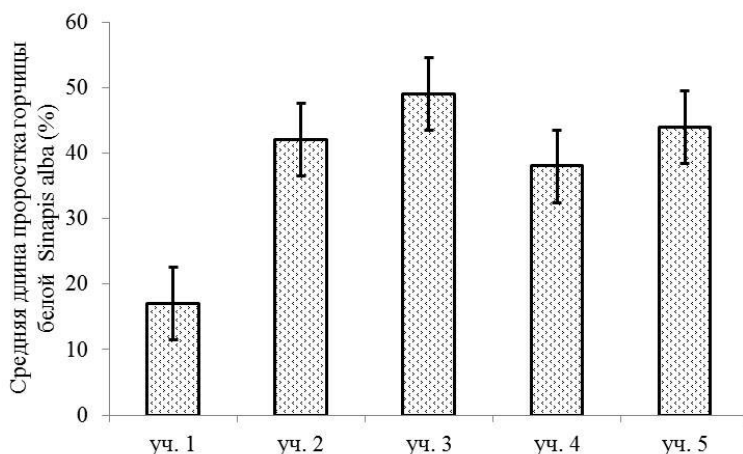


Рисунок 1 – Показатели процентной величины угнетения длины проростков горчицы белой

Самая высокая степень угнетения роста проростков горчицы 49% выявлена на уч. 3.

Изменение прироста численности клеток микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*, выраженное в  $N_{cp} \times 10^5$  кл/мл, показало, что численность клеток микроводорослей на уч. 2, 3, 4 и 5 была очень низкой (рис. 2).

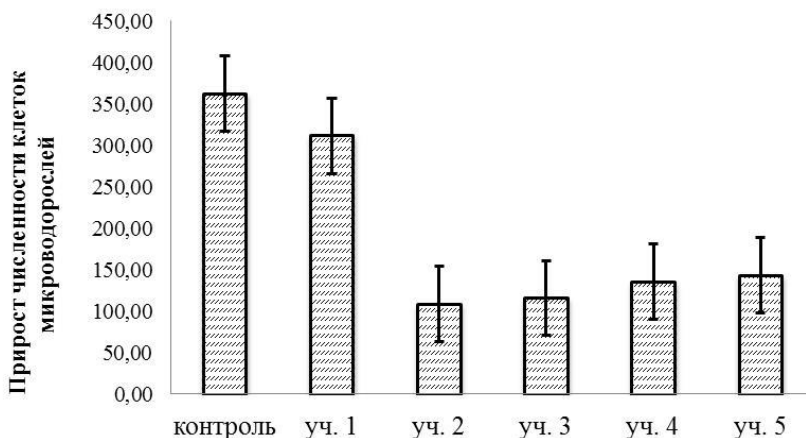


Рисунок 2 – Изменение прироста численности клеток микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*,  $N_{cp} \times 10^5$  кл/мл

Например, прирост клеток составил 108,8% к контролю – на уч. 2; 115,7% – на уч. 3; 135,3% – на уч. 4 и 141,1% – на уч. 5. Следовательно, низкая численность тест-объектов микроводорослей свидетельствовала о высокой токсичности почв этих

участков. Не токсичной оказалась почва на уч. 1 парковой зоны КазНУ им. аль-Фараби: прирост числа микроводорослей на которой составил 311,7% к контролю.

### Заключение

Наиболее токсичными оказались почвенные образцы, взятые на уч. 3 и 4 (перекрестки просп. Райымбека/ул. Розыбакиева и просп. Райымбека/просп. Сейфуллина). Эти автомагистрали из выбранных нами участков урбанизированной территории г. Алматы имеют наиболее интенсивное движение транспорта, поэтому, мы делаем вывод, что результаты использованного метода фитотестирования с помощью семян горчицы белой и микроводорослями отражают реальное загрязнение тяжелыми металлами почв и степень токсичности.

### Цитируемая литература

1. Технологии биотестирования: Экотоксикологическая оценка объектов окружающей среды: учеб. пособие / Под. ред. В.А Тереховой. – М.:МГУ, 2008. – 83 с.
2. Экология города: учеб. пособие для вузов / Отв. ред. Н. С. Касимов. – М.: Научн. мир, 2004. – 624 с.
3. Черных Н.А., Милащенко З., Ладонин В.Ф. Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжёлыми металлами. – М.: Агроконсалт, 1999. – 195 с.
4. Smejkalova M., Mikanova O., Boruvka L. Effects of heavy metal concentrations on biological activity of soil microorganisms // *Plant Soil Environ.* – 2003. – Vol. 49, N 7. – P. 321-326.
5. Даутбаева А.С. Оценка экологического состояния почвы и растений г. Алматы по содержанию тяжелых металлов // *Материалы III Междунар. конф. «Тяжелые металлы, радионуклиды и элементы-биофилы в окружающей среде», 22-26 июня 2004 г. Семей. – Семей, 2004. – Т. 2. – С. 597-601.*
6. Мынбаева Б.Н. Оценка загрязнения почв г. Алматы тяжелыми металлами химическими и математическими методами // *Фундаментальные исследования.* 2011, № 10 (часть 1). С. 131-136.
7. Мынбаева Б.Н. Микробная биоиндикация почв г. Алматы с помощью культуры *Azotobacter* // *Фундаментальные исследования.* 2011, № 6. С. 206-209.
8. Mynbayeva B.N., Makeeva A.Zh., Seidalina A.B. Potential applications for Perennial Ryegrass in phytoindication of urban soils // *Russian Journal of Ecology.* 2012, N 3. P. 261-263.
9. Mynbayeva B.N., Esimov B.K. Evaluation of Almaty City Soil's Toxicity by the Representatives of the Microflora and Microfauna // *Korean Journal of Environmental Biology.* 2011. Vol. 29, № 3. P. 208-211.
10. Mynbayeva B., Seilova L., Voronova N. et al. Urban soil's toxicity control via the evaluation of changes in bacterial communities' metabolic spectra // *African Journal of Microbiology Research.* 2014. Vol. 8(5). P. 437-440.
11. Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. – М.: Академия, 2007. – 288 с.
12. Терехова В.А., Рахлеева А.А., Кудряшов С.В. и др. Биологические методы определения экологической токсичности почв и класса опасности отходов // *Материалы Междунар. школы «Современные методы эколого-геохимической оценки состояния и изменений окружающей среды».* – Новороссийск, 2003.

### THE ESTABLISHMENT OF ALMATY CITY SOIL TOXICITY BY BIOASSAY METHOD

**Mynbayeva B.N., Muzdybayeva K.K., Assemkulova G.B., Kaldybayeva J., Dosan A.**

The authors used bioassay method for determining the toxicity Almaty urban soils contaminated with heavy metals. The soil samples were collected at 4 plots urban soils and 1 control (not contaminated) plot. Seeds of white mustard and freshwater microalgae were the test objects. The average toxicity was set for all 4 plots of the urban soils by the percent of inhibition of mustard seedlings from 42 to 49%. Growth of the number of algae cells in the urban soils extracts (from 15 to 41%) was very low compared with the control (212%). Thus, the used phitotest method was effective: inhibition of the test objects growth and development parameters was significant for urban soils contaminated with heavy metals.

# PRINCIPLES OF TEST-CULTURES SELECTION FOR THE APPLICATION IN LABORATORY PHYTOTEST

Nikolaeva O.V.<sup>1</sup>, Terekhova V.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research and training soil-ecological centre of Lomonosov MSU

<sup>2</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of RAS

E-mail: [lisovitskaya@gmail.com](mailto:lisovitskaya@gmail.com), [vterekhova@gmail.com](mailto:vterekhova@gmail.com)

Application of different test-cultures for the laboratory phytotest realization is one of the key reasons for the inconsistency of obtained results. There are more than 30000 species of terrestrial plants of different sensitivity to pollutants in the world. Therefore the choice of the «right» test-culture for the phytotest proceeding is a challenge. Objective for this work is analysis of Russian and foreign standards and guidelines in order to identify the best practices and approaches to the selection of test-cultures for the phytotest proceeding.

Analysis of foreign guidelines highlights the obligatory simultaneous use of several test cultures in one test. The minimum quantity of obligatory test-cultures (2 plant species) is recommended by ISO [4] and the maximum (10 plants species) is prescribed by EPA [5]. According to OECD [6] the exact number of test-cultures to be tested as a must is not specified and should be determined by the researcher from the list of 9 monocotyledonous and 23 dicotyledonous plants. In analyzed documents test-cultures are required to be sensitive to a wide range of pollutants and able to perform reliable and replicable results. Test-cultures should belong to different taxonomic groups and be represented as monocotyledonous and dicotyledonous plants. Seeds should be unified and belong to one supplier. In addition to the obligatory test-cultures an extensive list of alternatives is provided in all documents. This extends the capability of researchers in finding the plants, growing optimally at the tested soil. All the test-cultures recommended by EPA and ISO are arable crops. An interesting practice is an application of wild plants, presented in OECD manual as the list of more than 50 species.

In Russian practice the obligatory use of several test-cultures of different taxonomic classes in one test is required only in few documents [3]: the researcher should choose two representatives of dicotyledonous species from white mustard (*Sinapis alba*), sowing radish (*Raphanus sativa*) and watercress salad (*Lepidium sativa*), and one representative of monocotyledonous plants - oats (*Avena sativa*) or sorghum (*Sorghum saccharatum*). The most guidelines dedicate using of the only one monocotyledonous test-culture: oat (*Avena sativa*) [2], wheat (*Triticum vulgare*) or barley (*Hordeum vulgare*) [1]. However, analysis of Russian research articles reveals a great experience in the application of several test-cultures in phytotest proceeding, including the simultaneous use of a set of plants from different taxonomic groups.

Thus realization of laboratory phytotest in line with international standards is characterized by more detailed elaboration and complexity in comparison to Russian guidelines. Authors conclude the selection of test-cultures dedicated for the analysis of soils and other objects in agriculture should be done from the crops planned to be grown on analyzed territory. In case the phytotest is realized to provide toxicological assessment of environmental components the set of test-cultures should be selected taking into account the place of their habitat and occurrence frequency; it should be presented by species of different taxonomic groups and tend to reflect the diversity of plants in ecosystem. It is necessary to release the Russian regulatory standard with the list of recommended test-cultures for phytotest proceeding. Creation of Russian database keeping the research results in a standard way will be very useful instrument for phytotest guidelines development and improvement.

## Acknowledgments

The work is realised on the program "Biodiversity of natural systems" of RAS Presidium

1. Kapelkina L.P., Bardina T.V., Bakina L.G., Chugunova M.V., Gerasimova A.O., Mayachkina N.V., Galdians A.A. Measurement technique of seed germination and root length of higher plants seedlings for the toxicity of anthropogenic contaminated soils determination. М-П-2006. Federal Register 1.39.2006.02264: SPb, 2009. 19 pp.
2. Methodical Guidance 2.1.7.2297-07. Substantiation of waste production and consumption hazard class based on phytotoxicity. Guidelines - Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2007. 15 pp.
3. Terekhova V.A., Yakimenko O.S., Voronina L.P., Kydralievа K.A. Guidelines for the measurement of humic substances biological activity based on phytotest ( "Fitoskan"). Federal Register 1.31.2012.11560. 2014 M. 24 pp.
4. ISO 11269-2:2012. Soil quality -Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. 19 pp.
5. OCSPP 850.4230: Early Seedling Growth Toxicity Test [EPA 712-C-010]. 23 pp.
6. OECD (2006). Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 2. OECD Publishing, Paris. 21 p. DOI: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070066-en>

## ПРИНЦИПЫ ВЫБОРА ТЕСТ-КУЛЬТУР ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОГО МЕТОДА ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

Николаева О.В.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Учебно-опытный почвенно-экологический центр МГУ

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

E-mail: [lisovitskaya@gmail.com](mailto:lisovitskaya@gmail.com), [vterekhova@gmail.com](mailto:vterekhova@gmail.com)

Использование различных тест-культур можно назвать одной из главных причин, обуславливающих большое варьирование результатов, получаемых исследователями при реализации лабораторного метода фитотестирования. В мире насчитывается более 30000 видов наземных растений, обладающих различной чувствительностью по отношению к поллютантам. Поэтому выбор тест-культур, по реакции которых можно судить об опасности тестируемого вещества по отношению к растительному сообществу, является сложной задачей. Данная работа посвящена анализу отечественных и зарубежных стандартов и методических документов с целью выявления лучших практик и подходов к выбору тест-культур для реализации лабораторного фитотестирования.

При анализе зарубежных руководящих документов обращает внимание одновременное использование нескольких тест-культур, наименьшее количество которых (2 тест-культуры) рекомендовано ISO [4], а наибольшее (10 тест-культур) предписано EPA [5]. В документах OECD [6] точное количество тест-культур для реализации фитотестирования не представлено и определяется исследователем. В списке рекомендованных указаны 23 двудольных и 9 однодольных растений. Во всех анализируемых документах к растениям предъявляются требования чувствительности к широкому спектру поллютантов, информативности, способности давать надежные и воспроизводимые результаты. Тест-культуры должны принадлежать к разным таксономическим группам и быть представлены как однодольными, так и двудольными растениями. Семена для целей фитотестирования должны быть унифицированы и иметь одного поставщика. Помимо обязательных тест-культур во всех документах приводится обширный перечень альтернативных вариантов. Это расширяет возможности исследователей, позволяя выбирать растения, естественный ареал обитания

которых максимально соответствует тестируемой почве. Виды, рекомендованные ЕРА и ISO, являются возделываемыми культурами. Интересной практикой становится использование «диких», не сельскохозяйственных культур. Так в руководстве OECD приведен обширный перечень таких растений, представленный более чем 50 видами.

Что касается отечественной практики, то в некоторых источниках также рекомендуется использование нескольких видов растений из разных классов, но в большинстве методик анализ проводится на одной однодольной тест-культуре. В Методическом руководстве по обоснованию класса опасности отходов [2] тестирование осуществляется на овсе (*Avena sativa*); в Методике выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв [1] также применяется одна тест-культура, но предполагается выбор между пшеницей (*Triticum vulgare*) и ячменем (*Hordeum vulgare*); в Методике измерений биологической активности гуминовых веществ [3] используют набор семян из растений в количестве не менее трех видов. Выбирают два представителя двудольных растений из таких видов, как горчица белая (*Sinapis alba*), редис посевной (*Raphanus sativa*) и кресс салат (*Lepidium sativa*), и одного представителя однодольных растений – овса (*Avena sativa*) или сорго (*Sorghum saccharatum*). Обзор официальных отечественных методик показывает, что фитотестирование реализуется в основном на одной тест-культуре. Однако анализ научно-исследовательских статей с применением фитотестирования позволяет выявить большой опыт применения различных тест-культур для исследования почв и грунтов, в том числе, одновременное использование набора растений из различных таксономических групп.

Таким образом, реализация лабораторного метода ведущими зарубежными стандартами в силу исторических причин характеризуется большей детальностью и комплексностью реализации по сравнению с отечественными методиками. На наш взгляд, при выборе тест-растений для анализа почв и прочих объектов в сфере сельскохозяйственной деятельности следует ориентироваться на те культуры, которые планируется возделывать. Если же фитотестирование проводится с целью характеристики токсичности компонентов природных экосистем, то набор тест-культур должен осуществляться с учетом частоты встречаемости в данных условиях и включать представителей различных таксономических групп и, в идеале, отражать разнообразие экосистемы. Назрела необходимость создания единого отечественного регулирующего документа с перечнем рекомендованных тест-культур для целей фитотестирования. Удобным инструментом обновления и развития отечественных методик может стать создание базы данных, объединяющей результаты исследователей в области фитотестирования.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем»»

1. Капелькина Л.П., Бардина Т.В., Бакина Л.Г., Чугунова М.В., Герасимов А.О., Маячкина Н.В., Галдянец А.А. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв. М-П-2006. ФР.1.39.2006.02264: СПб, 2009. 19 с.
2. МР 2.1.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Методические рекомендации – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007. 15 с.
3. Терехова В.А., Якименко О.С. Воронина Л.П., Кыдралиева К.А. Методика измерений биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования ("Фитоскан"). ФР.1.31.2012.11560. 2014 М.: Доброе слово. 24 с.
4. ISO 11269-2:2012. Soil quality -Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. 19 pp.
5. OCSPP 850.4230: Early Seedling Growth Toxicity Test [EPA 712-C-010]. 23 pp.

## ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В РЯДУ ПОКОЛЕНИЙ *DAPHNIA MAGNA* КАК ПОДХОД БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Олькова А.С.<sup>1</sup>, Кантор Г.Я.<sup>2</sup>

ФГБОУ ВО "Вятский государственный университет", Киров, Российская Федерация  
ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, лаборатория биомониторинга, г. Киров; morgapabend@mail.ru

### Аннотация

В современном контроле качества природных и техногенных сред биотесты с использованием *Daphnia magna* Straus являются наиболее распространенными. Используемые тест-функции относятся к морфологическим, физиологическим и биохимическим показателям жизнеспособности рачков. Нами апробирован подход, основанный на оценке состояния трех поколений *D. magna*, находящихся под воздействием токсиканта. Первое поколение – молодь, полученная от материнской самки за один приплод. Второе и третье поколение формировалось из массовых приплодов, получаемых в ходе эксперимента. Подход апробирован в модельном эксперименте. Тестируемыми средами были природные воды с добавками 2,5 и 5 ПДК хлорида стронция (в расчете на ион). Острог токсического действия для первого поколения выявлено не было. Все эффекты были отсроченными во времени с тенденцией усиления от первого к третьему поколению. Динамика гибели взрослых особей указывает на закономерное ослабление каждого последующего поколения. Пики плодовитости под воздействием токсиканта сдвигаются в первую половину жизненного цикла особей, тогда как в контроле максимум средней плодовитости достигается в период с 25 по 50 день жизни. Плодовитость рачков достоверно снижается с усилением угнетения в каждом последующем поколении. Возрастает количество abortивных яиц и мертвой молоди. Оценка токсических эффектов в ряду поколений *D. magna* оказалась информативна для исследования возможного отсроченного действия веществ.

**Ключевые слова:** биотестирование, *Daphnia magna*, хроническая токсичность, тест-функция, поколения *Daphnia magna*.

### Введение

Представители низших ветвистоусых ракообразных *Daphnia magna* Straus используются как тест-организмы в токсикологических исследованиях уже свыше 65 лет. Одной из первых публикаций в этом направлении считается классическая работа Э. Науманна «*Daphnia magna* Straus als Versuchstiere», опубликованная в 1933 г. (Naumann, 1933). Более ранние зарубежные исследования касаются биологии и экологии дафний (Brown, 1929). В России первые работы по применению рачков *D. magna* в биотестировании принадлежат Н. С. Строганову и его ученикам, а также Л. А. Лесникову (Строганов, 1968; Строганов, Исакова, Колосова 1989; Лесников, 1971).

В настоящее время разработано несколько десятков методик биотестирования, основанных на оценке разнообразных тест-функций *D. magna*. Среди них можно выделить аттестованные методики, наиболее распространенной из которых является определение токсичности различных объектов анализа по гибели и плодовитости дафний (ФР.1.39.2007.03222..., 2007). В многочисленных научных исследованиях предлагается оценивать как морфологические (Лесников, Мосиенко, 1992), физиологические (Meijering, 1999), так и биохимические параметры жизне-способности *D. magna* (Лузгин, 1983).

Относительно короткий жизненный цикл развития *D. magna* и партеногенетическое размножение рачков дает возможность проводить как пожизненные эксперименты, так и наблюдать за несколькими поколениями дафний, находящихся под исследуемым воздействием. Эффекты биоаккумуляции веществ и отсроченные во времени эффекты до сих пор остаются недостаточно исследованными. Целью работы стала реализация биотеста по ответным реакциям *Daphnia magna* в трех поколениях для оценки его информативности при исследованиях действия веществ, качества природных и техногенных сред.

### Материалы и методы

Объектом представленных исследований служила стандартизированная лабораторная культура *Daphnia magna* Straus, содержащаяся в климатостате при 12-часовом светопериоде с освещением 600 лк, температуре  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Модельные эксперименты проводили с использованием молоди *D. magna* (возраст не более 24 ч.), полученной от синхронизированной по возрасту культуры за счет партеногенетического размножения материнской самки *D. magna*. Объем тестируемой среды – 100 мл, где содержалось по 10 особей *D. magna*. Количество параллельных определений в опытах – 4.

Для количественной оценки летальных и сублетальных эффектов и установления их диагностической ценности, проводили биотестирование природной воды питьевого качества, загрязненной соединениями стронция (модельный эксперимент). Эффекты оценивали в трех поколениях *D. magna*. Первым поколением считаем тех особей, которые были получены от синхронизированной культуры *D. magna* и помещены в контрольные и опытные пробы. Второе и третье поколение – это молодь от соответствующего предыдущего поколения, полученная уже в ходе эксперимента.

Для постановки эксперимента со вторым и третьим поколением первые немногочисленные приплоды не использовали. Модельные группы F2 и F3 формировали из массовых приплодов в середине жизненного цикла дафний.

Эксперимент проводился в климатостате, смену тестируемых растворов осуществляли на каждые 5-е сутки. Время эксперимента с каждым поколением рачков не стали ограничивать 24 сутками, рекомендованными аттестованной методикой (ФР.1.39.2007.03222, 2007), а продлили до 75 суток, что позволило выявить динамику гибели взрослых особей и их плодовитости.

Модельным токсикантом был выбран хлорид стронция, в котором в качестве токсичного агента выступает ион стронция. Стронций согласно гигиеническому нормативу качества воды водных объектов рыбохозяйственного назначения относится к веществам II класса опасности, ПДК составляет всего  $0,4 \text{ мг/дм}^3$  (ГН 2.1.5.1315-03, 2007). Нерадиоактивный стронций является спутником кальция, поэтому загрязнение им природных вод наблюдается близ гипсоносных отложений, доломитов, известняков (Перельман, 1989). Также может выщелачиваться из сырья и отходов химических производств, включаясь в комплексное загрязнение промышленных районов. Негативное влияние стронция на организм человека доказано (Полякова, 2012). Есть сведения о его токсичном действии на растения, в частности блокирование  $\text{K}^+$ -каналов клеток корня (Ивашкина, Соколов, 2006).

Математическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов, вычисляя среднее арифметическое ( $M$ ), его ошибку ( $m$ ) и стандартное отклонение ( $S$ ). В табличном виде результат приводим в виде  $M \pm S$ . Достоверность различий сравниваемых значений доказывали с использованием критерия Стьюдента с учетом уровней значимости ( $p$ ), вычисленных для двух сравниваемых значений. Для расчетов использовали Microsoft Excel.

## Результаты

Тестировались растворы хлорида стронция, содержащие 2,5 и 5 ПДК в расчете на ион стронция. Вещество вводилось в артезианскую воду питьевого качества, контролем служила эта же вода без добавок. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Влияние хлорида стронция на смертность и патологические явления у *D. magna*

Вариант	Поколение	Смертность взрослых особей*, %			Количество абортивных яиц**	Количество мертвой молодежи**
		25 день	50 день	75 день		
Контроль	F1	0	2,5	80,0	0	0
	F2	0	5	86,7	2	0
	F3	0	3,3	83,5	1	0
2,5 ПДК	F1	12,5	32,5	92,5	39	8
	F2	15	62,5	92,5	54	4
	F3	25	82,5	90,0	97	9
5 ПДК	F1	10,0	46,7	100	14	8
	F2	6,7	46,7	90,0	28	6
	F3	16,7	73,3	95,0	37	5

Примечание: \* - стандартное отклонение не более 20% от среднего; \*\* - количество абортивных яиц и мертвой молодежи приведено как сумма для четырех параллельных определений.

В кратковременных экспериментах (4 дня) загрязнение воды стронцием на уровне 2,5 и 5 ПДК не оказывало влияния на рачков. Долговременные эксперименты позволили выявить ряд токсических эффектов. Смертность взрослых особей на 25 день во всех опытных вариантах, кроме одного, не выходила за пределы критических 20%, рекомендованных аттестованной методикой как критерий хронической токсичности, но в сравнении с контрольными показателями негативное влияние токсиканта уже проявилось. Тенденция переходит в математически значимую на 50 день опыта. Причем каждое последующее поколение все менее жизнеспособно.

В течение опыта во всех вариантах с воздействием стронция отмечали появление мертвой молодежи. Даже невысокие значения этого показателя являются признаком хронического токсического действия тестируемой пробы (Hanazato, 1998).

Известно, что патологические изменения развития партеногенетических яиц могут являться диагностическими признаками негативного влияния на дафний (Sobral et al., 2001). В нашем эксперименте абортивные яйца в контрольных вариантах единичны, тогда как в опытных их количество варьирует от 14 до 97 (в сумме на 4 параллельных определения). Отторгаемых яиц больше при добавке 2,5 ПДК, чем 5 ПДК. Это объясняется тем, что в менее загрязненной пробе к середине опыта оставалось больше живых рачков. Они и обеспечили этот показатель. Мертворожденная молодежь также регулярно появлялась при воздействии стронция, в отличие от контроля.

На фоне общего угнетения особей и описанных негативных явлений, плодовитость рачков оказалась достоверно ниже контрольных значений (табл. 2). Приведена плодовитость по 50 день, так как после гибели в эксперименте более 50% особей, расчет на одну самку дает завышенные показатели.

Плодовитость контрольных модельных популяций варьировала от 10,2±1,5 до 13,4±2,3 до 24 дня эксперимента включительно. В следующем оцениваемом периоде



Таблица 2. Влияние хлорида стронция на плодовитость *D. magna*

Вариант	Поколение	Плодовитость, количество особей на 1 взрослую самку		Плодовитость, % от контрольного значения за 50 суток
		1 – 24 сутки	25 – 50 суток	
Контроль	F1	13,4±2,3	15,4±2,9	-
	F2	10,2±1,5	15,8±1,3	-
	F3	11,3±0,5	14,9±1,8	-
2,5 ПДК	F1	9,4±0,6	7,0±0,4	56,9
	F2	7,8±1,1	6,2±0,9	53,8
	F3	2,5±0,5	2,6±0,4	19,5
5 ПДК	F1	9,4±0,6	7,2±1,1	57,6
	F2	8,4±1,2	7,8±2,0	62,3
	F3	2,3±0,5	0	8,8

наблюдалось постепенное возрастание способности к размножению до 15,8±1,3 особей на 1 взрослую самку, что закономерно связано с наступлением пика жизненного цикла рачков. Достоверных различий в показателях плодовитости контрольных вариантов трех поколений выявлено не было. Это говорит о равно-мерном развитии каждого следующего поколения и возможности долговременного существования модельных популяций *D. magna* в созданных условиях.

Плодовитость дафний во всех опытных вариантах оказалась достоверно угнетена по сравнению с соответствующим контролем ( $p < 0,05$ ). При этом в опытных вариантах показатель снижался в поколениях, достигая в третьем поколении варианта 5 ПДК всего около 9% от контрольного показателя (различия достоверны,  $p = 0,03$ ), что свидетельствует о несовместимости исследуемого уровня загрязнения стронцием с жизнеспособностью популяции *D. magna*. Различия в количестве потомства у первого поколения рачков и второго, находящихся под воздействием стронция, в большинстве случаев не достоверны. Сравнивая фертильность первого и третьего поколения, тенденция снижения плодовитости достигает математически значимого уровня.

### Заключение

Таким образом, эксперименты по установлению хронического токсического действия, продленные длительный период всей жизни тест-организма, а также выполненные в нескольких поколениях, являются высоко информативными для подробного исследования действия веществ. Такие опыты позволяют исследовать динамику гибели взрослых особей, продолжительность жизни, в том числе в сериях поколений, количество абортивных яиц, появление недоразвитой и мертвой молодежи. Недостатками такого биотестирования является его трудоемкость и длительность по сравнению с другими методами. В силу этого описанный подход не становясь массовым, может найти свое применение в исследованиях, ориентированных на изучение механизмов действия веществ, особенностей их токсикодинамики.

### Цитируемая литература

- ГН 2.1.5.1315-03. Предельно-допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. 2003 (с изменениями на 28 сентября 2007 года)
- Ивашкина Н.В., Соколов О.А. Блокирование калиевых каналов клеток корня тяжелыми металлами и стронцием // Агрехимия. 2006. № 12. С. 47-53.

- Лесников Л.А., Мосиенко Т.К. Приемы биоиндикации, биотестирования при текущем надзоре за загрязненностью водных объектов и выявлении превышения их ассимилирующей способности. Методические указания. С.-Пб.: ГосНИОРХ, 1992, 79 с.
- Лесников Л.А. Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971.
- Лузгин В.К. Морфофизиологические изменения дафний при кратковременном воздействии солей тяжелых металлов, их обратимость и влияние на продуктивность популяции: Дисс. ... канд. биол. наук.: Л.: ГосНИОРХ, 1983. 203 с.
- Перельман А.И. Геохимия. М.: Высш. шк. 1989. 528 с.
- Полякова Е.В. Стронций в источниках водоснабжения Архангельской области и его влияние на организм человека // Экология человека. 2012. № 2. С. 9-14.
- Строганов Н.С., Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Метод биотестирования качества вод с использованием дафний // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. 1989. Вып. 1. 78 с.
- Строганов Н.С. Методика быстрого определения токсичности водной среды // Вестник МГУ. Сер. Биология. 1968. № 3. С. 40-46.
- ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний, 2007.
- Brown I.A. The natural history of Cladocerans in relation to Temperature. Temperature coefficient for development // Amer. Nat. 1929. № 63, p. 346 – 352.
- Naumann E. *Daphnia magna* Straus als Versuchstiere // Kgl. Fysiog. Saliskap, Lund forhunde. 1933. № 2. P. 1-49.
- Meijering M. P. D. Herzfrequenz und Lebensablauf von *Daphnia magna* Straus. Zs. wiss. Zool, 1999. P. 3-4.
- Sobral O., Chastinet C., Nogueira A., Soares A., Goncalves F., Ribeiro R. In vitro development of parthenogenetic eggs: a fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*? // Ecotox. Environ. 2001. Saf. 50. P. 174-179.

### **Благодарности**

Выражаю благодарность и восхищение научному руководителю - Тамаре Яковлевне Ашихминой. Благодарю Любовь Владимировну Кондакову за всестороннюю поддержку и помощь.

### **EVALUATION OF THE TOXIC EFFECTS OF A NUMBER OF GENERATIONS AS AN APPROACH *DAPHNIA MAGNA* BIOASSAY** **Olkova A.S., Kantor G.Ya.**

The bioassays using *Daphnia magna* Straus are most widespread in the modern control of quality of natural and man-made environments. Test functions used in this research are the morphological, physiological and biochemical indicators of the viability of the crustaceans. We tested the method based on an assessment of the status of three generations of *D. magna*, which were exposed to the influence of toxicant. The first generation - young specimens received from parent females per first litter. The second and third generation were formed of the other mass litters in the course of the experiment. This method was tested in a model experiment. A resting environments were used natural water containing additives 2.5 and 5 MPC strontium chloride (based on ion). The acute toxic effects were not observed for the first generation. All effects were delayed in time with the trend increasing from the first to the third generation. The dynamics of death of adult individuals indicates a natural weakening of each successive generation. Peaks of fertility are shifted under the influence of the toxicants to the first half of the life cycle of animals. At the same time in the control the maximum of average fertility is achieved in age between 25 to 50-day of life. The fecundity of copepods was significantly reduced with increased oppression in each successive generation. Number of abortive eggs and dead youth is growing. Assessment of the toxic effects of in several generations *D. magna* was informative to investigate the possible delayed effect of substances.

# ХРОНИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА ВЗРОСЛЫХ РЫБ (*NOTHOBRANCHIUS RACHOVI*)

Ордзоникидзе К.Г. Пельгунова К.А. Крысанов Е.Ю.

Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова, Москва, Россия;  
chiris.ordj@gmail.com

## Аннотация

Исследовали хроническое действие низких концентраций наночастиц диоксида церия на взрослых рыб. В качестве объекта исследования были выбраны *Nothobranchius rachovi*, которые характеризуются небольшой продолжительностью жизни и минимальным числом хромосом среди известных рыб. Использовали диоксид церия "Sigma" (544841) размерами <100 нм в концентрации 1 мг/л. Рыб содержали в 15 л аквариумах при температуре 28°C с аэрацией, кормили живым кормом. Воду в аквариумах меняли еженедельно (1/3 объема) внося соответствующее количество диоксида церия. Концентрацию диоксида церия измеряли в воде и осадках с помощью рентгенофлуоресцентного спектрометра PicoFox ("Bruker", Германия). Длительность эксперимента составила 45 суток. Генотоксичность диоксида церия оценивали на основе комет-теста и частоты aberrаций хромосом. Основная масса диоксида церия достаточно быстро оседала и концентрации в осадке составляли от 1,5 до 4,5 г/л по цезию. В воде концентрация диоксида церия была невелика и составляла примерно 0,1 -0,5 мг/л. Пробы для оценки генотоксичности готовили из предпочки и семенников рыб. Результаты показали, что частота aberrантных клеток в контроле составила 0,78%, тогда как для рыб, экспонированных в присутствии наночастиц диоксида церия, она оказалась равной 4,9%. Тест ДНК-комет показал следующие результаты: ДНК в «хвосте» комет для предпочки в контроле 3,98%, в опыте 7,31%, для семенника соответствующие показатели были 4,55% и 9,0%. Таким образом, полученные данные указывают на то, что при хроническом действии даже невысокие концентрации наночастиц диоксида церия могут оказывать генотоксическое действие на рыб. Это, вероятно не является результатом прямого воздействия наночастиц на геном рыб. Вероятнее всего, наночастицы могут оказывать косвенное воздействие, результатом которого является повреждение генетического аппарата.

**Ключевые слова:** наночастицы, диоксид церия, генотоксичность, *Nothobranchius rachovi*

## CHRONIC EFFECTS OF CERIA NANOPARTICLES ON ADULT FISH (*NOTHOBRANCHIUS RACHOVI*)

Ordzhonikidze K.G., Pelgunova K.A., Krysanov E.Yu.

A.N.Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow, Russia

Experimental data demonstrate that there may be observed genotoxic effects after chronic exposure (45 days) of fishes to ceria nanoparticles even at low concentrations. Chromosome aberration test showed significantly higher frequency of aberrant cells, while Comet Assay showed the same for the % of DNA in the comet "tail" in head kidney and testis. This is probably the result of indirect action of ceria nanoparticles which leads to genetic apparatus damage.

# БИОИНДИКАЦИОННЫЙ И ЭКОЛОГО-ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ КОМПЛЕКСОВ МОРСКИХ ГРИБОВ

Пивкин М.В.

ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток, Россия; oid27@mail.ru

## Аннотация

В последние годы возрос интерес к экологическим исследованиям морских и эстуарных местообитаний в связи с необходимостью оценки устойчивости экосистем к антропогенному воздействию. Это связано с развитием производства в прибрежных районах, что усиливает сток загрязняющих веществ, с интенсивным освоением шельфа, добычей полезных ископаемых, усилением транспортной и рекреационной нагрузки на прибрежные морские экосистемы. Традиционно системы санитарно-гигиенических нормативов водных бассейнов основаны на химических анализах загрязняющих веществ. Такой подход не учитывает устойчивости экосистем, которая реализуется как за счет их стабильности, так и за счет регенерации. Поэтому все больше завоевывает популярность биотический подход к экологическому контролю. Микобиота материковых, пресных водоемов имеет радикальные отличия от морского грибного населения. Материковые водоемы преимущественно заселены представителями водных плесеней (*Oomycota-Stramenopila*), специфическими «инголдовыми грибами», водными аскомицетами. Представители вторичноводных грибов (факультативных, терригенных) встречаются редко, либо в моменты экологических катастроф. Представители «водных плесеней», имеющие большое биоиндикационное значение в пресных водоемах, в море не встречаются. Основу морской микобиоты составляют настоящие грибы (*Mycota*). По данным наших исследований, в различных акваториях северо-восточной части Тихого океана микобиота представлена 210 видами мицелиальных грибов из 72 родов, в основном видами морфологической группы Анаморфных грибов (117 видов из 36 родов) и *Ascomycota* (14 видов из 9 родов), среди которых преобладают виды родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Geomyces*. Одним из наиболее богатых субстратов по видовому разнообразию грибов в морских местообитаниях, являются подводные почвы (акваземы). Изменение биоразнообразия, численности грибов и выравнивания обилий видов обусловлено гранулометрическим составом подводных почв, концентрацией в них органических веществ, а также антропогенной нагрузкой (содержание биогенных элементов и углеводородов нефти). С увеличением антропогенной нагрузки существенно изменяется их качественный состав. Специфичность распространения грибов в условиях шельфа позволяет использовать индикаторные свойства отдельных видов грибов: массовое развитие *Geomyces pannorum* (Link) Sigler et J.W. Carmich., *Wardomyces inflatus* (Marchal) Hennebert и стерильного мицелия связано с концентрацией органического углерода в акваземах, *Acremonium charticola* (J. Lindau) W.Gams и *A. fuci* Summerb., Zuccaro et W. Gams – с высоким содержанием кремния, видов рода *Aspergillus* – с высоким содержанием углеводородов нефти, *Acremonium rutilum* W. Gams, *Phialophora* sp., *Emericellopsis glabra* (J.F.H. Веума) Backus et Orpurt, *E. terricola* J.F.H. Веума, *E. minima* Stolk – с низкими концентрациями соли в морской воде, а замещение обычных видов видами рода *Scopulariopsis* и несвойственными морской среде обитания видами *Beauveria*, массовое развитие стерильного мицелия, показывает повышенное антропогенное воздействие на морские сообщества. Остается открытым вопрос о влиянии на морские грибы других поллютантов: тяжелых металлов, фенолов, ПАВ, фосфорорганических соединений. Эти факты показывают, что видовой состав комплексов морских грибов отражает состояние и экологическую устойчивость морских ценозов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-02572.

**Ключевые слова:** морские грибы, биоиндикация.

# CHLOROPHYLL FLUORESCENCE PARAMETERS OF VARIOUS PLANT (MOSS ANTHOCEROS AND PEPPERWORT-SALAD) FOR ENVIRONMENT QUALITY ESTIMATION

Pikulenko M.M., Bulechev A.A.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; pikulenkomarina@mail.ru

The monitoring of ecological characteristics of biological systems may include the measuring of the physiological parameters of the cells organelles and the membrane complexes. In the case green plants, analysis of chlorophyll fluorescence provides considerable information about primary reactions of photosynthesis, including the efficiency of charge separations in photosystem II (PSII), the rate of linear electron transport, and “energy-dependent quenching” related to the pH gradient ( $\Delta\text{pH}$ ). In addition to  $\Delta\text{pH}$ , the transmembrane electric potential of thylakoids is crucial for energy conversion. The choice of a hornwort *Anthoceros* is substantiated by such advantages as the feasibility of simultaneous measurements of the chloroplast membrane potential, the electric potential changes at the cell membrane, and changes in chlorophyll fluorescence parameters occurring upon the absorption of photosynthetically active radiation (PAR). Its thin thallus facilitates the access of substances from the outer medium to the cell surface, which is important for testing the action of physiologically active agents on photopotentials of the chloroplast and cell membranes. The use of small-size thalli necessitates the application of sensitive fluorometric devices collecting light emission from the area of 0.01 to 10 mm<sup>2</sup>. Specialized fluorometers – a Microscopy-PAM (Walz, Germany) based on the saturation pulse method and a plant efficiency analyzer (PEA, Hansatech, United Kingdom) designed for measurements of the fluorescence induction curves with a time resolution of 10<sup>-6</sup> s – fully meet these requirements. The Microscopy-PAM device allows measurements on microscopic parts of a thallus such parameters as the quantum yield of the charge separations in PSII ( $\Delta F/F_m'$ ), coefficient of photochemical quenching related to the redox state of PSII primary acceptor, and the coefficient of nonphotochemical quenching indicative of energy-dependent fluorescence quenching related to  $\Delta\text{pH}$  formation in the thylakoids. So we suggest for environmental impact assessment as a test-objects the moss *Anthoceros* and 10-day pepperwort-salad seedlings simultaneously. Integrated impact assessment of adverse conditions on the parameters of photosynthetic activity of moss *Anthoceros* is perspective, despite the difficult regulatory relationship between photosynthesis and membrane processes. Study of fluorescence parameters of pepperwort-salad for estimation the oil pollution of water in terms of salinity showed nonspecific reaction.

## ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ПРИ ОЦЕНКЕ РИСКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ

Поромов А.А.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>1,2</sup>, Шитиков В.К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия; aap1309@gmail.com

### Аннотация

Работа посвящена обсуждению проблем, связанным с использованием экстраполяции при оценке экологических рисков. В лабораторном эксперименте невозможно точно воспроизвести все комбинации факторов и условий воздействия на компоненты биосистем, как и невоз-

можно (или нежелательно) получить необходимые для предсказания или прогноза экологических событий результаты оценки воздействий непосредственно *in situ*. Вероятность неблагоприятных изменений в анализируемой экосистеме чаще всего диагностируется по ретроспективным данным. Лабораторные токсикологические эксперименты могут рассматриваться лишь как часть (или отдельный элемент) комплексной системы оценки экологического риска, в частности, такой комплексной системы как TRIAD approach. Можно выделить три основных метода экстраполяции эффектов от лабораторных биотестов на оценку природной экосистемы. Самый простой из них основан на предположениях интуитивной аналогии, базирующихся на традиционном опыте или гипотетическом понимании возможных механизмов воздействия. Второй основан на относительно простых вычислениях соотношений опасности в лабораторных и реальных условиях и экспертной оценке коэффициентов масштабирования. Наконец, с конца XX века началось использование вероятностных методов, основанных на статистических моделях доза-эффект и/или специально взвешиваемых наборах данных. Поскольку большинство экстраполяций делается в отсутствии реальных данных, одной из важнейших задач статистического анализа является обоснование меры неопределенности, которая задает необходимый запас прочности при охране социально значимых организмов. Разумеется, при накоплении более представительных данных (полевые наблюдения, исследования на микро- и мезокомах) мера неопределенности в экстраполяции эффектов может быть уменьшена или, по крайней мере, лучше характеризована.

**Ключевые слова:** экстраполяция, оценка риска, мера неопределенности, распределение чувствительности видов, биотестирование

## Введение

### 1. Экстраполяция в контексте оценки вредного воздействия на природную среду

#### 1.1. Терминология и принципы использования экстраполяции при оценке риска

*Экстраполяцией* называется использование реально располагаемой информации для предсказания или прогноза событий в другой ситуации, которая по своим биологическим характеристикам, временным параметрам или пространственному расположению отличается от условий, в которых были получены имеющиеся данные [1]. Экстраполяция является неотъемлемой частью процесса установления экологических критериев качества среды (environmental quality criteria – EQC) и проведения оценки экологического риска (environmental risk assessments – ERAs) от воздействия химических веществ [2-7]. Экстраполяция обычно используется для многих целей и в различных сферах деятельности: от выполнения формализованных предписаний контролирующих органов (US Environmental Protection Agency [USEPA] 1992, 1998; European Union, 1997) до частных или специализированных исследований.

Риск в общем случае может оцениваться как при выполнении некоторой локальной специальной программы (specific risk), так и обобщенно в рамках крупного географического региона (general risk). В первом случае выделяются только некоторые специфические компоненты (индикаторные виды растений или животных, конкретные вещества или способы их распространения, локальные участки и т.д.). При этом для большинства токсикологических оценок используют полученные в лаборатории данные эффекта для тест-организмов, адаптированных к контролируемым стандартным условиям обитания организмов, которые экстраполируются на организмы в окружающей среде, непосредственно в которой биотестирование проведено быть не может. Поэтому лабораторные токсикологические эксперименты могут рассматриваться лишь как часть (или отдельный элемент) комплексной системы оценки экологического риска [33-35].

Комплексные оценки риска обычно более консервативны, поскольку должны предусматривать все возможные воздействующие факторы и чувствительные эле-

менты изучаемой среды. Здесь важно сначала точно структурировать проблему, идентифицировать главные компоненты (дозы воздействия и эффекты) и характер их синергизма. На основе постоянно накапливаемых данных с помощью критериев качества среды EQC происходит последовательный (шаг за шагом по мере устранения имеющейся неопределенности) анализ диапазонов риска, что является руководством по принятию решений в области природоохранной деятельности.

При этом используются три основных метода экстраполяции эффектов от лабораторных биотестов к анализируемой натурной экосистеме. Самый простой из них основан на предположениях интуитивной аналогии, базирующихся на традиционном опыте или гипотетическом понимании возможных механизмов воздействия. Второй основан на относительно простых вычислениях соотношений опасности в лабораторных и реальных условиях и экспертной оценке коэффициентов масштабирования. Наконец, с конца XX века началось использование вероятностных методов, основанных на статистических моделях доза-эффект и/или специально взвешиваемых наборах данных. Поскольку большинство экстраполяций делается в отсутствие реальных данных, одной из важнейших задач статистического анализа является обоснование меры неопределенности (uncertainty factor – UF), которая задает необходимый «запас прочности» при охране социально значимых организмов. Разумеется, при накоплении более представительных данных (полевые наблюдения, исследования на микро- и мезокосмах) мера неопределенности в экстраполяции эффектов может быть уменьшена или, по крайней мере, лучше характеризована.

Самый простой способ учета мер неопределенности при экстраполяции – это использование детерминированных коэффициентов запаса или в иной терминологии индексов опасности HQ (hazard quotients), которые представляют собой отношение пороговой концентрации в тестовых организмах к предлагаемому экологическому нормативу. Например, USEPA использует «запас прочности»  $HQ = 100$  для того, чтобы экстраполировать результаты острых лабораторных испытаний по 1-2 видам гидробионтов на возможный токсический эффект пестицидов в водной среде, или  $HQ = 10$ , если проводился хронический эксперимент на представителях трех или более таксономических групп [USEPA]. Если имеется более чем один фактор неопределенности, индексы опасности должны быть перемножены и в ситуациях при недостаточных данных общий HQ может стать нереально большим ( $10^5 - 10^6$ ).

## 1.2. Использование SSD и других методов статистической экстраполяции

Если имеется достаточное количество ретроспективных биоиндикационных данных, по большому спектру химических токсикантов, то становятся доступны формальные методы получения статистической меры неопределенности. Если при этом доступны результаты лабораторных испытаний для организмов, представляющих достаточно большое количество таксономических групп (или видов), то становится реализуем один из таких подходов как построение распределений чувствительности видов (species sensitivity distribution – SSD [4, 10]). Кривые SSD могут быть построены на основе экспериментальных данных, динамика которых связана с определенным воздействием. Зависимости типа SSD ориентированы на оценку экологического риска на уровне сообщества, где видовая избыточность и устойчивое функционирование могут играть важную роль в поддержании гомеостаза.

Кривая SSD строится по ранжированному ряду показателей токсикометрии ( $LC_{50}$  или  $NOEC$ ) для различных видов по отношению к анализируемому поллютанту (точки на рис. 1). Этот вариационный ряд может быть использован для аппроксимации эмпирических точек подходящей параметрической функцией статистического распределения, такого как нормальное или логнормальное. Графически зависимость SSD от воздействующего фактора обычно представлена как кумулятивная кривая

распределения чувствительности видов CDF (*Cumulative Distribution Function*) с рассчитанной границей доверительного интервала (рис. 1). Этот метод дает прямую оценку концентрации поллютанта  $HC_p$ , которая будет опасной для  $p\%$  видов, существующих в сообществе ( $p$  – любой директивно заданный вероятностный порог, например,  $p = 5\%$ ) [11-12].

Попытка при помощи SSD и подобных методов статистической экстраполяции распространить содержательные выводы, полученные на ограниченной выборке данных о реакции видов в лабораторных условиях, на различные экосистемы основана на не вполне корректных предположениях и вызывает многочисленные критические замечания. Во-первых, условия химического воздействия на животных при лабораторных испытаниях могут сильно отличаться от полевых условий по самым важным факторам: условиям экспозиции, миграции загрязняющих веществ к рецепторам живых организмов, характеру биоаккумуляции, и т.д. Во-вторых, представленный метод оценки экологических рисков, по сути, никак не использует информацию об экологии сообществ (межвидовых взаимодействиях, трофических связях, условиях среды обитания или относительной значимости ключевых видов и функциональных групп). Оценка безопасных концентраций ксенобиотиков требует анализа их воздействия на таксономически разнообразные сообщества. Для экспериментальных исследований желательно использовать представителей нескольких родов или семейств. Виды же для лабораторного биотестирования обычно отбираются по специфическим критериям, которые включают стабильную чувствительность к токсикантам, генетическую и физиологическую однородность, способность к культивированию в контролируемых стандартных условиях и зачастую на искусственных питательных средах. Тем не менее, использование для оценки экологического риска в естественных экосистемах лабораторных данных о токсичности, полученных для отдельных тест-видов, предоставляет специалистам полезную информацию о степени безопасности среды обитания.

В настоящее время в дополнение к оценкам риска, основанным на лабораторных биотестах, регулярно выполняются полевые наблюдения и выборочные эксперименты, чтобы изучить обобщенные эффекты воздействия загрязняющих веществ на уровне сообщества или целостной экосистемы, а также данные химико-аналитических исследований. Примером такого интегрального анализа качества среды обитания может служить так называемый Триадный подход (TRIAD approach), впервые предложенный Питером Чапменом [33-35] для анализа степени опасности загрязненных донных отложений. В качестве другого примера моделирования оценки меры неопределенности UF, основанной на многократных наблюдениях, можно привести PERPEST - систему предсказания экологического риска воздействия пестицидов [13].

### **1.3. Экосистемные параметры, используемые для оценки качества среды**

В системах оценки качества среды объектом внимания являются не столько индивидуальные организмы (за исключением особей вымирающих видов), а популяции и сообщества в их естественной окружающей среде обитания. Обычно под устойчивым функционированием биоценозов понимается поддержка популяционной численности доминирующих видов, уменьшение или резкое увеличение которой считается, как правило, неблагоприятным откликом экосистемы на внешнее воздействие.

Выбор основной стратегии природоохранной деятельности с выбором итоговых оценочных критериев обычно основывается на экологическом знании или на представлениях о ценности для человека. Например, есть общая тенденция выбрать приоритетными поддержание функциональной целостности, если популяции потенци-



ально затронутых организмов могут относительно быстро восстановиться после воздействия или имеют низкую привлекательность (бактерии и грибы в почве, морские водоросли). Для сообществ, которые имеют низкий потенциал восстановления или высокую шкалу оценки (птицы, рыбы или киты), ставятся структурные цели защиты, такие как абсолютные численности популяций. Относительно эстетической ценности используемые критерии могут быть вполне эфемерными и часто меняются. Кроме того, социальные ценности обычно связаны с культурными традициями и с уровнем экономического и социального развития.

## 2. Типы экстраполяции

### 2.1. Экстраполяция значений отклика вне диапазона наблюдаемых данных

Если эксперимент проводился на некотором интервале уровней воздействия, то задача экстраполяции – оценить величину отклика вне диапазона наблюдений, по которым получены данные соотношения "доза-эффект". Она обычно используется, чтобы, например, по значениям  $LC_{50}$  вычислить концентрации, приводящие к более низкому эффекту, такие как  $LC_{10}$ ,  $LC_{25}$  или "эталонные дозы"  $LC_5$ , NOEC и т.д.

Большинство способов такой экстраполяции основаны на различных статистических моделях "доза – эффект". В контексте острого токсического эксперимента хорошо изучены и широко используются модели пробита [23]. Однако ни одна из этих моделей не может надежно оценить пороговые значения биологического отклика, поскольку при малых воздействиях традиционная линейная зависимость может приобретать существенно нелинейный стимулирующий характер или иметь форму гормезиса [24]. Здесь, разумеется, важную роль играют использование априорных предположений о механизмах развития процессов интоксикации и достаточный объем экспериментальных данных, чтобы обнаружить тонкие эффекты.

Важен также правильный выбор спецификации модели. Например, описан подход к оценке токсикологической эталонной концентрации (toxicological benchmark concentration – TBC), ниже которой эффект на заданном уровне отклика не наблюдается [25]. Метод основан на анализе распределения некоторого множества пороговых значений для различных условий эксперимента и моделей аппроксимации, на основе которого выбирается наиболее вероятное значение. На рисунке 2 показано, что модель пробита (probit) дает излишне заниженную оценку уровня воздействий в условиях низкого риска, тогда как более жесткие критерии получены с использованием многоступенчатой модели (multistage).

### 2.2. Матрицы свойств среды и их учет при экстраполяции

Окружающая природная среда включает в себя основные разделы, такие как воздух, вода, донные отложения, почвы, подземные воды. Термин "матрица" обычно связывается с набором физико-химических свойств каждой среды (например, для почв см. таблицу 1). Проблемы оценки причинно-следственных связей между компонентами матрицы одной среды (а тем более, между матрицами различных сред) являются весьма сложными и неоднозначными и зависят от изменений химических, физических, биологических и пространственных особенностей каждого местообитания [2].

Экстраполяции между местообитаниями различных сред должны учитывать физические и химические взаимодействия между компонентами матрицы и токсичным веществом. Эти взаимодействия могут увеличивать или уменьшать биологическую активность поллю--танта, поскольку, как правило, затраги--вают характер и механизмы биологического воздействия [26].

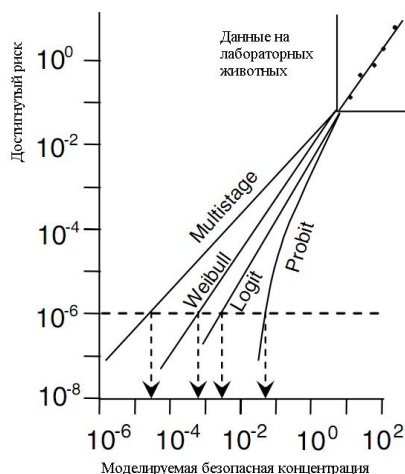


Рисунок 1. Экстраполяция диапазона концентраций по данным, полученным на лабораторных животных, и выбор эталонной безопасной дозы с использованием различных моделей

Примером модификации экотоксикологических процессов изменяющимися условиями среды является резкое увеличение чувствительности к токсикантам для эвригалинных рыб при их переходе из пресноводной в морскую окружающую среду. Является ли этот отклик следствием двойного стресса или происходит из-за изменений в механизмах биоаккумуляции – вопрос остается открытым. Другие примеры – влияние различных факторов на условия формирования нерастворимых комплексов металлов или адсорбционные свойства органического вещества в донных отложениях и почвах.

Таблица 1. Матрица факторов, которые могут модифицировать токсическое действие веществ на почвенные организмы

Свойства	Объяснение
Объемная плотность	Определяет наличие пор, доступных для воды и корней. Зависит от компонентного состава и структуры почвы
Тип минерализации	Эффект адсорбции токсикантов минеральными веществами
Распределение частиц почвы по дисперсности	Определяет размер поверхности гранул, где может иметь место адсорбция
Содержание влаги	Влияет на распространение, разделение и доступность токсикантов
Водо- и воздухопроницаемость	Способность почвы транспортировать воду или воздух
Структура	Определяет пористость почвы
pH	Влияет на форму, реакционную способность, растворимость, доступность и токсичность некоторых загрязняющих веществ
Ионный состав	Ионы могут вступать в химическую связь с токсикантами, блокируя или активируя их воздействие
Содержание металлов	В сочетании с солями щелочноземельных металлов и алюминием по различным механизмам комбинированного действия меняется токсичность тяжелых металлов
Содержание органического вещества, тип и % углерода	Изменяются адсорбционные свойства почвы в отношении тяжелых металлов и органических соединений
Температура	Определяет химическую активность токсикантов и интенсивность физиологических процессов в организмах

Как можно оценить возможные различия в чувствительности биоты к токсикантам между лабораторными и реальными полевыми условиями, которые вызваны дополнительными факторами условий обитания? Единая методика экстраполяции для различных сред и матриц их свойств в настоящее время отсутствует. Описано множество различных подходов, зависящих от поставленных задач, типа экосистемы и состава учитываемых параметров. В частности, описан [1,2] пошаговый метод соотношения воздействий и эффектов, где на каждом шаге проводится тем или иным детерминированным или вероятностным способом анализ взаимосвязи компонентов матрицы свойств для анализируемой среды.

### **2.3. Экстраполяция комбинированного действия нескольких факторов**

Организмы в окружающей среде редко подвергаются стрессу со стороны только одного изолированного компонента; однако, за редким исключением, большинство количественных методов оценок риска игнорируют эффекты комбинаторного действия смесей веществ. Биотический отклик для простых смесей может быть проверен в физических экспериментах, но это невозможно для сложных композиций с большим числом ингредиентов. Биотестирование сложных смесей основано на математических методах планирования эксперимента, где реакции на каждое из веществ смеси сопоставляются на различных уровнях воздействия. Поэтому реализуемость этих планов быстро уменьшается с числом анализируемых компонентов: например, исследование смеси из 3 веществ с варьированием концентрации каждого из них на 5 уровнях потребует выполнение теста на  $5^3$  (т.е. 125) полных экспериментальных группах. Разработка фракционных методов планирования [27] или использование комбинаций верхних процентилей концентраций могут быть полезными в определении порогов отклика для смесей, но не затрагивают кардинально сути проблемы.

Для экстраполяции токсичности смеси используется ряд моделей [5], но они заранее ориентированы на предположении об аддитивности концентраций для группы веществ с одинаковым типом биохимического воздействия. Оценка биоотклика на смесь небольших количеств веществ может быть также сделана с использованием фармакокинетических моделей. Например, при прогнозе максимально возможного токсического эффекта смесей хлорированных и нехлорированных углеводородов было установлено, что взаимодействие между ними угнетает метаболические процессы в организме человека при употреблении питьевой воды [28].

Для смесей веществ, которые имеют иной комбинаторный эффект (например, синергизм), необходимы оценки ковариации чувствительности для различных видов и для различных составов содержания компонентов. Поскольку получить эти оценки в ходе биотестирования, как правило, невозможно, то понятие порога обычно применяется к малым экологическим уровням воздействия. Это важно, поскольку экосистемы чаще всего испытывают влияние смеси химикатов при низких концентрациях, исключая возможные экологические катастрофы [5].

### **2.4. Экстраполяция режимов воздействия**

Часто задачей экстраполяции возможных эффектов является распространение оценок токсичности, полученных при одном режиме воздействия, на другие режимы (так называемая “временная экстраполяция”). Например, воздействия токсичных веществ могут быть случайными, непрерывными, пульсирующими, последовательно нарастающими или любая комбинация из них. Часто каждому из этих режимов соответствует свой механизм биохимического действия или характер интоксикации, связанные, например, с особенностями выведения, расщепления и аккумуляции вещества в тканях организма.

Особенно важен переход от результатов острого токсикологического эксперимента к прогнозам для хронических режимов воздействия, обычно характерных для реальных природных сред. Также вызывает интерес проблема отличий периодического (пульсирующего) режима воздействия от непрерывной экспозиции для веществ, которые быстро рассеивают в окружающей среде. Эти экстраполяции могут использовать данные модифицированных биотестов на стандартных видах или целостных экосистемах, моделирующих реалистические воздействия. Поскольку хронические лабораторные тесты являются более дорогостоящими и отнимающими много времени, то экстраполяция результатов острых или сокращенных тестов до NOEC часто осуществляется статистическими методами с использованием разработанных компьютерных программ [3].

Таким образом, экстраполяции экологических данных при оценке экологических рисков применяются на разных уровнях и способствуют решению различных прогностических задач.

1. Количественная связь между химической структурой и биологической активностью (QSAR) и компьютерные системы оценок межвидовых корреляций могут явиться реальной основой для прогнозирования токсичности и экологических нормативов. QSAR объединяет усилия по разработке совокупности компьютерных программ и баз данных, позволяющих оценить показатели токсичности непосредственно по химической структуре и физическим параметрам веществ.

2. Экстраполяция с учетом возраста особей или стадий их развития связана с возможными различиями в отклике на воздействие вещества для разных возрастных групп животных [6].

3. Экстраполяция с учетом уровней биологической организации связана с переносом данных, полученных в ходе лабораторного биотестирования или исследований на микрокосмах на популяционный уровень или к структурно более сложным экосистемам. Прогнозирующая ценность таких исследований зависит от многих факторов, имеющих отношение к потенциалу восстановления численности популяции и характеру биоиндикации. Здесь весьма полезно, например, использование популяционных и эволюционных моделей.

4. Экстраполяция с учетом аналогий механизма токсического действия для группы веществ основана на вполне уместном предположении, что характер воздействия этой группы на любую другую экосистему будет также подобным. Используемая при этом модель развития эффекта [32] осуществляет предсказание вероятности опасного воздействия для различных групп веществ, рассчитывает экосистемные уровни NOEC и оценивает экологические последствия превышения этих стандартов.

5. Временные экстраполяции важны в экотоксикологии, чтобы учесть изменения чувствительности организмов во время различных стадий развития. Синхронные действия в сообществах, такие как жизненные циклы лягушек или метаморфоз личинок водных насекомых, представляют специфическую проблему при временной экстраполяции, поскольку организмы периодически меняют свою чувствительность к токсикантам.

**6. Пространственные экстраполяции** данных о токсичности используются на большие пространственные расстояния, поскольку разделенные таким образом экосистемы могут существенно отличаться как по условиям распределения токсикантов, так и по уровню восприимчивости организмов.

Работа проводится в рамках Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

## Цитируемая литература

1. Solomon KR, Brock TCM, De Zwart D et al. Extrapolation in the Context of Criteria Setting and Risk Assessment. // Extrapolation Practice for ecotoxicological effect characterization of chemicals. Solomon KR, Brock TCM, De Zwart D et al. (eds.), 2008. SETAC Press & CRC Press, Boca Raton, FL, USA. P. 1-32.
2. De Zwart D, Warne-Lorscheider A, Forbes V et al. Matrix and Media Extrapolation. // Там же. P. 33-74.
3. Sanderson H, Dyer SD, Nabholz V. (Q)SAR and Extrapolation. // Там же. P. 75-104.
4. van den Brink PJ, Sibley PK, Ratte HT et al. Extrapolation of Effects Measures across Levels of Biological Organization in Ecological Risk Assessment. // Там же. P. 105-134.
5. Posthuma L, Richards SM, De Zwart D et al. Mixture Extrapolation Approaches. // Там же. P. 135-186.
6. Brock TCM, Solomon KR, Wijngaarden R et al. Temporal Extrapolation in Ecological Effect Assessment. // Там же. P. 187-222.
7. Brock TCM, Maltby L, Hickey CW et al. Spatial Extrapolation in Ecological Effect Assessment. // Там же. P. 223-256.
8. US Environmental Protection Agency [USEPA]. 1998. Guidelines for ecological risk assessment. Risk Assessment Forum. Washington (DC): US Environmental Protection Agency.
9. European Union. 1997. Council Directive 97/57/EC of September 21, 1997; establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Off J Europ Commun L265:87-109.
10. Posthuma L, Suter GWH., Traas TP, eds. Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. 2001. CRC Press.
11. Scott-Fordsmand J, Damgaard C. Uncertainty analysis of single-concentration exposure data for risk assessment-introducing the species effect distribution approach. // Environ Toxicol Chem 2006. 25:3078-3081.
12. Шитиков В.К. Экотоксикология и статистическое моделирование эффекта с использованием R. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2016. 149 с. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/Article/A42/ECotox.htm> (дата обращения 20.06.2016).
13. van den Brink PJ, Roelsma J, van Ness EH, Scheffer M, Brock TCM. 2002. PERPEST model, a case-based reasoning approach to predict ecological risks of pesticides. Environ Toxicol Chem 21:2500-2506. <http://www.perpest.alterra.nl> (accessed December 28, 2007).
14. Hill AB. 1965. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med 58:295-300.
15. Matthews RA, Landis WG, Matthews GB. 1996. The community conditioning hypothesis and its application to environmental toxicology. Environ Toxicol Chem 15:597-603.
16. Ehrlich PR, Ehrlich AH. 1981. Extinction: the causes and consequences of the disappearance of species. New York (NY): Random House, 305 p.
17. Ellis D. 1989. Environments at risk: case histories of impact assessment. New York (NY): Springer-Verlag, 329 p.
18. Domsch KH, Jagnow G, Anderson TH. 1983. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. Res Rev 86:65-105.
19. Tilman D, Wedlin D, Knops J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. Nature 379:718-720.
20. Harwell MA, Cooper W, Flaak R. 1992. Prioritizing ecological and human welfare risks from environmental stresses. Environ Managment 16:451-464.
21. Klepper O, Traas TP, Schouten AJ, Korthals GW, de Zwart D. 1999. Estimating the effect on soil organisms of exceeding effect concentrations (NOECs) of persistent toxicants. Ecotoxicol 8:9-21.
22. Organisation for Economic Co-Operation and Development [OECD]. 1992. Report of the OECD workshop on the extrapolation of laboratory aquatic toxicity data to the real environment. Environmental Monograph. No. 59. OCDE/GD (92)169. Paris (France).
23. Finney DJ. 1971. Probit analysis. London (UK): Cambridge University Press, 333 p.
24. Calabrese EJ, Baldwin LA. 2001. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. Crit Rev Toxicol 31:353-424.
25. Hanson ML, Solomon KR. 2002. New technique for estimating thresholds of toxicity in ecological risk assessment. Environ Sci Technol 36:3257-3264.
26. Hamelink JL, Bergman HL, Kimerle RA, Landrum PF. 1994. Mechanistic understanding of bioavailability. Boca Raton (FL): Lewis Publishers.
27. Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. 1978. Statistics for experimenters. New York (NY): John Wiley. 653 p.
28. Haddad S, Krishnan K. 1998. Physiological modeling of toxicokinetic interactions: implications for mixture risk assessment. Environ Hlth Perspect 106:1377-1384.
29. Asfaw A, Ellersieck MR, Mayer FL. 2004. Interspecies correlation estimations (ICE) for acute toxicity to aquatic organisms and wildlife. II. User manual and software. No. EPA/600/R-03/106. Gulf Breeze (FL): US Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Gulf Ecology Division. 14 p.
30. Biek R, Funk CW, Maxell BA, Mills LS. 2002. What is missing in amphibian decline research: insights for ecological sensitivity analysis? Conserv Biol 16:728-734.
31. Huggett RJ, Kimerle RA, Mehrle PM, Bergman H, editors. 1992. Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton (FL): Lewis Publishers, 347 p.
32. Brock TCM, Lahr J, van den Brink PJ. 2000a. Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems part 1: herbicides. No. 088. Wageningen (The Netherlands): Alterra, 124 p.

33. Chapman Dagnino Dagnino A., Sforzini S., Dondero F., Fenoglio S., Bona E., Jensen J., Viarengo A. A “Weight-of-Evidence” approach for the integration of environmental “Triad” data to assess ecological risk and biological vulnerability // *Integr. Environ. Assess. Manage.* 2008. № 4. P. 314–326.
34. Chapman P.M. The sediment quality Triad aProach to determining pollution-induced degradation/ P.M. Chapman// *Sci Total Environ.* –1990.– №97–98. –PP. 815–825.
35. Chapman P.M. A triad study of sediment quality associated with a major, relatively untreated marine sewage discharge/ P.M. Chapman, M.D. Paine, A, D, Arthur, L.A. Taylor// *Marine pollution bulletin*–1996 –V.32.–P. 47–64.
36. Chapman P.M. Weight-of-evidence issues and frameworks for sediment quality (and other) assessments/ P.M. Chapman, B.G. McDonald, G.S. Lawrence // *Human and Ecological Risk Assessment.*– 2002. –P:1489-5151.

## ANTIBIOTIC RESISTANT PATHOGENS INCREASING NEEDS COMPREHENSIVE ECOTOXICOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL APPROACH FOR RISK ASSESSMENT

**Poromov A.<sup>1</sup>, Kydralievа K.<sup>2</sup>, James A.<sup>3</sup>, Yang W-H.<sup>4</sup>, Terekhova V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Lomonosov MSU, Moscow, Russia, aap1309@gmail.com

<sup>2</sup>Moscow Aviation Institute, Moscow, Russia.

<sup>3</sup>Bharathidasan University, India,

<sup>4</sup>Zhejiang University, China

The unwanted effects of microbial growth have long been controlled through the use of antimicrobials such as antibiotics. Resistance can then reach the environment with the potential of adversely affecting aquatic and terrestrial organisms. Bacteria resistant to antibiotics in the aquatic environments were reported by several researchers in Russia, India and China. Hence, a major objective of molecular level epidemiological investigations can provide reliable and specific information regarding the etiology and mechanism of disease processes for disease prevention. On other hand, nano particles could be effective antimicrobial agents especially against antibiotic resistance pathogens. Nanoparticles antibiotic properties should be investigated as well as environmental toxicity.

**Keywords:** remedial nanoparticles, antibiotic resistance, pathogens, toxicity, environmental and epidemiological risk.

In recent years, resistance to commercially available antibiotics by pathogens has been increasing at an alarming rate. In the past, the uncontrolled use of pharmaceutical substances in human/ veterinary medicine, and aquaculture have increased the introduction of antibiotics to the aquatic environment (Metcalf et al., 2003; Dang et al., 2008). The excessive use of antibiotics creates new pressures on natural bacterial strains (Kümmerer, 2004). Many bacterial strains multiply rapidly, with cell cycles of 20–30 minutes at elevated temperatures which enhances their genetic adaptability to survive at any condition (Dang et al., 2006; Dahms, 2014). The traditional epidemiological technique has always been the hallmark approach to demonstrate associations between exposure to hazardous substances like microbes and development of diseases due to ‘antibiotic resistant’ (ABR) strains (Bonassi and Au, 2002).

The quantification of antibiotic resistant microbes and their epidemiological survey on water bodies are an innovative approach to provide firsthand information, and help to improve water quality/ human health. The relationship between the increases of human population size in urban areas causing environmental changes is well known. Human health risks associated with microbial vectors are a serious problem and may increase dramatically in the near future (NSTC, 1995). The most obvious ultimate source of fecal indicator and ABR bacteria to water bodies are humans, animals including wildlife,

shorebirds and domestic animals (Gerba, 2000; Meals and Braun, 2006; Dahms, 2014). The occurrence of antibiotic resistant bacteria is also increasing in aquatic environments and the transfer of resistant bacteria (transmission of R-plasmids in less than 1 minute) to humans could occur via water/ food, sewage sludge, and manure (Kümmerer, 2004; Al-Bahry et al., 2009). The improper/ overuse of antibiotics has probably contributed to multiple antibiotic resistances in normal and pathogenic strains. Transmission of R-plasmid determinants may occur in less than 1 minute and antibiotic resistance can spread rapidly among bacteria.

Epidemiological data have been used successfully in risk assessments to help setting drinking/ recreational water standards and the current level of emerging diseases spreading due to ABR strains. When a body of epidemiological studies exists that are of a quantitative design, with minimal bias and containing dose-response data, then regulations can be based directly on the data with little extrapolation and minimal uncertainty. As knowledge of ABR strain/ gene survival in drinking/ recreational water, new epidemiological studies should give knowledge/ awareness to the public and to scientists. Based on the information so far, there is no detailed study on quantifying antibiotic resistance from the study area.

The unwanted effects of microbial growth have long been controlled through the use of antimicrobials such as antibiotics. The resistance gene can be transferred through cell division (vertical) and conjugation (horizontal) (Arvanitidou et al., 1997). Resistance can then reach the environment with the potential of adversely affecting aquatic and terrestrial organisms (Nair et al., 1992; Metcalfe et al., 2003). Bacteria resistant to antibiotics in the aquatic environments were reported by several researchers (Kümmerer, 2004). A major objective of molecular level epidemiological investigations is to provide reliable and specific information regarding the etiology and mechanism of disease processes for disease prevention (Bonassi and Au, 2002; Vignesh et al., 2014).

In Russia, many aquatic environments have been used as a dumping ground for sewage, medicinal, fecal, agricultural, industrial and other waste products as well as intensive nanotechnological industry development. There are very few reports available studying antibiotic presence, antibiotic resistance in aquatic organisms belonging to different ecological niches (Chang et al., 2007), there is not any special directives of antibiotic ecotoxicity evaluation methods and risk assessment.

## References

- Al-Bahry S.N., Mahmoud I.Y., Al-Khaifi A., Elshafie A.E., Al-Harthy A. Viability of multiple antibiotic resistant bacteria in distribution lines of treated sewage effluent used for irrigation. *Water Sci Technol.* 2009;60(11):2939-48. doi: 10.2166/wst.2009.687.
- Arvanitidou M., Spaia S., Katsinas C., Pangidis P., Constantinidis T., Katsouyannopoulos V., Vayonas G. Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece. *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Apr;13(4):949-54.
- Bonassi S, Au WW. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat Res.* 2002 Mar;511(1):73-86.
- Chang Y.C.I, Shih D.Y., Wang J.Y., Yang S.S., 2007. Molecular characterization of class 1 integrons and antimicrobial resistance in *Aeromonas* strains from foodborne outbreak-suspect samples and environmental sources in Taiwan. *Diagnoses of Microbiological Infectious Diseases* 59(2):191-197.
- Dahms, H.-U., 2014. Section 2.1. Traditional microbiological methods. In *Biofouling Methods*, 1st Edition. Ed. S. Dobretsov, J.C. Thomason and D.N. Williams. John Wiley & Sons, Lt.: 45-51. [Book Chapter].
- Dang, H., Zhang, X., Song, L., Chang, Y., Yang, G., 2006. Molecular characterizations of oxytetracycline resistant bacteria and their resistance genes from mariculture waters in China. *Mar Poll Bull.* 52: 1494–1503.

- Gerba CP, Naranjo JE. Microbiological water purification without the use of chemical disinfection. *Wilderness Environ Med.* 2000 Spring;11(1):12-6.
- Kümmerer K. Resistance in the environment. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Aug;54(2):311-20.
- Meals DW1, Braun DC. Demonstration of methods to reduce E. coli runoff from dairy manure application sites. *J Environ Qual.* 2006 May 31;35(4):1088-100.
- Metcalf, C.D., Miao, X.S., Koenig, B.G., Struger, J., 2003. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada. *Environmental Toxicity and Chemo.* 22: 2881–2889.
- NSTC, 1995. Setting a new course for U.S. coastal ocean science. National Science and Technology Council, Committee on Environment and Natural Resources, NOAA, Silver Spring. M.D, 111.
- Vignesh, S., Dahms, H.U., Emmanuel K.V., Santhosh Gokul M., Muthukumar K., and James\*, R.A. (2014). "Physicochemical parameters aid microbial community? A case study from marine recreational beaches, southern India", *Environmental Monitoring and Assessment*; Vol. 186(3):1875-1887.

## **ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА НИЗКОДОЗОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТРИТИЯ НА СВЕТЯЩИЕСЯ БАКТЕРИИ**

**Рожко Т.В., Кудряшева Н.С.**

СФУ, КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия; gutnikv72@mail.ru

### **Аннотация**

Изучен механизм биологической активации радионуклидом тритием. Люминесцентные морские бактерии были использованы в качестве объекта исследования для мониторинга биологического эффекта трития. Маркером их активности является интенсивность биолюминесценции. Были использованы два различных типа источников трития: меченные тритием пленки и НТО. При использовании меченных тритием пленок, было предотвращено проникновение трития в клетку. Воздействие трития, различных типов на биолюминесценцию показало аналогичные изменения в кинетике бактериальной люминесценции: период задержки и последующую активацию биолюминесценции. Воздействие трития (100 МБк / л) не вызвало мутации в бактериальной ДНК, что говорит о механизме "не геномной" активации биолюминесценции тритием.

**Ключевые слова:** тритий, биолюминесценция, биотестирование, морские бактерии, ДНК

### **Введение**

Тритий – радиоактивный изотоп водорода, бета-излучающий радионуклид. Благодаря низкой энергии излучения, представляет удобный объект для выявления механизмов низко-дозовых эффектов. Низкая энергия излучения трития требует особых подходов к исследованию его действия на живые организмы и выяснения потенциальной токсичности соединений. Удобным объектом для изучения эффектов трития являются морские люминесцентные бактерии, чувствительные к действию различных ингибиторов. Маркером их активности является интенсивность биолюминесценции, отличающаяся легкостью и быстротой приборной регистрации, что дает возможность большого числа измерений для обеспечения достоверности низкодозовых эффектов. Отклик бактерий на действие низкодозового облучения может быть связан, как с генетическими изменениями, поскольку известно, что радионуклиды могут оказывать генотоксический эффект, так и с изменением мембранного потенциала клеток обусловленного вторичными процессами в водной среде.

Целью работы было выявление процессов, лежащих в основе механизма низкодозового воздействия радионуклида трития на морские люминесцентные бактерии, связанных с генетическими изменениями и ионизацией среды.



## Материалы и методы

В работе в качестве объекта исследования использовали интактные светящиеся бактерии *Photobacterium phosphoreum* 1883 IBSO из коллекции Института биофизики СО РАН. Для культивирования бактерий использовали полусинтетическую питательную среду. В качестве источника радиации использовался тритий в составе НТО, меченные тритием методом термической активации пленки полиэтилена с удельной поверхностной радиоактивностью от 0.1 до 2.4 МБк/см<sup>2</sup>. В качестве контроля использовали нерадиоактивные растворы аналогичного состава в том же объеме (30 мкл). Суспензии хранили при 4°C. Пробы (10 мкл суспензии бактерий) отбирали через определенное время в течение 7-10 суток. Далее измеряли интенсивность люминесценции с помощью биохемиллюминометра. Бактериальную ДНК выделяли после 4 суток инкубирования.

Для оценки влияния радионуклидов на биолюминесценцию бактерий использовали величину относительной интенсивности свечения, которая определяется выражением:

$$I^{rel} = I_{rad} / I_{contr}$$

где  $I_{rad}$  – интенсивность биолюминесценции радиоактивного раствора;  $I_{contr}$  – интенсивность биолюминесценции контрольного раствора.

Исследование мутагенности низкодозового воздействия радионуклидов проводили методом секвенирования. Проанализирован ген 16S рРНК ДНК, ответственный за жизненно важные функции светящихся бактерий. При секвенировании использовали классический вариант метода Сэнгера. Для выявления биологической роли вторичных процессов радиолитического распада в водной среде и исключения проникновения радионуклида в бактериальные клетки, в качестве источников внешнего радиоактивного излучения использованы меченные тритием пленки полиэтилена с удельной поверхностной радиоактивностью от 0.1 до 2.4 МБк/см<sup>2</sup>. Радиоактивный изотоп был введен в пленки с помощью метода термической активации трития на кафедре радиохимии МГУ.

## Результаты

Получен ряд зависимостей биолюминесценции интактных бактерий от времени воздействия трития и радиоактивности среды. Отклик бактерий на воздействие трития включает в себя два этапа: 1 – отсутствие эффекта (или распознавание стресс-фактора), 2 – активация (или адаптивная реакция). Следовательно, реакция светящихся бактерий к воздействию НТО не является линейной; зависимости от удельной радиоактивности раствора (или мощности дозы) не были найдены.

Следующим направлением было изучение эффектов трития связанных с мембранными процессами, предполагается, что эффект трития может быть связан с ионизацией среды, приводящей к влиянию на мембранный потенциал бактерий, что может вызвать изменение скоростей внутриклеточных процессов. Для этого мы исключили возможность проникновения трития в бактериальные клетки, и использовали меченные тритием пленки полиэтилена с удельной поверхностной радиоактивностью от 0.1 до 2.4 МБк/см<sup>2</sup>. Проведено сравнение воздействия трития на кинетику люминесценции клеток бактерий в условиях, исключающих и благоприятствующих проникновению трития в клетки, т.е. с использованием источников излучения трития различного типа – тритиевой воды и полиэтиленовых пленок, меченных тритием. Показано, что излучение трития приводит к активации биолюминесценции даже если тритий находится вне бактериальных клеток.

В качестве примера на рисунке 1 приведена зависимость относительной интенсивности люминесценции от времени.

Проанализирован ген 16S рРНК, ответственный за жизненно важные функции светящихся бактерий. Показано, тритий не оказывает мутационного влияния на бактерии.

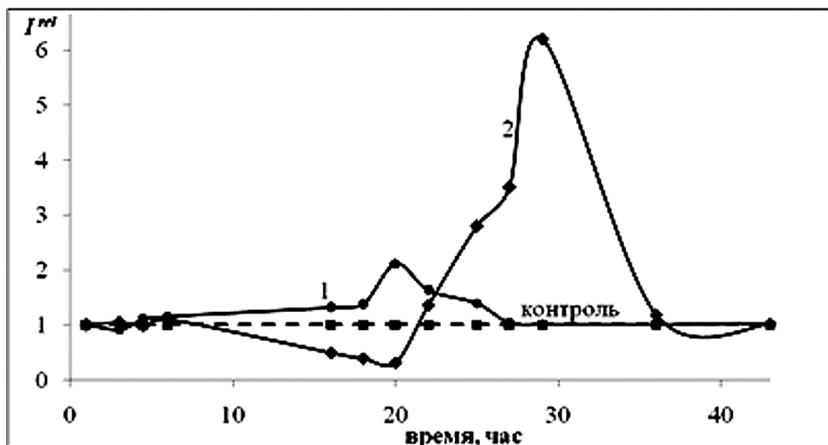


Рисунок 1. Зависимость относительной интенсивности биолюминесценции ( $I_{rel}$ ) бактерий *P. phosphoreum*: 1 - от времени воздействия НТО, 2,3 МБк/л; 2 - от времени воздействия меченной тритием полиэтиленовой пленки, 0,11 МБк/см<sup>2</sup>.

### Заключение

Продемонстрировано отсутствие линейной зависимости доза-эффект при низкодозовых воздействиях трития различных типов на бактерии. Показано, что тритий в составе НТО и зафиксированный на пленке увеличивает интенсивность свечения бактерий и не оказывает влияния на их генетический аппарат.

### Цитируемая литература

1. Rozhko, T.V., Badun, G.A., Razzhivina, I.A., Guseynov, O.A., Guseynova, V.E., Kudryasheva, N.S., 2016. On mechanism of biological activation by tritium. J. Environ. Radioact. 157, 131–135. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2016.03.017
2. Kudryasheva, N.S., Rozhko, T.V., 2015. Effect of low-dose ionizing radiation on luminous marine bacteria: radiation hormesis and toxicity. J. Environ. Radioact. 142, 68–77.

## ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РЫБ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ МОРСКОЙ СРЕДЫ

Руднева И.И.<sup>1</sup>, Скуратовская Е.Н.<sup>1</sup>, Чеснокова И.И.<sup>1</sup>, Шайда В.Г.<sup>1</sup>,  
Омельченко С.О.<sup>2</sup>, Залевская И.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия; svg-41@mail.ru

<sup>2</sup>Крымский республиканский институт последипломного педагогического образования, Симферополь, Россия

<sup>3</sup>Крымский федеральный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь Россия

### Аннотация

Черное море испытывает сильную антропогенную нагрузку, которая в сочетании со специфическими природными условиями (наличие сероводородной зоны и развитие в связи с

этим аноксических явлений в отдельных районах) крайне неблагоприятно влияет на жизнедеятельность морских обитателей. Рыбы, находящиеся на вершине трофической цепи, в наибольшей степени чувствительны к этим воздействиям, что приводит к снижению биоразнообразия, сокращению численности популяций, их репродуктивного потенциала, здоровья и воспроизводства. Прибрежные зоны наиболее подвержены загрязнению, которое прямо или косвенно влияет на гидробионтов. В связи с этим оценка состояния популяций морских рыб, обитающих в прибрежных зонах, представляет несомненный интерес и требует тщательно разработанных мониторинговых программ. При этом используются различные биомаркеры, характеризующие состояние рыб на разных уровнях их биологической организации. Чувствительными биомаркерами являются молекулярные индикаторы, позволяющие определить ранние предвестники негативных изменений ихтиофауны и выявить причины, их вызывающие. К таким биомаркерам относятся параметры, характеризующие состояние окислительного стресса, развивающегося в организме под действием неблагоприятных факторов, уровень активности защитных систем, способствующих адаптации организма к изменяющимся условиям существования, а также показатели, свидетельствующие о патологических изменениях в организме. В то же время отклики рыб на действие факторов различной природы, включая антропогенные, зависит от особенностей их экологии и биологии. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение содержания тяжелых металлов (Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, As) в тканях 6 видов прибрежных черноморских рыб, относящихся к разным экологическим группам, и их ответных реакций на состояние среды обитания с помощью биомаркеров, в качестве которых были использованы показатели активности ферментов антиоксидантной системы, аминотрансфераз и холинэстеразы, а также концентрация олигопептидов и окисленных форм белков в крови. Результаты исследований позволили установить различия в накоплении тяжелых металлов в мышечных тканях рыб, зависящие от принадлежности к экологической группе. В наибольшей степени токсичные элементы содержатся в тканях донных и придонных рыб, концентрация этих компонентов ниже в мышцах придонно-пелагических и пелагических форм. Ответные реакции на загрязнение среды обитания выражены более четко также у донных и придонных обитателей, которые могут быть рекомендованы в качестве видов-биомониторов в разрабатываемых программах ихтиомониторинга морской среды. Однако, донные рыбы существенно различаются между собой, и при тестировании следует учитывать особенности их биологии и экологии. Наиболее чувствительными биомаркерами являются показатели содержания окисленных модифицированных форм белков (ОМБ), олигопептидов и GST крови. Уровень ОМБ выше у рыб, обитающих в придонных более загрязненных зонах моря. Кроме того, исследуемые донные формы являются хищниками и ведут оседлый образ жизни, что способствует накоплению в их тканях загрязнителей, приводящих к развитию окислительного стресса, повреждению клеток, органов и тканей, функциональным нарушениям. Полученные в данном исследовании результаты позволяют заключить, что биомаркеры крови являются информативными показателями состояния здоровья рыб и среды их обитания и могут быть успешно использованы в мониторинге.

**Ключевые слова:** рыбы, биомаркеры, адаптации, окислительный стресс, тяжелые металлы, мониторинг, Черное море

## Введение

Черное море испытывает сильную антропогенную нагрузку, которая в сочетании со специфическими природными условиями (наличие сероводородной зоны и развитие в связи с этим аноксических явлений в отдельных районах) крайне неблагоприятно влияет на жизнедеятельность морских обитателей (Rudneva, Petzold-Bradley, 2001; Rudneva, 2011).

Рыбы, находящиеся на вершине трофической цепи, в наибольшей степени подвержены этим воздействиям, которые приводят к снижению биоразнообразия, сокращению численности популяций, их репродуктивного потенциала, здоровья и воспроизводства.

По сравнению с 1950 годом в 1990-е годы биоразнообразие рыб в севавтопольских бухтах снизилось в 2 раза, а их численность – более, чем в 100 раз (Коновалов, 1993). Однако, в настоящее время ситуация улучшается, и в Черном море обнаружено 233 вида рыб (Болтачев, Карпова, 2012).

Прибрежные зоны наиболее подвержены загрязнению, которое прямо или косвенно влияет на гидробионтов. В связи с этим оценка состояния популяций морских рыб, обитающих в прибрежных зонах, представляет несомненный интерес и требует тщательно разработанных мониторинговых программ. При этом проблема заключается не только в том, чтобы идентифицировать и оценить масштаб происходящих изменений, но и выявить эффективные методы прогнозирования последствий трансформаций в экосистеме по ответным реакциям ее обитателей.

При этом используются различные биомаркеры, характеризующие состояние рыб на разных уровнях их биологической организации (Hansson et al., 2006; Amiard-Triquet, Berthet, 2015). Совершенно очевидно, что для этих целей должны применяться такие биомаркеры, которые адекватно отражают состояние организма и влияние на него различных факторов среды. Чувствительными параметрами являются молекулярные индикаторы, позволяющие определить ранние предвестники негативных изменений ихтиофауны и выявить причины, их вызывающие. К ним относятся биохимические маркеры, характеризующие состояние окислительного стресса, развивающегося в организме под действием неблагоприятных факторов, уровень активности защитных систем, способствующих адаптации организма к изменяющимся условиям существования, а также показатели, свидетельствующие о патологических изменениях в организме.

В тоже время отклики рыб на действие факторов различной природы, включая антропогенные, зависят от филогенетического положения, особенностей их экологии и биологии, физиологического статуса (Hotard & Zou, 2008), а также наличия эффективных систем защиты и детоксикации загрязнителей, поступающих из окружающей среды и накапливающихся в организме. Ранее мы рассматривали различную адаптивную стратегию рыб на примере антиоксидантной системы, проявляющуюся в различных условиях загрязнения морской среды (Rudneva, 2012). Дальнейшие исследования молекулярных механизмов, лежащих в основе защитных реакций рыб на действие неблагоприятных факторов среды, имеет важное значение для оценки состояния экосистем и экологического риска.

Физические и химические изменения, происходящие в экосистемах, вызывают физиологические и биохимические изменения в организме рыб. Различные загрязнители, в том числе тяжелые металлы, инициируют развитие окислительного стресса через реакции Фентона в случае железа, меди и цинка, которые являются металлами с переходной валентностью, либо посредством связывания с сульфгидрильными группами белков и ингибированием функции активного центра ферментов, в том числе антиоксидантных. В обоих случаях это приводит к изменению прооксидантно-антиоксидантного баланса организма и нарушению его функционального состояния. Для защиты от окислительного стресса в организме существует антиоксидантная система, представленная ферментами высокомолекулярными веществами, которые являются чувствительными биомаркерами. Помимо этого, активность аминотрансфераз (аланин- и аспаратаминотрансфераз) отражает функциональное состояние печени и сердечно-сосудистой системы, а активность холинэстеразы служит чувствительным индикатором проведения нервного импульса, которое нарушается при наличии в среде органических токсикантов. Содержание олигопептидов и окисленных модифицированных форм белков в тканях может отражать интенсивность протекания окислительных реакций и степень повреждения молекулярных и клеточных структур.

В связи с этим целью настоящей работы явилось сравнительное изучение содержания тяжелых металлов (Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, As) в тканях шести видов прибрежных черноморских рыб, относящихся к разным экологическим группам, и их ответных реакций на состояние среды обитания с помощью указанных выше биомаркеров.

### Материалы и методы

Исследовали следующие массовые черноморские виды рыб: ставрида *Trachurus mediterraneus* (Staindachner) (Carangidae) (n= 38), спикара *Spicara flexuosa* (Rafinesque) (Centranchidae) (n=35), султанка *Mullus barbatus ponticus* (Essipov) (Mullidae) (n =25), бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas) (Gobiidae) (n=62), бычок-мартовик *Mesogobius batrachocephalus* (Pallas) (Gobiidae) (n=23), морской ерш *Scorpaena porcus* (L.) (Scorpaenidae) (n=40). Рыб отлавливали в прибрежных водах Севастополя и немедленно транспортировали в лабораторию в контейнерах с искусственной аэрацией. Исследуемые рыбы в зависимости от особенностей их экологии и биологии принадлежали к четырем экологическим группам – донной (морской ерш, бычок-кругляк и бычок-мартовик), придонной (султанка), придонно-пелагической (спикара) и пелагической (ставрида).

Донные виды (морской ерш, бычок-кругляк и бычок-мартовик) обитают в придонных слоях воды на глубине 0.5-40 м, ведут оседлый образ жизни, питаются бентосными ракообразными, моллюсками, червями и личинками рыб. Поскольку они относятся к бентосным организмам и непосредственно контактируют с дном, где оседают токсиканты, эти виды могут рассматриваться как биомониторы, состояние которых отражает условия жизни в данном биотопе. Вместе с тем следует отметить, что между исследуемыми видами имелись существенные различия.

Придонные виды, к которым относится султанка, обитающая на расстоянии 20-30 см у поверхности дна. Это относительно малоподвижный вид, питается ракообразными, червями, моллюсками. Имеет важное промысловое значение, и по этой причине анализ ее биомаркеров также важен для оценки экологического состояния морской экосистемы.

Придонно-пелагические виды (спикара) в основном обитают в пелагиали на глубине 5-30 м, ведут также малоподвижный образ жизни. Это всеядный вид. Интересной особенностью спикары является способность изменять пол, что, как правило, происходит в определенный возрастной период.

Пелагические рыбы, к которым относится ставрида, характеризуются высокой подвижностью, активной плавательной способностью, мигрируют на большие расстояния. Живут на глубине 40 м, ведут стайный образ жизни, хищники. Ставрида в Черном море является промысловым видом, что определяет значимость исследования ее физиологического состояния.

Прибрежная часть Севастополя, где происходил отлов рыб, характеризуется высокой антропогенной нагрузкой. В море осуществляется выпуск вод городских коллекторов и ливневой канализации, развиты интенсивное судоходство и рекреация. На берегах располагаются топливные причалы, судоремонтный завод, объекты коммунального хозяйства, стоки которых наряду с выпусками хозяйственно-бытовых коллекторов существенно загрязняют морскую среду. Помимо этого, в бухтах зафиксировано много несанкционированных выпусков, что в значительной степени ухудшает ее экологическое состояние. В воде и грунтах содержится значительное количество нефтепродуктов, тяжелых металлов, хлорсодержащих углеводородов, биогенов и взвешенных веществ, которые оседают на дно и концентрируются в морских организмах, включая исследуемые виды рыб.

Кровь у рыб отбирали из хвостовой артерии с помощью пастеровской пипетки, отстаивали на холоду для отделения сыворотки, после чего осадок (эритроциты)

промывали несколько раз холодным физраствором и лизировали дистиллированной водой в соотношении 1:5 в течение 24 час в холодильнике, затем проводили биохимические определения. Мышечную ткань рыб извлекали на холоду и определяли в ней содержание тяжелых металлов.

Концентрацию меди, цинка, свинца и кадмия анализировали атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре Hitachi (Япония). Концентрацию мышьяка в тканях определяли спектрофотометрическим методом с использованием Ag-диэтилдитиокарбаматного реагента при длине волны 520 нм. Содержание ртути измеряли на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Юлия-2» (Россия).

Определение концентрации олигопептидов в сыворотке крови проводили по методу Каряжиной и Беловой (2004), окисленных модифицированных форм белков – по методу Дубининой и др. (2000). Активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы SOD, каталазы CAT, пероксидазы PER, глутатионредуктазы GR, а также фермента второй фазы детоксикации глутатион трансферазы GST) в эритроцитах крови анализировали на спектрофотометре Specol 211 с помощью методов, описанных нами ранее (Rudneva, 2011): SOD в системе НСТ-НАДН-ФМС, PER – по реакции с бензидином, CAT – по реакции разложения перекиси водорода при 240 нм, GR – в системе НАДН-окисленный глутатион, GST – по накоплению конъюгата 1-хлор-2,4-динитробензола.

Активность аминотрансфераз (аланин- (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) определяли спектрофотометрическим методом с помощью 2,4-динитрофенилгидразина с использованием стандартного набора реагентов фирмы Филисит-Диагностика при длине волны 500-530 нм. Проводили расчет коэффициента Ритиса, определяемого как отношение активности АЛТ/АСТ.

Активность холинэстеразы выявляли на основе реакции гидролиза ацетилхолинхлорида с использованием набора реагентов фирмы Филисит-Диагностика, изменение окраски фиксировали спектрофотометрически. Концентрацию белка в сыворотке крови и гемоглобина в лизатах эритроцитов определяли с помощью стандартного набора фирмы Филисит-Диагностика.

Исследования осуществляли индивидуально от каждой рыбы. Все биохимические определения проводили в двух повторностях для каждого образца. Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы EXELL, вычисляли среднее арифметическое и ошибку средней. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ . Корреляции между исследуемыми параметрами рассчитывали с помощью программы CURVEFIT (версия 2.10L).

## Результаты

Результаты исследований позволили установить различия в содержании тяжелых металлов в тканях рыб (табл. 1), имеющие выраженные видовые особенности.

Таблица 1. Содержание тяжелых металлов в мышцах рыб, мг/кг сырой массы (M + m)

Виды рыб	Cu	Pb	Cd	Zn	As	Hg
Морскойерш	0,6±0,1	0,16±0,04	0,036±0,01	5,14±1,25	0,8±0,1	0,06±0,005
Бычок-мартовик	0,66±0,15	0,13±0,03	0,018±0,006	6,87±2,6	3,43±0,69	0,065±0,004
Бычок-кругляк	0,64±0,073	0,088±0,03	<0,01	3,24±0,23	0,92±0,2	0,049±0,004
Султанка	0,48±0,1	0,067±0,015	0,0173±0,003	4,06±0,23	0,66±0,2	0,05±0,01
Спикара	0,58±0,08	0,084±0,017	0,05±0,02	4,59±0,72	1,1±0,29	0,068±0,01
Ставрида	0,53±0,07	0,084±0,026	0,012	5,41±1,21	0,71±0,24	0,051±0,005

Уровень меди выше или имеет тенденцию к увеличению у донных форм по сравнению с остальными видами, принадлежащими к другим группам. Самая высокая концентрация отмечена у бычка-мартовика, тогда как самая низкая – у султанки. Повышенные концентрации свинца также установлены у донных видов – морского ерша и бычка-мартовика, у остальных тестируемых рыб они существенно ниже. Самое высокое содержание кадмия обнаружено в мышцах спикары, у других рыб оно в 1,5-4 раза меньше. Уровень цинка колеблется незначительно. Самая высокая концентрация мышьяка определена у бычка-кругляка, у спикары она в 3 раза ниже, у остальных видов этот показатель колеблется в пределах 0,66-0,92 мг/кг сырой массы. Содержание ртути в тканях рыб невелико и различается незначительно.

Таким образом, установлено, что содержание меди и свинца выше в тканях донных видов, тогда как уровень остальных исследуемых элементов в мышцах рыб варьирует в меньшей степени. Не обнаружено существенных корреляций между содержанием тестируемых элементов в мышцах анализируемых видов.

Содержание олигопептидов в сыворотке крови, характеризующих уровень эндотоксикации в организме, был существенно ниже у бычка-мартовика и морского ерша, тогда как у остальных исследуемых видов этот показатель не отличался.

Содержание продуктов окислительной модификации белков сыворотки крови рыб представлено в таблице 2. Этот показатель выше у донных видов бычка-кругляка и бычка-мартовика, у остальных рыб он колебался незначительно.

Таблица 2. Содержание различных форм окисленных белков в сыворотке крови рыб (M+m)

Виды рыб	Нейтральные продукты		Основные продукты		Σ
	ODλ <sub>346</sub>	ODλ <sub>370</sub>	ODλ <sub>430</sub>	ODλ <sub>530</sub>	
Бычок-кругляк	5.48±0.34	7.68±0.49	4.62±0.30	0.77±0.05	18.55
Бычок-мартовик	7.14±0.12	9.11±0.14	5.27±0.12	0.55±0.04	22.07
Морскойерш	2.70±0.20	3.3±0.23	1.76±0.15	0.37±0.04	8.13
Султанка	2.37±0.14	2.72±0.15	1.52±0.08	0.22±0.01	6.83
Спикара	3.16±0.25	3.57±0.30	2.22±0.20	0.48±0.04	9.43
Ставрида	2.28±0.30	2.40±0.28	1.48±0.20	0.37±0.03	6.53

Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах рыб имела выраженные видовые особенности и варьировала независимо от принадлежности рыб к экологической группе. В тоже время следует отметить увеличение более, чем в 2 раза активности GST-фермента второй фазы детоксикации ксенобиотиков в эритроцитах донных форм бычка-кругляка и бычка-мартовика.

Самая высокая активность аминотрансфераз установлена в сыворотке крови бычка-кругляка, у других рыб она значительно ниже и варьировала в меньшей степени, хотя и проявляла определенные межвидовые различия.

Наиболее высокая активность холинэстеразы обнаружена в сыворотке крови султанки, у других рыб этот показатель существенно ниже и не различался.

Таким образом, результаты исследований позволили установить межвидовые различия исследуемых показателей у черноморских рыб, принадлежащих к разным экологическим группам. Известно, что множество факторов, включая абиотические (физические и химические условия среды обитания, температура воды, pH, соленость и др.), биотические (специфические черты биологии, пищевое поведение и

спектр питания, плавательная активность и уровень метаболизма), а также антропогенные (уровень загрязнения, хозяйственная активность акватории и др.) могут изменять физиологические и биохимические характеристики гидробионтов (Martinez-Alvarez et al., 2005; Sole et al., 2009). Различный уровень загрязнения биотопов является причиной разного накопления токсикантов в организме рыб, включая тяжелые металлы и органические компоненты. Принимая во внимание особенности биологии и экологии исследуемых видов черноморских рыб, в настоящем исследовании было проведено сравнение биомаркеров их крови, так как биохимические показатели крови в наибольшей степени отражают состояние здоровья организма и оперативно реагируют на действие различных неблагоприятных факторов, что важно при проведении мониторинговых программ.

Содержание шести элементов в мышечных тканях исследуемых видов было сравнимо с соответствующими показателями рыб, обитающих в других водоемах, при этом значения их концентрации располагались в порядке убывания  $Zn > As > Cu > Pb > Hg > Cd$ . Следует отметить, что медь и цинк являются биогенными элементами, их содержание в организме регулируется физиологическими механизмами. Свинец, кадмий и ртуть обладают выраженным токсичным эффектом, поскольку эти элементы способны ковалентно соединяться с сульфгидрильными группами белков и блокировать их биологическую активность.

Результаты позволили выявить межвидовые различия в содержании тяжелых металлов у тестируемых черноморских видов. Содержание меди, свинца, мышьяка и ртути было достоверно выше или имело тенденцию к увеличению у донных рыб, отловленных в прибрежной зоне Севастополя. Это может быть обусловлено как особенностями питания рыб, так и условиями существования в более загрязненной среде. Морской ерш и оба вида бычков относятся к донным видам, тогда как остальные исследуемые рыбы – к придонным, придонно-пелагическим и пелагическим, которые в меньшей степени подвержены влиянию токсикантов, содержащихся в донных осадках, придонных слоях воды и пище. В связи с этим можно заключить, что донные виды накапливают большие количества загрязнителей, негативно влияющими на их физиологический статус, что было отмечено и другими исследователями (Sole et al., 2009).

Токсичные элементы, аккумулированные в мышцах рыб, вызывают окислительный стресс в тканях, который характеризуется избыточной продукцией свободных радикалов, повреждающих биологические молекулы, мембраны и другие клеточные структуры. В результате этих реакций, а также в процессе биотранс-формации ксенобиотиков образуются низкомолекулярные соединения – олигопептиды, которые обладают биологической активностью. Они могут модулировать генную активность, биохимические реакции, встраиваться в систему регуляции ряда физиологических процессов. Нарастание концентрации олигопептидов в тканях свидетельствует о нарушении баланса между синтезом белков и их деградацией или же о снижении протеосомальной функции, или о нарушениях обоих процессов (Высоцкая, Немова, 2008). В наших исследованиях низкие концентрации олигопептидов были обнаружены в сыворотке крови донных видов – бычка-мартовика и морского ерша, тогда как у других исследуемых рыб эти показатели были более, чем в 2 раза выше, что может свидетельствовать об эффективном выведении этих продуктов из организма или же о снижении интенсивности обменных процессов, так как эти донные формы ведут малоподвижный образ жизни. Повышенные концентрации олигопептидов в крови остальных исследуемых видов могут быть обусловлены их активностью и высоким уровнем метаболизма, что способствует увеличению содержания этих компонентов в крови.

В сыворотке крови обоих видов бычков обнаружены повышенные концентрации окисленных модифицированных форм белков, образование которых может быть



обусловлено развитием окислительного стресса в организме при действии на него неблагоприятных условий. Нарушение прооксидантно/антиоксидантного баланса приводит к накоплению окисленных продуктов в тканях, которые достаточно стабильны и являются в этом отношении удобными и адекватными биомаркерами для оценки состояния организма (Dalle-Donneet al., 2003). В связи с этим можно заключить, что у двух донных видов продукция окисленных белков в крови значительно выше, чем у видов, относящихся к другим экологическим группам, что может быть обусловлено влиянием токсикантов и их аккумуляцией в тканях, в том числе тяжелых металлов, что было отмечено ранее. В тоже время исследуемые рыбы различаются уровнем обмена веществ, питанием, активностью, поведением, что определяется специфическими физиологическими механизмами. Вероятно, большая активность придонно-пелагических и пелагических рыб, сопровождающаяся более активным метаболизмом, способствует быстрой деградации и выведению окисленных форм белков из организма.

Анализ активности антиоксидантных ферментов эритроцитов крови рыб выявил выраженные межвидовые различия, однако существенной зависимости этих показателей от принадлежности исследуемых видов к соответствующей экологической группе не установлено. Это не позволяет отнести данные параметры к эффективным и адекватным биомаркерам, характеризующим состояние организма и среды обитания. Вероятно, активность ферментов, способствующих поддержанию прооксидантно-антиоксидантного баланса, зависит от совокупности условий существования рыб в биотопе, что характерно и для других энзимов – аминотрансфераз и холинэстеразы.

### **Заключение**

Таким образом, результаты исследований содержания шести токсичных элементов в тканях шести видов черноморских рыб и их биомаркеров крови, позволили получить определенную информацию об ответных реакциях рыб на условия среды обитания. Наиболее чувствительными параметрами оказались показатели содержания олигопептидов, окисленных модифицированных форм белков и активности фермента второй фазы детоксикации GST в крови донных рыб, в тканях которых обнаружены повышенные концентрации меди, свинца, мышьяка и кадмия по сравнению с видами, относящимися к другим экологическим группам. В тоже время активность ферментов антиоксидантной системы, аминотрансфераз и холинэстеразы показала выраженные межвидовые различия, но они не всегда зависели от принадлежности рыб к соответствующей экологической группе. Это обусловлено тем, что помимо антропогенных факторов, на обменные процессы рыб, включая активность защитных систем, влияют множество других абиотических и биотических факторов, которые в совокупности могут существенным образом модифицировать ответные реакции организма на загрязнение, проявляя при этом как суммарные, так и антагонистические эффекты.

Наши исследования показали, что донные рыбы, к которым относятся бычки и морской ерш, живущие в экологически неблагоприятной среде, проявляют выраженную реакцию на загрязнение, накапливают большие количества токсикантов как непосредственно из воды и донных отложений, так и в результате потребления более загрязненной бентосной пищи. Хроническое воздействие токсикантов на рыб приводит к окислительному стрессу, усилению процессов свободнорадикального окисления, продукты которого повреждают биомолекулы, ферменты, мембраны, вызывают различные патологии. Накопление в крови рыбоокисленных модифицированных форм белков свидетельствует о повреждающем действии токсикантов и продуктов окислительного стресса, и при высоком уровне загрязнения возможно снижение резистентности организма и нарастание токсических проявлений, что в конечном ито-

ге, приводит к ухудшению состояния рыб, снижению плодовитости, численности популяций и биоразнообразия. Полученные данные еще раз подтверждают необходимость и эффективность применения молекулярных биомаркеров в мониторинговых программах для оценки состояния рыб и среды их обитания.

### Цитируемая литература

1. Болтачев А.Р., Карпова Е.П. Морские рыбы Крымского полуострова. Симферополь, 2012. “Бизнес –Информ” 223с.
2. Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты у рыб. Наука., Москва. 2008. 284 с.
3. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Н.В. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация). *Вопр. мед. химии.* 2000. Т. 46, № 4. С. 398 - 409.
4. Карякина Е. В., Белова С. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // *Клин. лаб. диагн.* 2004. № 3. С. 3 – 8.
5. Коновалов С.М. Ихтиофауна черноморских бухт в условиях антропогенного воздействия. 1993. Киев: Наук. Думка, 144 с.
6. Amiard-Triquet, C., Berthet, B. Individual biomarkers. In: *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks.* 2015. P. 153-182
7. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giostarini, D., Milzani, A. and Colombo, R. 2003. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 2003. V. 329. P. 23-38.
8. Hansson, T., Schiedek, D., Lehtonen, K.K., Vuorinen, P.J., Liewenborg, Noaksson, E., Tjarnlund, U., Hansson, M., Balk, L. Biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Marine Pollution Bulletin*, 2006. V. 53. P. 451 – 468.
9. Hotard, S., Zou, E. Activity of Glutathione S-transferase in the hepatopancreas is not influenced by the molting cycle in the Fiddler crab *Uca pugilator*. *Bull. Environ. Contam., Toxicol.*, 2008. V.81. P. 242-244.
10. Martinez-Alvarez, R., Morales, A., Sanz, A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biology & Fisheries*, 2005. V.15. P. 75-88
11. Rudneva, I.I. and Petzold-Bradley, E. Environmental and security challenges in the Black Sea region. In: E. Petzold-Bradley, A. Carius and A. Vimce (Eds.), *Environment Conflicts: Implications for Theory and Practice.* Netherlands: Kluwer Academic Publishers:2001. P. 189-202.
12. Rudneva I.I. *Ecotoxicological Studies of the Black Sea Ecosystem. The Case of Sevastopol Region.* Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. 2011. 62 pp.
13. Rudneva I.I. Antioxidant defence in marine fish and its relationship to their ecological status. In: *Fish Ecology.* (ed. Dempsey S.P.) Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. 2012. P. 31-59.
14. Sole, M., Rodriguez, S., Papiol, V., Maynou, F., and Cartes, J.E., Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2009. V.149 C. P. 83–89.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность бригаде рыбаков Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН за предоставленный материал для исследований.

## RESPONSE OF FISH BELONGING TO DIFFERENT ECOLOGICAL GROUPS ON MARINE POLLUTION

Rudneva I.I.<sup>1</sup>, Skuratovskaya E.N.<sup>1</sup>, Chesnokova I.I.<sup>1</sup>, Kovyrshina T.B.<sup>1</sup>,  
Omelchenko S.O.<sup>2</sup>, Zalevskaya I.N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kovalevskiy Institute of Marine Biological Research RAS, Nahimov av., 2, Sevastopol, Russia

<sup>2</sup>The Crimean Regional in-service Teacher Training Institute, Simpheropol, Russia

<sup>3</sup>Crimean Federal University, Simpheropol, Russia

The main idea of the study was to investigate the role of blood biomarkers of 6 highly distributed Black Sea fish species belonging to different ecological groups to the different natural and anthropogenic impacts on marine environment. For this purpose the concentrations of Cu, Zn, Cd, As, Pb

and Hg were determined in the muscle tissues of examined fish species and biochemical parameters namely antioxidant enzyme activities, oligopeptides, oxidized proteins, aminotransferases, cholinesterases were measured. The interspecies differences were indicated, and some of them were directly correlated with fish ecological status of the fish species. The biomarkers studies help in understanding the relationship of blood biochemical characteristics to the habitat and adaptability of the fish species to the environment. The principles and perspectives of the development of permanent monitoring programs in Black Sea for fish biodiversity protection used biomarkers are discussed.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ЛИЧИНОЧНЫХ СТАДИЙ *M. EDULIS* ПРИ ПРОВЕДЕНИИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

**Саидов Д.М., Саидов Г.М., Косевич И.А.**

МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; daniyalsaidov@yandex.ru

### **Аннотация**

Настоящая работа направлена на оптимизацию тест-системы, основанную на раннем развитии двустворчатого моллюска *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758). Построенная искусственная нейросеть с высокой точностью (99,67%) распознавала объекты на фотографии и осуществляла количественную обработку данных в автоматическом режиме.

**Ключевые слова:** мидия, раннее развитие, биотестирование, искусственная нейронная сеть, токсикология

### **Введение**

В связи с ростом загрязнения Мирового океана всё больше внимания уделяется разработке новых и оптимизации существующих систем биоиндикации и биотестирования. В целях биотестирования часто используют эмбриональные и личиночные стадии развития гидробионтов, в том числе личиночные стадии двустворчатых моллюсков [1, 2, 3]. При достаточно высокой чувствительности основной недостаток данных тест-систем – длительный процесс обработки результатов методом визуального или фотоучета. В то же время всё большую популярность приобретают системы распознавания образов, основанных на искусственных нейронных сетях – программных и аппаратных моделях, построенных по принципу сетей нервных клеток живых организмов. Благодаря свёрточной топологии, такие сети достигли значительных успехов в распознавании образов, что позволяет их использовать в широком спектре исследований, в основе которых лежит обнаружение объектов.

В последнее время искусственные нейронные сети находят множественное применение в биологии и медицине. В частности, нейронные сети используют для мониторинга состояния водных объектов и моделирования показателей токсичности химических соединений [4, 5]. Используемые в данной работе свёрточные нейронные сети находят применение исключительно в медицинских исследованиях, например - при идентификации раковых клеток в пробах тканей [6].

Поэтому целью данной работы является построение искусственной нейросети и её обучение распознаванию ранних стадий развития двустворчатого моллюска *M. edulis* для анализа и количественной обработки результатов экспериментов в автоматическом режиме.

### **Материалы и методы**

В качестве экспериментальной тест-системы было выбрано раннее развитие (первые 48 ч после оплодотворения) *M. edulis*. В качестве критерия воздействия рас-

сматривали долю личинок, достигших стадии D-велигера от общего числа личинок. При этом появление большого количества личинок, лишенных раковины считается следствием влияния неблагоприятных условиях развития.

В работе использовали простую однопроходную нейросеть с шестью сверточными и тремя полносвязными слоями [7]. Топология сети отражена в табл. 1. На выходе сеть выдавала один из трех возможных вариантов: D-велигер, ресничная личинка, пустое пространство.

В основе обучающей выборки использованы данные экспериментов по влиянию как органических (монобутиловый эфир этилен и диэтиленгликоля), так и неорганических токсикантов (модельный токсикант  $K_2Cr_2O_7$ ). В качестве обучающей выборки было использовано около ста фотографий, где центры D-велигер и ресничных личинок были отмечены вручную. После чего, каждая личинка на изображении вырезалась в отдельный квадрат таким образом, чтобы центр личинки и квадрата совпадали. Полученное изображение поворачивали под разными углами и меняли его масштаб таким образом, чтобы соответствовать наиболее типичным положениям и размерам личинок на фотографии. Таким образом, учитывая все преобразования, в состав обучающей выборки входило более 100 000 фотографий.

Таблица 1. Топология использованной искусственной нейронной сети. Условные обозначения: Conv – сверточный слой, Pool – масштабирующий слой, FC – полносвязный слой, Output – конечный полносвязный слой

Слой	Ядра	Вход	Выход
Conv1_1	3x3	100x100x3	98x98x96
Conv1_2	3x3	98x98x96	96x96x96
Pool1		98x98x96	48x48x96
Conv2_1	3x3	48x48x96	46x46x192
Conv2_2	3x3	46x46x192	44x44x192
Pool2		44x44x256	22x22x256
Conv3_1	3x3	22x22x256	20x20x256
Conv3_2	3x3	20x20x256	18x18x256
Pool3		18x18x256	9x9x256
FC1		9x9x256	1024
FC2		1024	1024
Output		1024	3

## Результаты

Использованная искусственная нейросеть достигла высокой точности распознавания объектов - 99,76%.

Для решения проблемы частичного наложения личинок, исходное изображение при анализе разбивалось на «окна»  $86 \times 86$  с шагом 8 пикселей как по вертикали, так и по горизонтали. Благодаря этому нейросеть классифицировала объект как личинку только в том случае, если центр «окна»  $86 \times 86$  расположен близко к центру личинки. При сдвиге окна более чем на 8 пикселей вероятность распознавания объекта как личинку падает более чем в два раза, пропорционально повышая вероятность распознавания «окна» как пустое пространство.

Использование топологии свёртки и масштабируемых слоёв значительно ускоряет процесс распознавания объектов нейросетью.

## Заклучение

Благодаря включению в архитектуру сети сверточных слоев и использованию «окон» была достигнута достаточно высокая точность распознавания – 99,76%, при этом нейросеть способна распознавать отдельные личинки, даже если они сфотографированы с наложением до 30%. При этом использование нейросети позволяет полностью обработать и просчитать 10 000 фотографий за срок менее 24 часов, используя не самые передовые вычислительные мощности (Xeon E3 3,5 GHz).

## Цитируемая литература

1. Martin M., Osborn K.E., Billig P, et. al. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and Cancer magister larvae // *Marine Pollution Bulletin*. 1981. Vol. 12, № 9. - P. 305-308.
2. Малахов В. В., Медведева Л. А. Эмбриональное развитие двусторчатых моллюсков в норме и при воздействии тяжелых металлов. М.: Наука, 1991. – 132 с.
3. Nadella S.R., Fitzpatrick J.L., Franklin N., et. al. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon // *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2009. Part C 149. – P. 340–348.
4. Cheol-Ki Kima, Inn-Sil Kwakb, Eui-Young Chac, Tae-Soo Chon. Implementation of wavelets and artificial neural networks to detection of toxic response behavior of chironomids (*Chironomidae*: *Diptera*) for water quality monitoring // *Ecological modelling*, 2006. Vol 195. P 61–71.
5. Klaus L. E. Kaiser, Stefan P. Niculescu. Modeling acute toxicity of chemicals to *Daphnia magna*: A probabilistic neural network approach // *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001. Vol. 20. P. 420-431.
6. Lisboa P.J., Taktak A.F. The use of artificial neural networks in decision support in cancer: a systematic review // *Neural Netw.*, 2006. Vol. 19. P. 408-15.
7. Simonyan K., Zisserman A. Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition// *Computer Vision and Pattern Recognition* // *The Computing Research Repository (CoRR)*, 2014. abs/1409.1556.

## Благодарности

Выражаем благодарность администрации Беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова за предоставление лаборатории для осуществления работы.

## IMPLEMENTATION OF ARTIFICIAL NEURAL NETWORK (ANN) TO RECOGNIZE *M. EDULIS* LARVAL STAGES DURING BIOASSAY

**Saidov D. M., Saidov G. M., Kosevich I.A.**

Lomonosov Moscow State University, VNIRO, Moscow, RF, daniyalsaidov@yandex.ru

This work is focused on optimizing test system based on the early development of the bivalve *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758). Constructing artificial neural network with high accuracy (99.67%) recognized objects in the picture and carried out quantitative data processing in automatic mode.

**Keywords:** bioassay, artificial neural network, mussel, toxicity, early development

# БИОТЕСТИРОВАНИЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ Р. МАЛЫЙ КИЗИЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Семенова И.Н.<sup>1</sup>, Кужина Г.Ш.<sup>2</sup>, Галиакберов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт стратегических исследований Республики Башкортостан, Сибай, Россия

<sup>2</sup>Сибайский филиал Башгосуниверситета, г. Сибай, Россия; alexa-94@mail.ru ifalab@ Rambler.ru

## Аннотация

Донные отложения р. Малый Кизил загрязнены тяжелыми металлами, образующими по их среднему валовому содержанию следующий убывающий ряд: Fe > Mn > Zn > Ni > Cu > Cd. Методом биотестирования выявлено токсическое действие опасной и умеренно опасной степени грунтов р. Малый Кизил на *Lepidium sativum* и *Raphanus sativus*. Оба используемых тест-объекта пригодны для оценки токсичности донных отложений. В то же время чувствительность *Raphanus sativus* к действию тяжелых металлов выше по сравнению с *Lepidium sativum*.

**Ключевые слова:** донные отложения, тяжелые металлы, река Малый Кизил, биотестирование.

## Введение

Стремительный рост народонаселения, увеличение площадей орошаемого земельного участка, а также урбанизация и индустриализация привели к небывалому использованию водных ресурсов. За последние годы увеличился объем загрязнителей, которые бесконтрольно попадают в реки и водохранилища от предприятий промышленных и сельскохозяйственных комплексов. Так, всевозможные соединения естественного и антропогенного происхождения, в конечном счете, оказываются в водных экосистемах, откуда впоследствии осаждаются, преобразуются и аккумулируются в донных отложениях (ДО) (Мартынова, 2010). Среди приоритетных загрязнителей водной экосистемы выделяют тяжелые металлы (ТМ) (Папина, 2001).

Оценка состояния водных объектов, при условии ее репрезентативности, имеет большое значение, так как она является необходимой частью водохозяйственных мероприятий [Кривопалова, 1995]. Часто химический анализ не дает полную картину токсикологического действия среды на живой организм. И в таких случаях часто прибегают к методам биотестирования, когда в лабораторных условиях можно оценить степень токсичности загрязненных сред с помощью живых тест-объектов (Багдасарян, 2005).

Водные ресурсы по территории Республики Башкортостан (РБ) распределены неравномерно. Нехватка воды отмечается и в Башкирском Зауралье, где все реки мелководны и относятся к категории малых рек. Одним из таких водотоков является река Малый Кизил, воды которой являются источником питьевого водопотребления не только Белорецкого и Абзелиловского районов РБ, но и некоторых населенных пунктов Челябинской области и города Магнитогорск. В связи с этим изучение экологического состояния данной реки является актуальной проблемой.

Районы исследований по географическому расположению относятся к Зауральской лесостепи (Белорецкий, Абзелиловский районы РБ) и Зауральской степи (Челябинская область), составляющих в целом Зауралье. Оно занимает площадь 9,1 % территории республики, его лесистость изменяется в пределах 1-20 %. Протяженность с севера на юг составляет 375 км, что обуславливает разнообразие природных условий. Зауралье протягивается узкой полосой восточнее хребта Уралтау, отделяясь от него продольным межгорным понижением, и переходит на востоке в Зауральский пенеппен, простирающийся вдоль границы Башкортостана с Челябинской и Оренбургской областями (Фаткуллин, 1994).

Зауралье характеризуется уникальным скоплением крупных месторождений медноколчеданных, железных руд, а также наличием месторождений рудного и россыпного золота, что способствовало бурному развитию горнодобывающей и рудоперерабатывающей промышленности.

Река Малый Кизил протекает по территориям Белорецкого, Абзелиловского районов РБ и Челябинской области. Имеет общую протяженность 113 км. Площадь бассейна 1204 км, имеет ширину до 20 метров, глубину 0,7 метров, скорость течения 0,3 - 0,6 м/сек. Дно твердое или песчаное. Поймы узкие, местами залесенные. В среднем течении пойма Малого Кизила напоминает форму трапеции. Правый берег преимущественно пологий, а левый - крутой.

Цель работы – исследование ДО р. Малый Кизил и оценка их токсичности с использованием различных растительных тест-систем. Маршрут исследования проходил через ряд населенных пунктов вдоль реки: Первая пробная площадка (ПП1) находилась у истока реки, ПП2 – после с. Абзаково Белорецкого района, ПП3 – д. Муракаево и ПП4 – д. Туишево Абзелиловского района, ПП5 – пос. Смеловский Челябинской области.

### Материалы и методы

Отбор проб ДО проводили в соответствии с ГОСТ 17.1.5.01. Пробу массой приблизительно 300 г отбирали из слоя ила 0-10 см с помощью дночерпателя в пластиковые сосуды в 3-4-х повторностях, высушивали при комнатной температуре и просеивали через сито  $d = 0,25$  мм. Далее образцы грунтов объединялись путем квартования в одну усредненную пробу.

Исследование содержания ТМ проводили в центральной химической лаборатории обогащательной фабрики Сибайского филиала Учалинского горно-обогатительного комбината на аппарате «CONTR AA» (Германия) с пламенным атомизатором «ацетилен - воздух». Пробы анализировались в соответствии МУ РД 52.18.685.

Для экологической оценки загрязненности осадков ТМ использовали кратность превышения их геохимической фоновой концентрации, изученной Институтом минералогии геохимии и кристаллографии редких элементов (ИМГРЭ) (Добыча нерудных строительных материалов..., 2012).

Уровень техногенного загрязнения ДО реки оценивали с помощью суммарного показателя загрязнения (СПЗ):  $СПЗ = \sum K_c - (n-1)$ , где  $K_c = C_i / C_{ф}$  – коэффициент концентрации отдельных компонентов загрязнения;  $n$  – число суммируемых веществ, коэффициент концентрации  $K_c$  которых выше 1,0. Критические значения, позволяющие охарактеризовать ДО по степени загрязнения, таковы: при  $СПЗ \leq 8$  – слабо загрязненные; при  $8 \leq СПЗ \leq 16$  – допустимая степень загрязнения; при  $16 \leq СПЗ \leq 32$  – умеренно опасная; при  $32 \leq СПЗ \leq 128$  – опасная;  $СПЗ \geq 128$  – чрезвычайно опасная (Опекунов, 2012).

Показатель санитарно токсикологической опасности  $Z_{СТ}$  вычисляли как сумму коэффициентов концентрации (за вычетом фона) химических элементов 1-го и 2-го классов опасности. Пределы оценки степени санитарно-токсикологической опасности следующие:  $Z_{СТ} \leq 10$  – допустимая;  $11 \leq Z_{СТ} \leq 30$  – умеренная;  $31 \leq 100$  – опасная;  $101 \leq Z_{СТ} \leq 100$  опасная;  $101 \leq Z_{СТ} \leq 300$  – очень опасная;  $Z_{СТ} \geq 301$  – чрезвычайно опасная (Ахтямова, 2009).

Биотестирование проводили по методике, основанной на измерении показателей всхожести семян и относительного прироста в длину корней кресс-салата (*Lepidium sativum*) и редиса (*Raphanus sativus*). Отбор семян проводили по ГОСТ Р 52171 -

2003 из одной партии с одинаковым сроком годности. Перед проведением исследований семена подвергались визуальному осмотру для удаления поврежденных или сомнительных экземпляры (Мелехова, Сарапульцева, 2010). В подготовленные чашки Петри диаметром 100 мм вносили предварительно увлажненные до 60% ДО слоем около 1 см. Глубина высева семян составляла 1-2 мм, норма высева – 20 штук на чашку, количество параллельных высевок (чашек Петри) в испытуемых пробах – по 2. В течение инкубации поддерживали оптимальную влажность субстрата около 60% от полной влагоемкости. Учет результатов эксперимента проводили на 3-7 день. Растения осторожно извлекали из субстрата, корни каждого растения тщательно промывали в воде.

В качестве контрольного образца использовали обычный кварцевый песок, предварительно промытый кипяченой дистиллированной водой. Сравнение всхожести семян и длины корня проростков с контролем позволило отнести загрязненные грунты к определенной категории токсичности: V степень - практически не токсичные - снижение всхожести семян по сравнению с контрольной пробой ( $N_1, \%$ ) –  $0 < N_1 \leq 20 \%$  и угнетение корней по сравнению с контрольной пробой ( $N_2, \%$ ) –  $0 < N_2 \leq 20 \%$ ; IV степень – малотоксичные – снижение всхожести семян по сравнению с контрольной пробой ( $N_1, \%$ ) –  $0 < N_1 \leq 20 \%$  и угнетение корней по сравнению с контрольной пробой ( $N_2, \%$ ) –  $20 < N_2 \leq 50 \%$ ; III степень – умеренно токсичные - снижение всхожести по сравнению с контрольной пробой ( $N_1, \%$ ) -  $20 < N_1 \leq 70 \%$  и угнетение корней по сравнению с контрольной пробой ( $N_2, \%$ ) -  $50 < N_2 \leq 70 \%$ ; II степень – опасно токсичные – снижение всхожести семян по сравнению с контрольной пробой ( $N_1, \%$ ) –  $70 < N_1 < 100 \%$  и угнетение корней по сравнению с контрольной пробой ( $N_2, \%$ ) –  $70 < N_2 < 100 \%$ ; I степень – высоко опасно токсичные – отсутствие всхожести семян ( $N_1=N_2=100\%$ ) (Методика измерений ..., 2009).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общепринятыми методами с помощью пакета компьютерных программ «STATISTICA 6.0» и «MicrosoftExcel».

### Результаты

В ДО р.Малый Кизил в условиях района исследования изученные металлы по их среднему содержанию образуют убывающий ряд элементов:  $Fe > Mn > Zn > Ni > Cu > Cd$ . В распределении ТМ по длине реки отмечается определенная неравномерность.

Для меди характерна интенсивная сорбция в ДО водотоков. Темпы поглощения зависят от присутствия глинистых частиц, лигандов, гуминовых кислот и ряда других связывающих  $Cu$  катионов (Мур Дж., Рамамурти, 1987). В грунтах р. Малый Кизил наблюдается процесс сорбции этого металла и, как следствие, превышение фоновой концентрации, равной 4 мг/кг, на протяжении всего водотока от 2 до 3 раз.

По содержанию  $Zn$  во всех точках отбора ДО зафиксировано превышение фона (20 мг/кг) от 4,5 до 8,5 раз. Максимальная концентрация металла наблюдалась в ДО первых двух площадок (исток реки, Абзаково), что возможно обусловлено природными геохимическими особенностями территории.

Валовое содержание  $Fe$  в исследованных пробах изменялось в интервале от 16075 до 28075 мг/кг и превышало допустимую норму (3800 мг/кг) во всех точках отбора. Концентрация данного металла у истока реки превышала геохимическую концентрацию в 5 раз.



Концентрация Ni в ДО р. Малый Кизил варьировала в пределах от 14 до 23,5 мг/кг. Превышение фоновой концентрации (20 мг/кг) наблюдалось в ПП5 (пос. Смеловский). В остальных створах концентрация Ni в грунтах находилась в пределах нормы.

Содержание Cd в осадках реки изменялось от 3 до 7 мг/кг, что было выше допустимых норм (0,3 мг/кг). Максимальная концентрация данного металла (23ПДК) зарегистрирована в д. Абзаково.

На протяжении исследуемой длины водотока концентрация Mn во всех створах не превышала фоновой концентрации (1100 мг/кг).

Таким образом, физико-химический анализ ДО р. Малый Кизил показал, что во всех створах исследуемого участка реки зафиксировано превышение фона по Cu (в среднем в 2,5 раза), Zn (в 6 раз), Fe (в 6,5 раз) и Cd (в 17 раз).

Расчет показал, что исследуемые пробы ДО имеют опасную и умеренно опасную степени загрязнения и умеренную степень санитарно-токсикологической опасности (табл. 1). При этом наибольший вклад в расчет данного критерия вносит кадмий ( $K_c = 10-23$ ).

Таблица 1 – Степень загрязнения и санитарно-токсикологической опасности грунтов р. Малый Кизил

Пробная площадка	$Z_c$	Степень загрязнения	$Z_{ст}$	Степень санитарно-токсикологической опасности
ПП1 Исток	21	Умеренно опасная	17,5	Умеренная
ПП2 Абзаково	34,5	Опасная	30	Умеренная
ПП3 Муракаево	27	Умеренно опасная	25	Умеренная
ПП4 Туишево	29,5	Умеренно опасная	23,5	Умеренная
ПП5 Смеловский	30	Умеренно опасная	24,5	Умеренная

В ходе биотестирования фиксировалось два тест-отклика на одном растительном тест-объекте: всхожесть семян и относительный прирост корня в длину.

Всхожесть семян кресс-салата, посеянных на чашки с исследованными образцами, была достоверно ниже всхожести семян в контроле. Минимальная всхожесть семян, составляющая 7,5%, была зарегистрирована в створе Муракаево, а максимум, равный 40%, был характерен для пробы, отобранной в створе Туишево. Выявлено наличие достоверной положительной связи между тестируемым показателем для кресс-салата и содержанием Mn ( $r = 0,92$ ) и отрицательной связи между тест-откликом и содержанием Cd ( $r = -0,89$ ) в ДО.

Для редиса наименьшие показания всхожести семян (5-7,5%) были зафиксированы в створах Абзаково, Муракаево и Смеловский, в то время как максимум пришелся на створы Исток (70%) и Туишево (40%).

В результате исследований выявили, что у семян кресс-салата выращенных на различных грунтах, длина корней изменялась в диапазоне от 12 до 27,9 мм и не превышала значения контроля (32,4 мм). Наименьший прирост корней тест-системы наблюдался в ДО, отобранных в д. Муракаево, а наибольший - в ДО створа с. Абзаково.

Длина корней редиса, выращенного на опытных образцах ДО, была достоверно ниже контроля. Минимальный прирост проростков был зарегистрирован в створе пос. Смеловский (12 мм), а максимум – в пробе, отобранной у истока (50,8 мм). Следует отметить, что этот образец по изученному показателю превышал контроль (31,1 мм).

Таким образом, ДО р.Малый Кизил оказали токсическое действие на оба используемых тест-объекта. Наиболее опасными оказались грунты ПП2 (Муракаево) и ПП3 (Абзаково), оказавшими наибольшее токсическое действие на растения (табл. 2, 3).

Таблица 2. Оценка степени токсичности донных отложений р. Малый Кизил с использованием *Lepidium sativum*

Точка отбора	Степень изменения всхожести семян по сравнению с контролем, %	Степень токсичности по всхожести	Степень изменения длины корня по сравнению с контролем, %	Степень токсичности по длине корня	Степень токсичности
Исток	61,1±3,7	III	62,9±3,9	III	умеренно токсичные
Абзаково	55,5±1,4	III	14,1±10,0	V	умереннотоксичные
Муракаево	83,3±1,9	II	73,7±1,9	II	опасно токсичные
Туишево	11,1±0,9	V	61,4±2,8	III	умеренно токсичные
Смеловский	55,5±2,8	III	40,8±3,5	IV	умеренно токсичные

Таблица 3. Оценка степени токсичности донных отложений р. Малый Кизил с использованием *Raphanus sativus*

Точка отбора	Степень изменения всхожести семян по сравнению с контролем, %	Степень токсичности по всхожести	Степень изменения длины корня по сравнению с контролем, %	Степень токсичности по длине корня	Степень токсичности
Исток	- 86,6±4,5	V	- 62,9±18,1	V	практически не токсичные
Абзаково	80±1,6	II	12,8±0,6	V	опасно токсичные
Муракаево	86,6±0,2	II	45,4±1,7	IV	опасно токсичные
Туишево	- 6,6±1,9	V	32,5±8,7	IV	малотоксичные
Смеловский	86,6±0,2	II	61,4±0,6	III	опасно токсичные

### Заключение

Проведенные исследования показали, что ДО р. Малый Кизил, русло которой расположено на территории биогеохимической провинции, загрязнены ТМ, образующими по их среднему валовому содержанию следующий убывающий ряд: Fe > Mn > Zn > Ni > Cu > Cd. Методом биотестирования выявлено токсическое действие опасной и умеренно опасной степени грунтов р. Малый Кизил на *Lepidium sativum* и *Raphanus sativus*. Наиболее опасными оказались грунты створов Муракаево и Абзаково, оказавшими максимальное токсическое действие на растения. Оба используемых тест-объекта пригодны для оценки токсичности ДО. В то же время чувствительность *Raphanus sativus* к действию ТМ выше по сравнению с *Lepidium sativum*.

### Цитируемая литература

1. Ахтямова Г.Г. Антропогенная трансформация состава донных отложений бассейна р. Пахра (Московская область) // Метеорология и гидрология. - 2009. - №2.- С. 80-88.
2. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: Дисс. канд. биол. наук. - Ставрополь, 2005. - 159 с.

3. ГОСТ 17.1.5.01. - 80. - Общие требования к отбору проб донных отложений водных объектов для анализа на загрязненность.
4. Добыча нерудных строительных материалов в водных объектах. Учет руслового процесса и рекомендации по проектированию и эксплуатации русловых карьеров. - СПб.: Изд-во «Глобус», 2012. - 140 с.
5. Кривопалова З.Ф. Антропогенизация водных объектов Южного Урала и пути их реконструкции// Проблемы экологии Южного Урала. - 1995, - №1. - С. 21-25.
6. Мартынова М.В. Донные отложения как составляющая лимнических экосистем. - М.: Российская акад. наук. Ин-т водных проблем, 2010. - 243 с.
7. Мелехова О.П., Сарапульцева Е.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. - М.: «Академия», 2010. - 288 с.
8. Методика измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв (М-П- 2006 ФР.1.39.2006.02264). – Санкт-Петербург, 2009. – 19 с.
9. Мур Дж., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. - М.: Мир, 1987. - 286 с.
10. Опекунов А.Ю. Экологическая седиментология: учеб. пособие. - СПб.: Изд-во С.- Петерб. ун-та, 2012. - 224 с.
11. Папина Т.С. Транспорт и особенности распределения тяжелых металлов в ряду: вода - взвешенное вещество - донные отложения. - Новосибирск, 2001. - 57 с.
12. Фаткуллин Р.А. Природные условия Башкортостана. - Уфа: Китап, 1994. - 174 с.

### **Благодарности**

Публикация подготовлена в рамках поддержанного РГНФ научного проекта №15-16-02003.

## **BIOTESTING SEDIMENTS RIVER MALYIY KIZIL USING PLANT TEST SYSTEMS**

**Semenova I.N., Kuzhina G.S., Galiakberov V.V.**

The sediments of the river Malyiy Kizil contaminated with heavy metals, forming their average total content of the following decreasing series: Fe > Mn > Zn > Ni > Cu > Cd. Bioassay method revealed toxic effect dangerous and moderately dangerous degree of soil river Malyiy Kizil on *Lepidium sativum* and *Raphanus sativus*. Both used the test object are useful for evaluating the toxicity of sediment. At the same time, *Raphanus sativus* has more sensitivity to heavy metals as compared with *Lepidium sativum*.

# ИНДИКАТОРНАЯ РОЛЬ ПОДСТИЛКИ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

Семенюк О.В.

Московский государственный университет имени М.В. факультет почвоведения, Москва, Россия; olgatour@rambler.ru

## Аннотация

Подстилка является неотъемлемым компонентом в структуре биогеоценозов, важнейшим звеном биологического круговорота веществ озелененных урбанизированных территориях и может служить индикатором при оценке функционирования городских экосистем. Установлено, что подстилки зеленых насаждений территории МГУ преимущественно примитивные деструктивные очень маломощные. Оценка состояния подстилок типичных древесных насаждений показала, что в условиях применения паркового режима подстилки характеризуются повышенной долей ежегодно реализуемого вещества, а также пониженной долей содержания активной фракции детрита подстилки, что отражает высокую скорость биологического круговорота в данных, что свидетельствует о высокой скорости процессов разложения и высокой скорости биологического круговорота органического вещества. Анализ показателей состояния подстилки показал, что в условиях паркового режима ухода за насаждениями наблюдается активизация процессов деструкции органического вещества.

**Ключевые слова:** город, экологические условия, подстилки, биологический круговорот

## Введение

Одной из задач в определении экологического состояния городской среды является оценка функционирования зеленых насаждений на основе изучения показателей биологического круговорота. Подстилка является неотъемлемым компонентом в структуре биогеоценозов и важнейшим звеном биологического круговорота веществ не только в лесных экосистемах, но и на озелененных урбанизированных территориях. Правила содержания городских древесных насаждений на озелененных территориях предусматривают различные режимы ухода, в том числе и парковый режим. Парковый режим ухода заключается в удалении подроста и подлеска, нерегулярном кошении травостоя и сборе листвы, влияние которого на биологический круговорот биогеоценоза недостаточно изучено. В результате паркового режима ухода за зелеными насаждениями происходит упрощение вертикальной структуры древостоя, что, по-видимому, приводит к изменению экологических условий и оказывает влияние на скорость разложения подстилки. Анализ показателей состояния подстилки позволяет диагностировать особенности биологического круговорота и оценить влияние антропогенных воздействий на городских экосистемах, что определяет актуальность изучения подстилок.

Целью исследования являлась оценка состояния подстилок типичных древесных насаждений урбанизированных озелененных территорий города Москвы.

## Материалы и методы

Исследования проводились на территории Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Объектами исследования являются древесные насаждения, такие как береза повислая, липа мелколистная и клен остролистный. Выбор данных типов древесных насаждений определялся преобладающими древесными породами г. Москвы. Изучение подстилок проводилось на территории с условно-эталонными биогеоценозами ботанического сада МГУ без паркового режима ухода и на озелененной парковой-

территории МГУ, где применяется система паркового ухода за зелеными насаждениями без сбора листового опада.

Отбор подстилок проводится в два срока: конец вегетационного периода и после листопада. Подстилки отбирались в трехкратной повторности с площади 50x50 см и определялся их компонентный состав (ветки, листья, ветошь, плоды, кора и детрит). Классификационная принадлежность подстилок определялась по классификации Л.Г. Богатырева (1994). Для определения фракционного состава детрита он просеивается через сита, было получено 8 фракций. Активная фракция подстилок определялась как доля суммы фракций меньше 5 мм от общих запасов подстилки (Карпачевский, 1977). Запасы легкоразлагаемых компонентов подстилки рассчитывались по сумме фракций подстилки – листьев и ветоши. Объем ежегодно реализуемого органического вещества рассчитывался как разница количества легкоразлагаемых компонентов в подстилке после листопада и в конце периода минерализации. Запасы подстилок определялись на абсолютно-сухую навеску.

### Результаты

Результаты полевых исследований показали, что мощности подстилок увеличиваются в ряду древесных насаждений береза – липа – клен во всех сроках отбора как для ботанического сада, так и для парковой зоны, при этом мощности подстилок ботанического сада (от 3 до 11 см) выше, чем у парковой зоны (от 0,5 см до 5 см).

Все подстилки биогеоценозов преимущественно деструктивные, однако на территории ботанического сада в 35% встречаются переходные деструктивно-ферментативные (биогеоценозы березы и клена ботанического сада), о чем свидетельствует наличие горизонтов как деструктивного, так и переходного деструктивно-ферментативного. Как и следовало ожидать, общие запасы после листопада почти в 2 раза выше запасов подстилок до листопада. Для насаждений ботанического сада запасы подстилки выше во все сроки отбора по сравнению с парковой зоной. Общие запасы подстилок типичных древесных насаждений колеблются в пределах для условно-эталонных территорий ботанического сада – от 0,6 до 1,9 кг/м<sup>2</sup> при максимуме запасов у подстилок клена, для парковой зоны – от 0,2 до 1,5 кг/м<sup>2</sup> при минимуме запасов у подстилок березы. Максимальные запасы легкоразлагаемой части подстилки определены в подстилках липняка 37-45 % от общих запасов лесной подстилки. В подстилках клена и березы легкоразлагаемые компоненты занимают в среднем 25% и 8% соответственно. Прослеживается общая тенденция к увеличению объема ежегодно реализуемого органического вещества подстилок в ряду береза – клен – липа для двух территорий с разными режимами ухода. Наибольшая доля ежегодно реализуемого органического вещества отмечена в подстилках биогеоценоза липняка парковой зоны – 88% от общих запасов подстилки, минимальная у биогеоценозов березы – 6-25%. У подстилок парковой зоны объемы ежегодно реализуемого органического вещества выше, чем в ботаническом саду, что свидетельствует о более высокой интенсивности процессов разложения и повышенной скорости биологического круговорота.

Изучение фракционного состава подстилок выявило особенности подстилок различного типа. В подстилках березняка преобладает фракция веток как в ботаническом саду, так и в парковой зоне МГУ (до 70%), а у подстилок липняка – доля листьев (до 50%). Полученные данные по фракционному составу детрита показали, что максимальное доленое участие активной части подстилки в березняке около 33% от общего запаса подстилки. Наблюдается общая тенденция к уменьшению

доли мелких фракций (менее 3 мм) и доли активной фракции подстилок в ряду береза – клен – липа как в ботаническом саду, так и в парковой зоне МГУ. Доли активной фракции подстилок парковой зоны МГУ преимущественно ниже, чем в ботаническом саду.

### **Заключение**

Особенностью подстилок условно-эталонных березовых биогеоценозов ботанического сада является сложное строение, повышенные общие запасы подстилки при низких долях легкоразлагаемой части и ежегодного реализуемого органического вещества, значительное доленое участие мелких фракций детрита и высокое содержание активной фракции подстилки от общих запасов подстилки, что свидетельствуют о пониженной активности процессов разложения органического вещества.

По отношению к подстилкам березовых насаждений подстилки липового и кленового биогеоценозов ботанического сада и парковой зоны характеризуются повышенными долями легкоразлагаемой части подстилки и ежегодно реализуемого вещества, а также пониженной долей содержания активной фракции подстилки, что отражает высокую скорость биологического круговорота в данных биогеоценозах.

Анализ показателей состояния подстилки показал, что подстилки зеленых насаждений территории МГУ преимущественно примитивны очень мало мощные, что свидетельствует о повышенной интенсивности процессов разложения и высокой скорости биологического круговорота органического вещества. В условиях паркового режима ухода за насаждениями наблюдается активизация процессов деструкции органического вещества.

### **Цитируемая литература**

Богатырев Л.Г. О классификации лесных подстилок, Почвоведение, 1990, №3, с.118-127.  
Карпачевский Л.О. Пестрота почвенного покрова,- М.: Изд.-во Моск. ун-та, 1997, с. 124.

## **INDICATOR ROLE OF LITTER IN THE ASSESSMENT OF THE ENVIRONMENTAL STATE OF THE URBAN ENVIRONMENT**

**Semeniuk O.V.**

M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Soil Sciences

Litter is an integral component in the structure of ecosystems, essential biological cycles of substances green urbanized territories and can serve as an indicator in evaluating the functioning of urban ecosystems. Found that litter the verdant greenery of the territory predominantly primitive destructive MSU very low assessment of the status of litter typical. Woody plantings showed that in terms of use of the Park regime litter characterized by high stakes annually implemented substances, as well as a reduced proportion of the content of the active fractions of detritus litter, reflecting the high rate of biological cycles in a data which suggests high speed decomposition processes and the high speed of biological compounds.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСТРАКОД (*HETEROCYPRIS INCONGRUENS*) ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Степанова Н.Ю., Егорова А.В., Нуриева А.И., Асфандиярова Г.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;  
step090660@yandex.ru

## Аннотация

Донные отложения, благодаря их способности аккумулировать многие органические и неорганические соединения, представляют собой мощный фактор самоочищения водоема, но одновременно могут выступать источником его вторичного загрязнения. Оценка загрязнения воды и донных отложений с использованием различных методик биотестирования широко используется за рубежом (Kemble et al, 1994; Baudo, 2008; Бакаева и др. 2009). Исторически сложилось, что в качестве тест организмов в основном используются два вида: амфипода *Hyalella azteca* и хирономиды *Chironomus riparius* или *Chironomus tentans*. Подобно другим тестам на токсичность с использованием беспозвоночных, эти организмы зависят от условий культивирования, времени, затрат на оплату труда персонала. В настоящее время все большую популярность приобретает методика тестирования донных отложений с использованием эпибентосного вида – остракод *Heterocypris incongruens*. Исследования показали, что чувствительность остракод является аналогичной чувствительности амфипод *Hyalella azteca* и хирономид *Chironomus riparius* (Chial and Persoone, 2002; Chial et al, 2003; Cooman et al., 2015). Целью данной работы было сравнить результаты тестирования донных отложений загрязненного городского водоема (пруд Адмиралтейский) на остракодах *Heterocypris incongruens* и амфиподах *Hyalella azteca*. Токсичность донных отложений (ДО) определялась в 11 пробах, отобранных в пруде Адмиралтейском, который в течение длительного времени использовался как приемник сточных вод ряда промышленных предприятий, расположенных вдоль берегов. Для характеристики воспроизводимости результатов тестирования на остракодах оценка токсичности проб ДО проводилась с разницей в 2 месяца (июнь и сентябрь 2015 г.). Показано, что в 82% проб результаты были идентичны или очень близки. Оценка ингибирования роста также продемонстрировала высокий уровень воспроизводимости результатов. При сравнении результатов токсичности ДО на остракодах и амфиподах была продемонстрирована хорошая сходимость результатов: как по показателю «выживаемость», так и «ингибирование роста». Наблюдалась сильная зависимость выживаемости *Heterocypris incongruens* и *Hyalella azteca* ( $R^2=0,85$ ) и менее сильная зависимость по критерию ингибирования роста ( $R^2= 0,56$ ). Таким образом, можно заключить, что обе методики продемонстрировали чувствительность к загрязнениям в составе донных отложений, характеризуются хорошими показателями сходимости и воспроизводимости результатов и могут быть широко использованы в токсикологических исследованиях донных отложений. Однако следует отметить, что методика на остракодах *Heterocypris incongruens* имеет ряд преимуществ по сравнению с методикой на *Hyalella azteca*: отсутствие необходимости поддерживать лабораторную культуру остракод; меньший срок проведения эксперимента (6 дней против 14 на амфиподах); меньший объем пробы, необходимой для проведения анализа (10 г против 300 г на амфиподах). Наряду с сопоставимой чувствительностью с другими классическими тест-объектами вышеперечисленные преимущества создают условия для широко распространения тестирования на остракодах *Heterocypris incongruens* для оценки токсичности донных отложений.

**Ключевые слова:** донные отложения, биотестирование, остракоды *Heterocypris incongruens*, амфиподы *Hyalella azteca*

## Введение

Донные отложения, благодаря их способности аккумулировать многие органические и неорганические соединения, представляют собой мощный фактор самоочищения водоема, но одновременно могут выступать источником его вторичного загрязнения. Оценка загрязнения воды и донных отложений с использованием различ-

ных методик биотестирования широко используется за рубежом (Kemble et al, 1994; Baudo, 2008; Бакаева и др. 2009). Исторически сложилось, что в качестве тест-организмов в основном используются два вида: амфиподы *Hyalella azteca* хирономиды *Chironomus riparius* или *Chironomus tentans*. Подобно другим тестам на токсичность с использованием беспозвоночных, эти организмы зависят от условий культивирования, времени, затрат на оплату труда персонала. В настоящее время все большую популярность приобретает методика тестирования донных отложений с использованием эпибентосного вида - остракод *Heterocypris incongruens*. Исследования показали, что чувствительность остракод является аналогичной чувствительности амфипод *H. azteca* и хирономид *C. riparius* (Chial and Persoone, 2002; Chial et al, 2003; Cooman et al., 2015).

Целью данной работы было сравнить результаты тестирования донных отложений загрязненного городского водоема (пруд Адмиралтейский) на остракодах *Heterocypris incongruens* и амфиподах *Hyalella azteca*.

### Материалы и методы

Пруд Адмиралтейский был создан при строительстве инженерной защиты города от затопления в 1957 году во время заполнения Куйбышевского водохранилища и представляет собой ряд водоемов, соединенных протоками, общая протяженность которых 3,5 км, при средней ширине 30 м и глубине 0,5-1,5 м. Отсеченный двумя плотинами, пруд служит бассейном для сбора ливневых и талых вод с последующей перекачкой их в Куйбышевское водохранилище в пределах водоохранной зоны Волжского водозабора, в течение длительного времени пруд использовался как приемник сточных вод ряда промышленных предприятий, расположенных вдоль берегов.

Отбор проб донных отложений (ДО) проводился в июне и августе 2015 года на 11 станциях. Пробы отбирали с поверхностного 10-ти сантиметрового слоя с помощью пробоотборника типа дночерпателя «Дак 250» (ГОСТ 17.1.5.0.1-80).

Биотестирование на остракодах *Heterocypris incongruens* основано на использовании микробиотеста Ostracodtoxkit в соответствии с ISO 14371:2012. Тест основан на регистрации смертности и ингибировании роста остракод. Рачков получают из цист, которые прикладываются к набору. Время тестирования - 6 дней при прямом контакте с донными отложениями. Критерии достоверности тестирования: средний процент смертности остракод в контроле не должен превышать 20%; средняя длина прироста остракод в контроле должна быть не менее 400 мкм.

Биотестирование с использованием амфипод *Hyalella azteca* основано на оценке изменений выживаемости, плодовитости, линейных размеров и массы тел анализируемых пробах, по отношению к контролю (EPA/600/R-99/064). Время тестирования - 14 дней при прямом контакте с донными отложениями. Критерием хронической токсичности является гибель и достоверное по сравнению с контролем изменение линейных размеров амфипод. Критерии достоверности тестирования: выживание в контроле должно составлять не менее 80 %.

### Результаты

Для оценки воспроизводимости результатов тестирования с использованием остракод *Heterocypris incongruens* оценку токсичности проб ДО проводились с разницей в 2 месяца (июнь и сентябрь 2015 г.). Показано (рис. 1), что в 82% проб результаты были идентичны или очень близки. Это прежде всего касается проб П1, П2, П3, П4 и



П9, где была продемонстрирована абсолютная смертность в обоих случаях, а также проб П7, П8, П10 и П11, где разница в показателях выживаемости была не значимой.

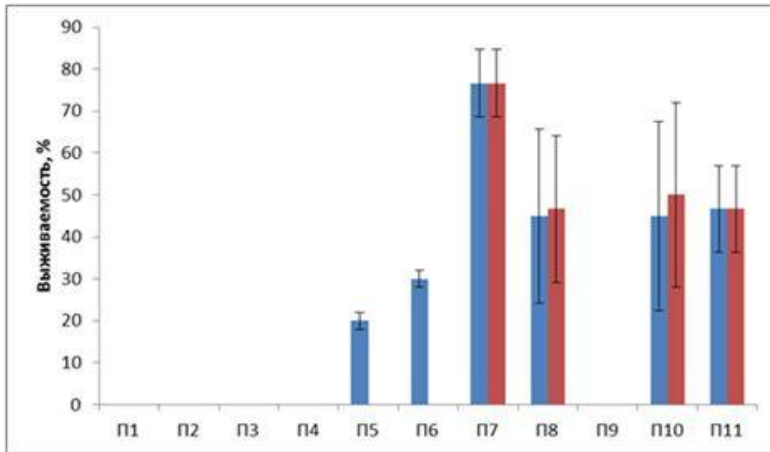


Рисунок 1. Выживаемость *Heterocypris incongruens* для оценки воспроизводимости методики

Ростовые показатели, по которым судят об ингибировании роста, также продемонстрировали высокий уровень воспроизводимости (рис. 2), что свидетельствует о том, что и по критерию ингибирования роста наблюдается хорошая воспроизводимость результатов.

При сравнении результатов токсичности ДО на остракодах и амфиподах была продемонстрирована хорошая сходимость, как по показателю «выживаемость», так и «ингибирование роста». Выживаемость остракод и амфипод (кроме пробы 7) во всех пробах ДО составила менее 80%, что позволяет охарактеризовать их как токсичные. Абсолютная смертность наблюдалась в пробах 1, 2 и 9 (рис. 3). Различия в выживаемости двух тест-объектов наблюдается в пробах 3-4, где наблюдалась хоро-

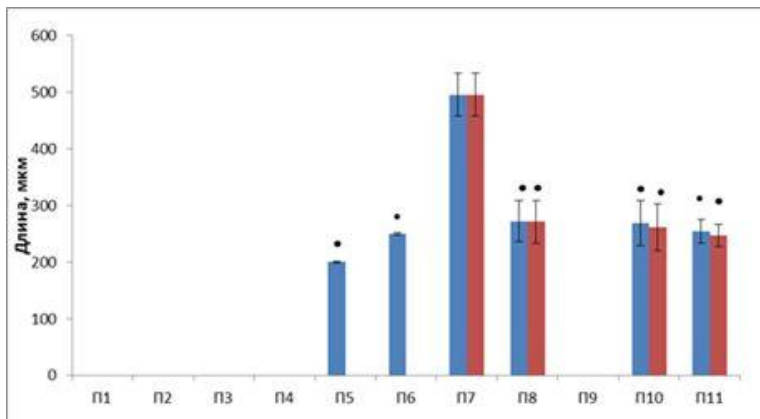


Рисунок 2. Ростовые показатели *Heterocypris incongruens* для оценки воспроизводимости методики (\*отмечено значимое отклонение от контроля)

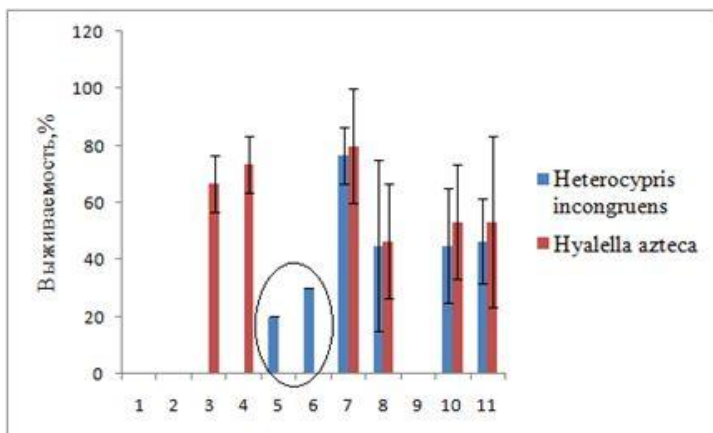


Рисунок 3. Выживаемость остракод и амфипод при тестировании донных отложений пруда Адмиралтейский

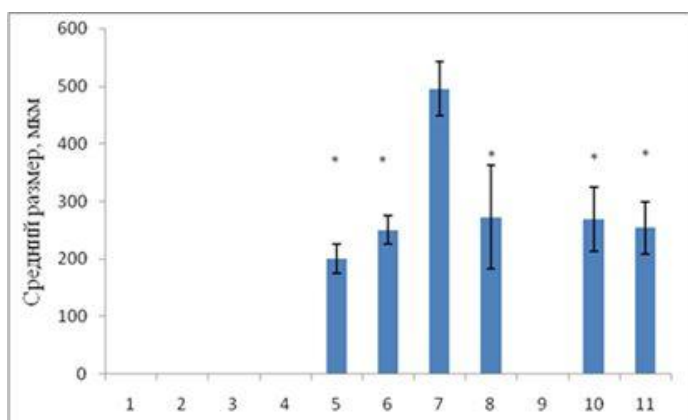


Рисунок 4. Средний размер остракод при тестировании донных отложений пруда Адмиралтейский (\*отмечено значимое отклонение от контроля при  $p < 0,05$ )

шая выживаемость амфипод по сравнению с остракодами и в пробах 5-6, где отмечена низкая выживаемость остракод при абсолютной смертности амфипод.

Аналогичные результаты были получены и по критерию ингибирования роста остракод. Все пробы (за исключением пробы 7), можно признать токсичными (рис. 4). По ингибированию роста амфипод пробы 7, 10 и 11 можно признать токсичными, т.к. в них наблюдается значимое различие размеров по сравнению с контролем (рис. 5).

Зависимость выживаемости *Heterocypris incongruens* и *Hyalella azteca* достаточно сильная ( $R^2=0,85$ ) и менее сильная по критерию ингибирования роста ( $R^2=0,56$ ).

### Заключение

Таким образом, можно заключить, что обе методики продемонстрировали чувствительность к загрязнению в составе донных отложений, характеризуются хорошими показателями сходимости и воспроизводимости результатов и могут быть широко использованы в токсикологических исследованиях донных отложений.

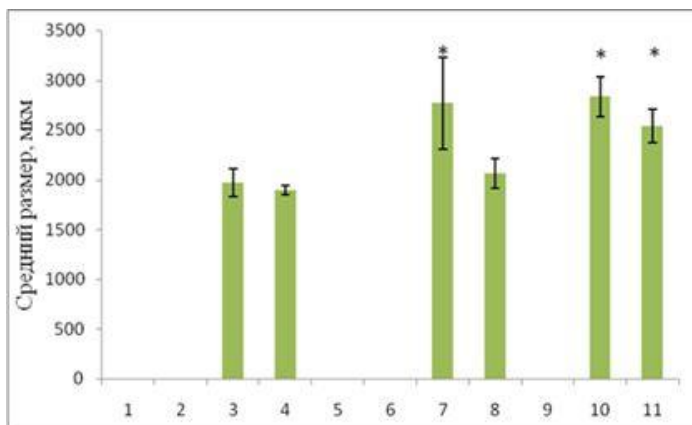


Рисунок 5. Средний размер амфипод при тестировании донных отложений пруду Адмиралтейский (\*отмечено значимое отклонение от контроля при  $p < 0,05$ )

Однако следует отметить, что методика на остракодах *Heterocypris incongruens* имеет ряд преимуществ по сравнению с методикой на *Hyalella azteca*: отсутствие необходимости поддерживать лабораторную культуру остракод; меньший срок проведения эксперимента (6 дней против 14 на амфиподах); меньший объем пробы, необходимой для проведения анализа (10 г против 300 г на амфиподах). Наряду с сопоставимой чувствительностью с другими классическими тест-объектами вышеперечисленные преимущества создают условия для широко распространения тестирования на остракодах *Heterocypris incongruens* для оценки токсичности донных отложений.

### Цитируемая литература

- Бакаева Е.Н., Никаноров А.М., Игнатова Н.А. Место биотестовых исследований донных отложений в мониторинге водных объектов//Вестник южного научного центра РАН Том 5, № 2, 2009, с. 84–93.
- ГОСТ 17.1.5.01-80. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб донных отложений водных объектов для анализа на загрязненность.
- Baudo R. The bioassay-based approach in sediment quality assessment // Ann Ist Super Sanita, 2008. Vol.44. N3. pp.233-238.
- Chial B. and Persoone G. Cyst-based toxicity tests XIV – Application of the ostracod solid-phase microbioassay for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium). // Environ. Toxicol. 2002. 17. 533–537.
- Chial B., Persoone G. and Blaise C. Cyst-based toxicity tests XVI – Sensitivity comparison of the solid phase *Heterocypris incongruens* microbioassay with the *Hyalella azteca* and *Chironomus riparius* contact assays on freshwater sediments from Peninsula harbor (Ontario, Canada). // Chemosphere. 2003. 52. 95–101.
- Cooman W. De, Blaise C., Janssen C., Detemmerman L., Elst R., Persoone G. History and sensitivity comparison of two standard whole-sediment toxicity tests with crustaceans: the amphipod *Hyalella azteca* and the ostracod *Heterocypris incongruens* microbioassay. // Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst. 2015. 416. 15.
- EPA/600/R-99/064. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment –associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. 2000. P. 192.
- ISO 14371:2012. Water quality -- Determination of fresh water sediment toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda).
- Kemble N.E., Brumbaugh W.G., Brunson E.L., Dwyer F.S., Ingersoll C.G., Monda D.P., and Woodward D.F. Toxicity of metal – contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana, to aquatic invertebrates in laboratory exposures. // Environ. Toxicol. Chem. 1994.13: 1985-1997.

# УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*, ИМЕЮЩИХ МУТАЦИИ В СИНТЕЗЕ ПОЛИСАХАРИДОВ, К ВОЗДЕЙСТВИЮ СОЕДИНЕНИЙ МЕДИ

Телешева Е.М., Шелудько А.В., Филипъчева Ю.А., Сиянкин Д.Н.,  
Петрова Л.П., Кацы Е.И.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия; sentebrinka@mail.ru

## Аннотация

Бактерии рода *Azospirillum* распространены практически повсеместно и способны к ассоциативному симбиозу с широким кругом растений [1, 2]. Важную роль в микробно-растительном взаимодействии играют высокомолекулярные вещества, локализованные на поверхности азоспирилл, в том числе липополисахариды (ЛПС) и полисахариды, связывающие “прижизненный” краситель калькофлуор [3, 4]. Ионы меди необходимы для многих биохимических реакций; в то же время, медь относится к тяжелым металлам, которые в повышенных концентрациях токсичны. В настоящей работе проанализировано влияние различных концентраций ионов меди на рост бактериальных культур и формирование биопленок *in planta* и на абиотических поверхностях штаммом *Azospirillum brasilense* Sp245 (Ca<sup>+</sup> фенотип) и его оригинальными мутантами по продукции поверхностных полисахаридов: Ca<sup>+</sup> LpsI<sup>-</sup> KM018, LpsII<sup>-</sup> KM139 (утратили нейтральный О-полисахарид (ОПС)) и Ca<sup>+</sup> LpsI<sup>-</sup> KM252 (утратил кислый ОПС) [5, 6]. Установлено, что при культивировании в присутствии 0,2 мМ CuSO<sub>4</sub> клетки KM018 аккумулируют в 2,2 раза больше меди, чем Sp245, KM139 – в 2,8 раза больше металла, а в случае KM252 – в 1,7 раз больше меди. После культивирования с 0,5 мМ меди ее содержание в клетках Sp245 возрастает в 1,8 раз по сравнению с величиной, характерной для клеток, выращенных с 0,2 мМ CuSO<sub>4</sub>. Рост штамма *A. brasilense* Sp245 подавляется в присутствии 0,9 мМ CuSO<sub>4</sub>. Рост мутантов ингибирует 0,5 мМ сульфата меди. В отличие от штамма *A. brasilense* Sp245 его мутанты KM252 и KM018 хуже колонизируют корни проростков пшеницы и образуют менее выраженные биопленки. Однако, в экспериментах *in planta* все исследованные бактерии более устойчивы к присутствию ионов меди, чем в чистой культуре. То есть концентрации меди (1,0 и 0,5 мМ), ингибирующие рост азоспирилл в чистой культуре, не оказывают подобного влияния на бактерии, живущие на растении. Ранее было установлено, что в процессе формирования биопленок на гидрофобной поверхности у штаммов KM018 и KM252 активизируется синтез ЛПС [7]. В данной работе показано, что в присутствии ионов меди увеличивается содержание ЛПС и в биопленках штамма Sp245. Об этом свидетельствует отношение значений, полученных с помощью иммуноферментного анализа, к количеству десорбированного красителя кристаллического фиолетового. Так отношение показателя, характеризующего содержание ЛПС антигенов в биопленках, сформированных под MSM с 0.001 или 0.5 мМ CuSO<sub>4</sub>, к показателю, характеризующему их биомассу, в случае штаммов Sp245, KM018 или KM252 составило соответственно 0,7/2,4; 4,8/6,0 или 1,1/2,8. [3]. Таким образом, у штамма Sp245 разнообразен состав и макромолекулярная организация биополимеров полисахаридной природы, представленных на клеточной поверхности/в капсуле, создающих определенный барьер для избыточного поступления ионов металлов в цитоплазму. Это, несомненно, сказывается на количестве меди, накапливающейся в клетках, и, отчасти, обуславливает определенный уровень устойчивости бактериальных культур Sp245 к негативному влиянию избытка меди в окружающей среде. Численность клеток штамма Sp245 на корнях в присутствии 0,001 и 1,0 мМ меди различается на порядок, а содержание полисахаридов одинаково. Эти результаты являются косвенным свидетельством того, что на корнях у штамма Sp245 в присутствии 1,0 мМ меди заметно активизируется синтез полисахаридных детерминант. У мутанта KM252 активация синтеза полисахаридов происходит независимо от присутствия меди.

**Ключевые слова:** *Azospirillum brasilense*, биопленки, липополисахариды, влияние меди.

### Цитируемая литература

1. Lugtenberg B., Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria // *Annu. Rev. Microbiol.*, V. 63. P. 541–556.
2. Berg G. 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, V. 84. № 1. P. 11–18.
3. Шелудько А.В., Кулибякина О.В., Широков А.А., Петрова Л.П., Матора Л.Ю., Кацы Е.И. 2008. Влияние мутаций в синтезе липополисахаридов и полисахаридов, связывающих калькофлуор, на формирование биопленок *Azospirillum brasilense* // *Микробиология*, Т. 77. № 3. С. 358–363.
4. Katsy E.I. 2014. Plasmid rearrangements and changes in cell surface architecture and social behavior of *Azospirillum brasilense* // *Plasticity in Plant-Growth-Promoting and Phytopathogenic Bacteria* / Ed. Katsy E.I. New York: Springer. P. 81–97.
5. Baldani V.L.D., Baldani J.I., Döbereiner J. 1983. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat // *Can. J. Microbiol.* V. 29. № 8. P. 924–929.
6. Katzy E.I., Matora L.Yu., Serebrennikova O.B., Scheludko A.V. 1998. Involvement of a 120-MDa plasmid of *Azospirillum brasilense* Sp245 in production of lipopolysaccharides // *Plasmid*. V. 40. № 1. P. 73–83.
7. Федоненко Ю.П., Здоровенко Э.Л., Коннова С.А., Игнагов В.В., Шляхтин Г.В. 2004. Сравнительные исследования липополисахаридов и О-специфических полисахаридов *Azospirillum brasilense* Sp245 и его омегон-Кт мутантов КМ018 и КМ252 // *Микробиология*. Т. 73. № 2. С. 180–187.

## RESISTANCE OF BACTERIA *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* WITH MUTATIONS IN THE SYNTHESIS OF POLYSACCHARIDES, EXPOSURE TO COPPER COMPOUNDS

Telesheva E.M., Shelud'ko A.V., Filip'cheva Yu.A., Sinyakin D.N.,  
Petrova L.P., Katsy E.I.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

Bacteria of the genus *Azospirillum* are widespread almost everywhere, and is able to mutually advantageous associative interaction with a wide range of plants. An important role in plant-microbe interactions play a high-molecular substances located on the surface of azospirill, including lipopolysaccharides (LPS) and polysaccharides binding the “lifetime” dye calcofluor.

In this work we analyzed the effect of different concentrations of copper ions on the growth of bacterial cultures and biofilm formation by *A. brasilense* Sp245 and its mutants original production of surface polysaccharides *in planta*, and on abiotic surfaces.

Changes in the production of lipopolysaccharides derived from strain *A. brasilense* Sp245 cause reduction of resistance to toxic action of copper and an increased accumulation of bacterial cells. The formation process of biofilms by bacteria *A. brasilense* increases resistance to the negative influence of copper ions. The excess copper in the incubation medium leads to an increase in content of polysaccharide antigens in the biofilm formed in *planta* and/or on the model surface of polystyrene strain *A. brasilense* Sp245 and its mutants with a changed composition of glycopolymers.

# БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Томилина И.В., Ложкина Р.А.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН, п. Борок Ярославской области, Россия; i\_tomilina@mail.ru

## Аннотация

Загрязнение природных водоемов в настоящее время является актуальной проблемой. Среди широкого спектра загрязняющих веществ, металлы (в первую очередь тяжелые) относятся к числу важнейших. Источники поступления этих веществ в водоемы весьма разнообразны, но основными принято считать предприятия металлургического и горно-добывающего комплекса. Рыбинское водохранилище с момента его образования и по настоящее время подвергается антропогенному загрязнению тяжелыми металлами, потенциальные пути поступления которого – сточные воды, атмосферный перенос, сток с водосборной территории и сток выпадающих в него рек. Основной источник локального поступления ТМ – коммунально-промышленный комплекс г. Череповца, расположенного в северной части Шекнинского плеса водохранилища. Рыбинское водохранилище, как водоём многоцелевого использования, служит источником водоснабжения и имеет рыбохозяйственное и рекреационное значение. Поэтому оценка качества элементов экосистемы водохранилища имеет важное значение как для гидробионтов, так и для человека. Для полноценного эколого-токсикологического мониторинга речь должна идти не только о качестве воды, но и об оценке степени токсической загрязненности всей водной экосистемы в целом с учетом ее подразделения на три взаимосвязанных подсистемы: воды, донных отложений и гидробионтов. Общий уровень загрязненности водоема определяется тремя взаимно обусловленными процессами: 1) масштабами и составом поступающих в него загрязнений; 2) взаимодействием воды и грунтов; 3) миграцией и трансформацией токсикантов в сообществах водоема, включая процессы накопления в гидробионтах. Неотъемлемой частью мониторинга состояния водных экосистем является оценка загрязнения грунтов. ДО – наиболее консервативный элемент водных экосистем и их химический состав, в отличие от водной среды, несет информацию о природной и техногенной составляющей загрязнения за длительный период времени. Благодаря своей способности аккумулировать многие неорганические и органические соединения ДО представляют собой одновременно мощный фактор самоочищения и вторичного загрязнения водоема. Токсикологическая оценка ДО позволяет выявить интегрированные эффекты всех токсикантов и их метаболитов, присутствующих в среде. Методу биотестирования отводится роль скрининга загрязнения, результатом которого является сигнальная информация о месте и степени токсичности водного объекта.

**Ключевые слова:** эколого-токсикологический мониторинг, биотестирование, донные отложения

## BIOASSAY IN THE ASSESSMENT OF THE ECOTOXICOLOGICAL STATUS OF THE RYBINSK RESERVOIR

Tomilina I.I., Lozhkina R.A.

The aim of this study was to assess heavy metals toxicity in sediments collected from a Rybinsk reservoir (Yaroslavl region) in the conditions of intensive human impact by using chemical analysis and a battery of bioassays. The studies showed that sediments from the Rybinsk reservoir are toxic, but the tested organisms showed different sensitivity to heavy metals occurring in the bottom sediments.

# ЭФФЕКТ БИОЧАРА НА ТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ, ОБРАБОТАННЫХ ПРОТИВОГОЛОЛЕДНЫМ РЕАГЕНТОМ

Топильская О.М.<sup>1</sup>, Учанов П.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, oxanaeden@mail.ru

<sup>2</sup>ИПЭЭ РАН им А.Н. Северцова, Москва, Россия;

## Аннотация

Актуальность исследования экологической безопасности городских почв, загрязненных противогололедными реагентами (ПГР), обусловлена недостаточной изученностью их эффектов на почвенную биоту и рисками нарушения экологических функций почв. Городские почвы испытывают воздействие ПГР на фоне загрязнения другими видами поллютантов, в частности, солями свинца и другими катионами тяжелых металлов. Среди возможных способов ремедиации загрязненных почв внимание заслуживает биочар (biochar) – продукт пиролиза древесины, известный почвоулучшитель содержащий 70-80 % углерода, способный сохранять влагу и сорбировать токсические вещества. Задача данного исследования заключалась в оценке эффективности биочара (производства ООО "Метаком", г. Пермь) по показателю снижения токсичности почвенных образцов, загрязненных хлоридом свинца и противогололедным реагентом. В ходе исследования было выявлено, что добавление биочара к почве, засоленной противогололедным реагентом – существенно снижает токсичность почвенных образцов, что проявилось в повышении выживаемости тест-культур дафний и инфузорий, увеличении длины корней горчицы белой.

**Ключевые слова:** биотестирование, биочар, почвоулучшитель, экология, городские почвы, ПГР, ремедиация

## Введение

Проблема экологической безопасности противогололедных реагентов (ПГР) вызывает непрекращающиеся дискуссии ввиду недостаточной изученности их эффектов на почвенную биоту и рисками нарушения экологических функций почв. Городские почвы испытывают воздействие ПГР на фоне загрязнения другими видами поллютантов. Среди возможных способов снижения токсичности таких почв внимание заслуживает биочар (biochar) – продукт пиролиза древесины, почвоулучшитель, содержащий 70-80 % углерода, способный сохранять влагу и сорбировать токсические вещества. Задача данного исследования заключалась в оценке эффективности биочара (производства ООО "Метаком", г. Пермь) по показателю снижения токсичности почвенных образцов, загрязненных хлоридом свинца и противогололедным реагентом.

## Материалы и методы

Исследование проводили на образцах почвы, отобранной на территории Учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ имени М. В. Ломоносова «Чашниково» (56° 1' 39" с.ш. 37° 10' 57" в.д.). Тип почвы по «Классификация и диагностика почв России» 2004 года – дерново-подзолистая типичная на покровном суглинке, малогумусная 4,4%, рН водн. 8,1, соленость 0,11 мСм (=0,055 мг/дм<sup>3</sup>).

Почву раскладывали в пластиковые сосуды по 400 г, доводили до влажности 60%, вносили хлорид свинца в количестве 523,8 мг/кг почвы, что соответствует 3 ОДК Рв<sup>+2</sup>. Смесь выдерживали 7 суток (для химического равновесия), затем добавляли ПГР-0; 2,5; 5; 10; 25 г на кг почвы и оставляли на 14 суток при комнатной температуре.

Биочар (Бч) испытывали в дозе, рекомендуемой производителем (1:4). На 400 г почвы добавляли 100 г Бч. По истечении 7 суток образцы отбирали для биотестирования. Оценку проводили методами биотестирования по реакциям инфузорий и

дафний на водные вытяжки из почвенных образцов, и развитию проростков семян высших растений (горчицы белой) в разных вариантах модельного эксперимента. Биотестирование проводилось по реакциям инфузорий (смертность по истечении 72 ч), дафний (смертность по истечении 94 часов) и цериодафний, высшим растениям (длина проростков по истечении 94 ч)[3-6].

## Результаты

Влияние противогололедного реагента (ПГР).

По мере увеличения дозы внесения ПГР (2,5; 5; 10; 25 г/кг почвы) наблюдалось увеличение токсичности почв, что обусловлено, очевидно, повышением минерализации водных экстрактов в диапазоне от 0,11 до 7,7 г/л (рис. 1А и 1Б). Рост корней горчицы белой при малых дозах ПГР несколько увеличивался, при больших дозах – прекращался (рис. 1В).

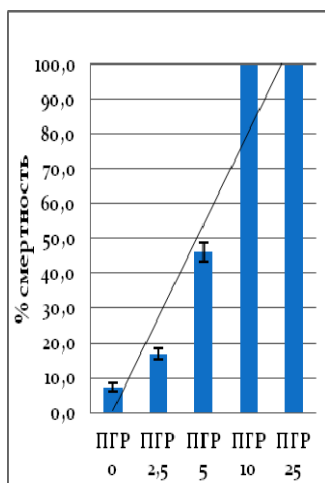


Рис. 1А. Эффект добавок ПГР на выживаемость инфузорий в водных экстрактах почвенных образцов

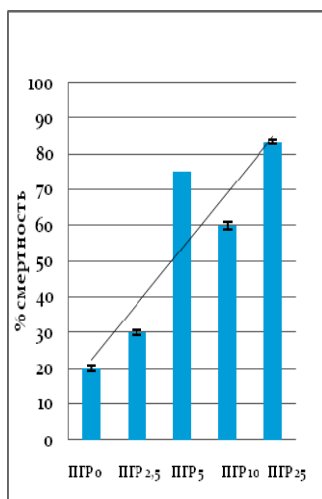


Рис. 1Б. Эффект добавок ПГР на выживаемость дафний в водных экстрактах образцов почв

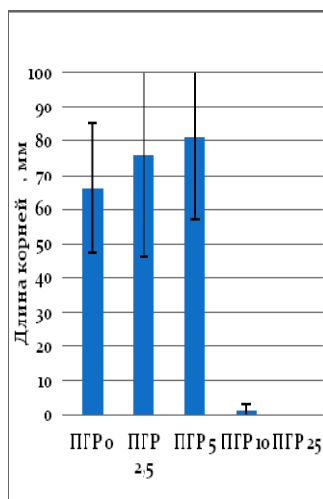


Рис. 1В. Эффект добавок к почве ПГР на рост корней проростков семян горчицы белой

При добавлении хлорида свинца токсичность заметно менялась (рис. 2). Так, при оценке образцов с ПГР 5,0 и 10 г/кг почвы смертность инфузорий снижалась на 10 и 60 %, соответственно (рис. 2А). Смертность дафний заметно снижалась в тех же образцах с 5 и 10 ПГР г/кг – на 50 и 25% (рис. 2Б). По результатам фитотестирования заметно, что добавление хлорида свинца увеличивает прирост корней в среднем на 20% по сравнению с незагрязненным образцом (фон) (рис. 1В). В образце с ПГР 10 г/кг увеличение длины корней достигало 50% (рис. 2В). Наблюдаемый эффект возможно обусловлен антагонизмом или нейтрализацией токсикантов.

Добавление биочара влияет на токсичность почвенных образцов (рис. 3). Гибель инфузорий снижается на 45% в образце с ПГР 25 г/кг. (рис.3 А). По реакциям цериодафний заметно снижение смертности в диапазоне от 25 до 45% после внесения биочара (рис. 3Б). Фитотестирование показало, что после добавления



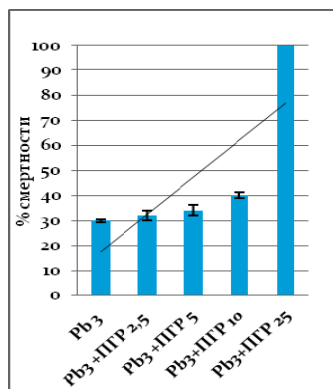


Рис. 2 А) Эффект добавок ПГР и PbCl<sub>2</sub> на выживаемость инфузорий в водных экстрактах почвенных образцов

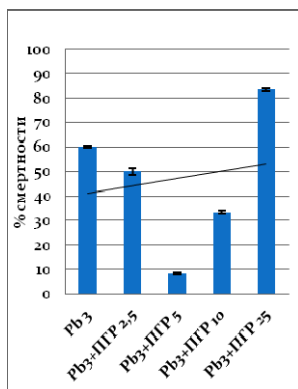


Рис. 2 Б) Эффект добавок ПГР и PbCl<sub>2</sub> на выживаемость дафний в водных экстрактах образцов почв

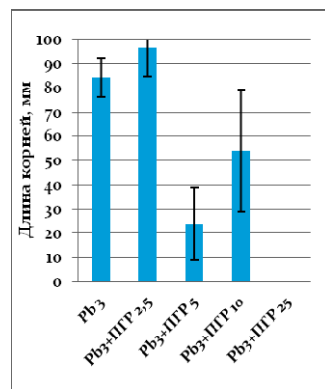


Рис. 2 В) Эффект добавок к почве ПГР и PbCl<sub>2</sub> на рост корней проростков семян горчицы белой

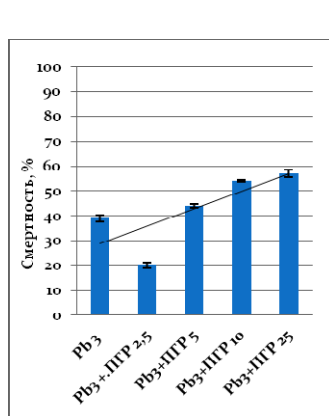


Рис. 3А. Эффект добавок Биочара+ ПГР+PbCl<sub>2</sub> на выживаемость инфузорий в водных экстрактах почвенных образцов

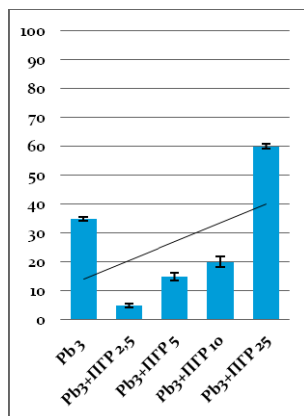


Рис. 3Б. Эффект добавок Биочара+ ПГР+ PbCl<sub>2</sub> на выживаемость дафний в водных экстрактах образцов почв

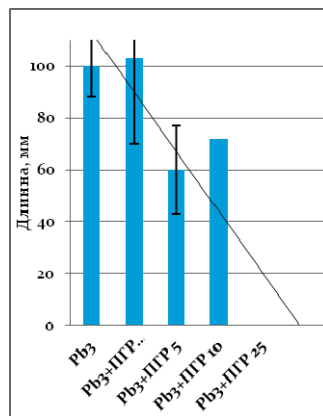


Рис. 3В. Эффект добавок к почве Биочара+ ПГР+ PbCl<sub>2</sub> на рост корней проростков семян горчицы белой

почвоулучшителя к почвенным образцам длина корней увеличивалась. В наиболее загрязненных образцах с хлоридом свинца и ПГР 5 и 10 г/кг рост корней увеличился на 35 и 20%, соответственно (рис. 3В).

### Заключение

Высокие дозы противогололедного реагента (ПГР, г/кг выше 2,5 г/кг) вызывают токсические эффекты на живые организмы в стандартных биотестах. Добавление биочара к почве, засоленной противогололедным реагентом (ПГР), существенно снижает токсичность почвенных образцов, что проявилось в повышении выживаемости тест-культур дафний и инфузорий, увеличении длины корней горчицы белой.

При добавлении хлорида свинца в количестве, соответствующем 3 ОДК Pb, на-

блюдалось нередкое при воздействии умеренных доз стрессоров явление гормезиса. Стимулирующее действие исследуемых доз свинца проявилось как в увеличении процента выживаемости тест-культур инфузорий и дафний, так и в увеличении длины корней горчицы белой.

### Цитируемая литература

1. Алексеев Ю. В. Тяжёлые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1987. - 142 с.
2. Водяницкий, Ю.Н. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязнённых почвах / Ю.Н. Водяницкий. - М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева Росельхозакадемии, 2009. - 96 с.
3. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: АКВАРОС, 2007. 52 с.
4. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. М.: АКВАРОС, 2007. 56 с.
5. Рахлеева А.А., Терехова В.А. Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных вод, сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg (2 редакция). М.: МГУ, 2008. 34 с.
6. Терехова и др., Методика «ФИТОСКАН, 2012 7. Шмидт Ханс-Петер. Использование биоугля. 2012

### Благодарности

Работа поддержана грантом программы Президиума "Природа: современное состояние и проблемы развития».

Токсикологические эксперименты проводились с использованием тест-культур, оптимизация условий культивирования которых проводится в рамках гранта РФФИ 14-50-00029. (The bioassay experiments in this work were supported by Russian Science Foundation (grant 14-50-00029).

## THE EFFECT OF BIOCHAR ON SOIL TOXICITY, TREATED ANTI-ICING AGENT

Topilskaya O. M., Uhanov P.V.

The research the ecological safety of urban soils, contaminated with de-icing agents (PGR), due to insufficient knowledge of their effects on soil biota and risks of dysfunction the soil. Urban soils are exposed to PGR in conjunction with other pollutants, such as lead salts and other heavy metals. Among the possible ways of remediation contaminated soil, deserves the attention biochar (biochar) – the product of the pyrolysis wood, soil improver containing 70-80% carbon, able to absorb toxic substances. The objective of this study was to assess the effectiveness of biochar (production of "Metakom", Perm) to reduce the toxicity of soil samples contaminated with lead chloride and de-icing agent. The research demonstrated that the addition of biochar to the soil with PGR - significantly reduces the toxicity of soil samples, which was manifested in increasing the survival of test-cultures of *Daphnia* and ciliates, and also increasing the length of the roots of white mustard.

# АНАЛИЗ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У *DUGESIA TIGRINA* ПОСЛЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Ускалова Д.В., Маркина Е.С.

ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия; uskalovad@mail.ru

## Аннотация

Впервые в исследовании механизмов действия низкоинтенсивного радиационного воздействия *in vivo* на планариях *Dugesia tigrina* использован МТТ-тест, традиционно применяемый *in vitro* для тестирования лекарственных препаратов на цитотоксичность. Выявлено снижение митохондриальной активности планарий после воздействия ЭМИ с частотой 900 МГц и плотностью потока энергии 100 мкВт/см<sup>2</sup> и экспозициями от 1 до 96 ч, а также гамма-облучения в дозах от 100 до 1000 мГр. Эффект коррелирует с нарушением регенерационной активности планарий при облучении с указанными параметрами.

**Ключевые слова:** *Dugesia tigrina*, планарии, МТТ-тест, митохондриальная активность, цитотоксичность, регенерация, радиочастотное излучение, гамма-излучение.

## Введение

Впервые в исследовании механизмов действия низкоинтенсивного радиационного воздействия на планариях *Dugesia tigrina* использован МТТ-тест, традиционно применяемый *in vitro* для тестирования лекарственных препаратов на цитотоксичность [3]. МТТ-анализ является колориметрическим тестом, который измеряет активность ферментов, восстанавливающих МТТ (желтый бромид тетразолия) до формазана в живых клетках. Показатель суммирует активность митохондриальных дегидрогеназ, в первую очередь сукцинатдегидрогеназы и других оксидаз, которые катализируют свободнорадикальные процессы в дыхательной цепи с образованием короткоживущего супероксид-анион радикала, а также широкого спектра долгоживущих активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительный стресс.

Целью работы являлся анализ нарушения митохондриальной активности у *Dugesia tigrina* после низкоинтенсивного радиационного воздействия как возможного механизма снижения регенерации.

## Материалы и методы

Культивирование планарий осуществляли в кристаллизационной чаше (кристаллизаторе), выполненной из стекла марки ТС (ГОСТ 25336–82) с дважды фильтрованной водопроводной водой (рН 7,57±1,5, жесткость 6,1±0,6 мг/л, Fe 0,18 мг/л). Планарий содержали в климатостате с режимом освещения 12/12 свет/тьма при температуре 25±0,2 °С. Кормление осуществляли 2 раза в неделю говяжьей печенью. Для проведения экспериментов случайным образом выбирали особей примерно 10 мм в длину. За неделю до эксперимента кормление останавливали.

Опытные группы планарий по 5 особей декапитировали и выдерживали в электромагнитном поле с частотой 900 МГц и плотностью потока энергии 100 мкВт/см<sup>2</sup> с экспозициями 1, 2, 3 и 96 ч, а также облучали  $\gamma$ -квантами <sup>60</sup>Со в дозах 10, 100, 1000 и 10000 мГр (мощность дозы 2,8 – 96 сГр/мин). МТТ-анализ проводили на 4 сутки после декапитации. Контрольная группа находилась в тех же условиях, но без облучения. Анализ дегидрогеназной активности проводили по изменению оптической плотности суспензии клеток в ресуспендированных образцах. Регенерационную активность планарий оценивали по стандартной методике [6] с использованием программы «Image-pro» Статистическая обработка выполнена с помощью пакета

программы STATISTICA 12. Значимость отличия с контролем оценена тестом Манна-Уитни.

### Результаты

На рис. 1 представлены результаты изменения митохондриальной активности планарий после радиационного воздействия с исследуемыми параметрами.

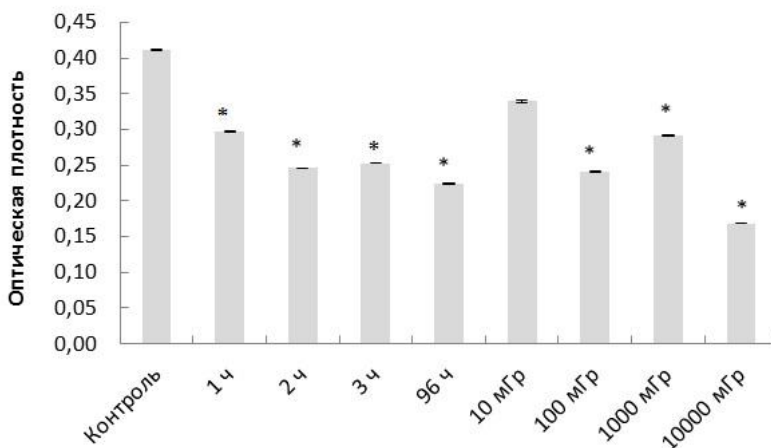


Рис. 1. Изменение митохондриальной активности планарий после воздействия ЭМИ и гамма-квантов. \*  $P < 0,05$

Обнаружено, что  $\gamma$ -излучение в дозах 100, 1000 и 10000 мГр вызывает значимое снижение митохондриальной активности. При облучении в дозе 10 мГр значимых различий с контрольной группой нет. При нахождении планарий в ЭМП токсический эффект облучения обнаружен при экспозициях от 1 ч.

На рис. 2 представлено изменение регенерационной активности планарий после радиационного воздействия с исследуемыми параметрами.

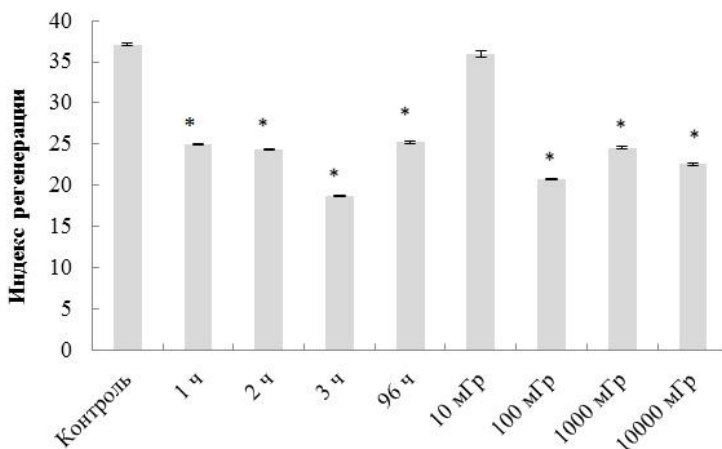


Рисунок 2. Изменение индекса регенерации планарий после воздействия ЭМИ и малых доз гамма-излучения. \*  $P < 0,05$

Выявлено, что снижение индекса регенерации при действии низкоинтенсивного радиочастного излучения происходит при всех экспозициях.  $\gamma$ -излучение вызывает регенерационные изменения после облучения в дозах выше 10 мГр, что коррелирует с нарушением митохондриальной активности (коэффициент корреляции составил 0,09).

### Заключение

Цитотоксический эффект, выражающийся в снижении митохондриальной активности планарий, был выявлен как для малых доз гамма-излучения, так и для экспозиций в электромагнитном поле. Возможно, при низкоинтенсивном радиационном воздействии образуются АФК, которые инициируют процессы перекисного окисления липидов мембран и нарушают внутримембранные потоки энергии, связанные в митохондриях с синтезом АТФ, приводя к многочисленным функциональным нарушениям в клетках и снижению их жизнеспособности. Из-за этого нарушаются процесс пролиферации клеток, что объясняет снижение регенерационной активности планарий. [1, 4]. Таким образом, изменение показателя митохондриальной активности является информативным и может быть применен наряду с индексом регенерации в исследовании эффектов радиационного воздействия на планарий.

### Цитируемая литература:

1. Ali S., van Mil H.G., Richardson M.K. Large-scale assessment of the zebrafish embryo as a possible predictive model in toxicity testing // PLoS One. 2011. 6 (6). e21076. doi: 10.1371/journal.pone.0021076
2. Hara Kang and Alejandro Sanchez Alvarado. Flow Cytometry Methods for the Study of Cell-Cycle Parameters of Planarian Stem Cells// Developmental dynamics 238, 2009:1111–1117
3. Hatok J., Babusikova E., Matakova T., Mistuna D., Dobrota D., Racay P. In vitro assays for the evaluation of drug resistance in tumor cells // Clin Exp Med., 2009. 9 (1). P. 1–7. doi: 10.1007/s10238-008-0011-3
4. Repetto G., del Peso A., Zurita J.L. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity // Nature Protocols. 2008. 3 (7). P. 1125–1131. doi: 10.1038/nprot.2008.75; 5. Ali S., van Mil H.G., Richardson M.K. Large-scale assessment of the zebrafish embryo as a possible predictive model in toxicity testing // PLoS One. 2011. 6 (6). e21076. doi: 10.1371/journal.pone.0021076
6. Тирас Х.П. Критерии и стадии регенерации у планарий / Х.П. Тирас, В.И. Хачко // Онтогенез. – 1990. – Т. 21. – С. 620 – 624

### ANALYSIS OF VIOLATIONS OF MITOCHONDRIAL ACTIVITY *DUGESIA TIGRINA* AFTER A SINGLE ELECTROMAGNETIC RF AND LOW DOSE GAMMA - IRRADIATION Uskalova D., Markina E.

Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering NRNU MEPHI, Obninsk, Kaluga region, 249040, Russian Federation

For the first time in the study of the mechanisms of low-intensity electromagnetic radiation of radio-frequency and low doses of gamma radiation in vivo in the planarian *Dugesia tigrina* used MTT test, which traditionally used for in vitro testing of drugs for cytotoxicity.

We find the changes of planarians dehydrogenase activity after exposure to EMI with a frequency of 900 MHz and the energy flux density of 100 mW/cm<sup>2</sup>, and small doses of gamma radiation.

A significant decrease in the optical density of the indicator under the influence of low-intensity radiation radiochastnogo occurs at exposures 1, 2, 3 and 96 hours

The action of gamma-radiation in doses of 100, 1000 and 10000 mGy causes toxic effects. Irradiation at a dose of 10 cGy significant differences with the control group were found. The effect correlates with reduced regeneration index. MTT-method can be used in further research on this subject.

## ИЗМЕНЕНИЕ РОСТОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОМИЦЕТА *ALTERNARIA ALTERNATA* ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИГНОГУМАТА ПРИ РАЗНОМ ОБОГАЩЕНИИ СРЕДЫ УГЛЕВОДАМИ

Федосеева Е.В.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>1,2</sup>, Сапункова Н.Ю.<sup>1</sup>, Бондаренко К.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия; elenfedoseeva@gmail.com; kafmedbio@gmail.com

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

### Аннотация

В работе исследовали воздействие гуминового препарата (ГП, лигнотумата) на рост *Alternaria alternata* в двух вариантах модифицированной среды Чапека, различающихся содержанием сахарозы (30 и 3 г/л). Установлено, что испытанные концентрации ГП (0,1 и 0,02 %) в обоих вариантах жидкой среды стимулировали накопление мицелия. На агаризованной среде высокое содержание сахарозы (30 г/л) лимитировало стимуляцию. В присутствии 0,1 % ГП на 10 сутки колонии были почти в два раза меньше, чем в контроле. На среде при дефиците легкодоступных углеводов (3 г/л) развитие колоний и спороношения гриба, возможно, происходило за счет труднодоступных углеродсодержащих компонентов (ГП и агар-агара), поскольку обе концентрации ГП не оказывали угнетающего действия на *A. alternata*.

**Ключевые слова:** микромицеты, гуминовые вещества, меланины, сахара

### Введение

Почвообитающие грибы за счет внеклеточной продукции неспецифических окислительных ферментов активно вовлечены в процессы синтеза, трансформации и минерализации гуминовых веществ (Mirchink, 1988; Lindahl et al. 2007; Zavarzina, et al., 2011). Отмечается неодинаковая способность различных групп грибов к деградации гуминовых веществ и росту в их присутствии. Деградация лигнина и родственных соединений грибами из группы «белой гнили» происходит только в присутствии легко усваиваемого источника углерода, например, глюкозы (Zavarzina, et al., 2011). Некоторые виды микромицетов (например, *Trichoderma atroviride*) могут расти на средах с гуминовыми кислотами или углями, используя их как единственный источник углерода (Gramss et al., 1999; Silva-Stenico et al., 2007). При этом почвообитающие микромицеты является очень лабильной группой организмов, быстро реагирующей на изменение физико-химических параметров окружающей среды, в первую очередь, на изменение содержания органического вещества. Отклики микромицетов весьма разнообразны: от биохимических (активность ферментов, продукция метаболитов) до морфолого-культуральных (скорость роста колоний, время начала и интенсивность спороношения, пигментация и другие) (Билай, 1982). В работе исследовали реакцию чистой культуры микромицета *Alternaria alternata* по ростовым показателям на присутствие в среде роста гуминовых веществ в зависимости от разной насыщенности среды сахарозой.

### Материалы и методы

Исследовали накопление биомассы мицелия, скорость роста колонии и интенсивность спороношения гриба в двух модификациях среды Чапека: вариант А) сахарозы

– 30 г/л; вариант Б) сахарозы – 3 г/л. В качестве дополнительного источника углерода в оба варианта среды Чапека вносили гуминовый препарат (ГП) – лигногумат (гумат калия из лигносульфоната) в конечных концентрациях (%): 0,02 и 0,1. В колбы двух вариантов опыта вносили 0,02 и 0,1 % ГП до начала экспозиции среды с инокулюмом гриба, в третьем варианте 0,02% ГП вносили в среду после недельной экспозиции среды без добавок. В качестве контроля рассматривались варианты среды Чапека с сахарозой без ГП. Развитие колоний (радиальную скорость роста) и спороношение оценивали на агаризованной среде Чапека в чашках Петри, предварительно добавив в расплавленную среду ГП. Замеры диаметра анализировали на 5 и 10 сутки. Биомассу мицелия оценивали после 2-х недельного роста микромицета в жидкой среде Чапека в 250-мл колбах при постоянном перемешивании среды. Для определения сухого веса мицелий высушивали при 115<sup>o</sup>C. Эксперименты проводили в трехкратной повторности.

### Результаты

Результаты свидетельствуют, что внесение ГП стимулирует накопление биомассы мицелия *A. alternata* (рис. 1). При этом стимулирующий эффект неодинаково проявился в вариантах среды Чапека с разным содержанием сахарозы. При концентрации сахарозы 30 г/л не наблюдалось прямой зависимости между дозой вносимого ГП и эффектом стимуляции. В среде Чапека со сниженным (3 г/л) содержанием сахарозы больший стимулирующий эффект проявлялся при внесении 0,1% ГП и при внесении 0,02% ГП после недели роста без добавок, в то время как внесение в жидкую среду 0,02% ГП до начала роста гриба вызывало стимуляцию не столь выраженную.

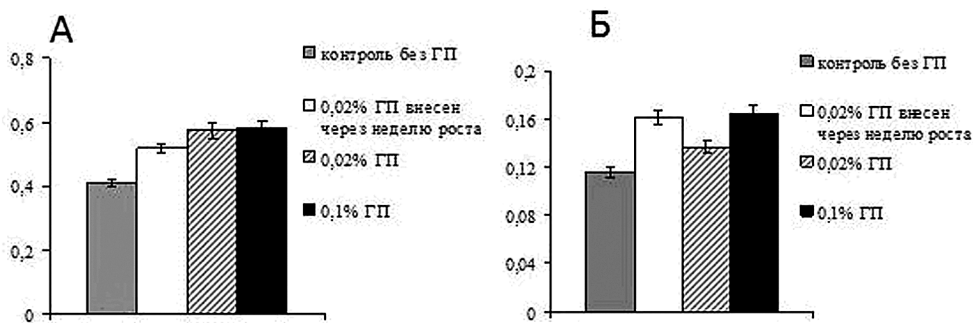


Рис. 1. Биомасса (г/250 мл среды) микромицета *Alternaria alternata* при росте в двух вариантах среды Чапека: А) сахарозы -30 г/л и Б) сахарозы 3 г/л

По показателю радиального роста колонии *A. alternata* эффекта стимуляции при внесении ГП не наблюдалось (рис. 2). Напротив, достаточно выражен эффект угнетения. В наибольшей степени он проявился на агаризованной среде Чапека, насыщенной сахарозой, с внесением 0,1% ГП (рис. 2А). Вероятно, на обедненной углеродом среде гриб способен мобилизовать ферментный аппарат и потреблять его из труднодоступного субстрата. Согласно нашим данным, на «голодной» среде Чапека данные по радиальному росту *A. alternata* схожи с таковыми на среде Чапека с 3 г/л сахарозой.

Пропорционально диаметру и площади колонии развивалась и зона спороношения. На рисунке 3А заметно угнетение роста колонии и спороношения *A. alternata* на агаризованной среде Чапека, насыщенной сахарозой, при 0,1% ГП. Тогда как, при

том же содержании ГП на среде со сниженной концентрацией сахарозы колония того же возраста и по площади, и по зонеспороношению больше (рис. 3Б).

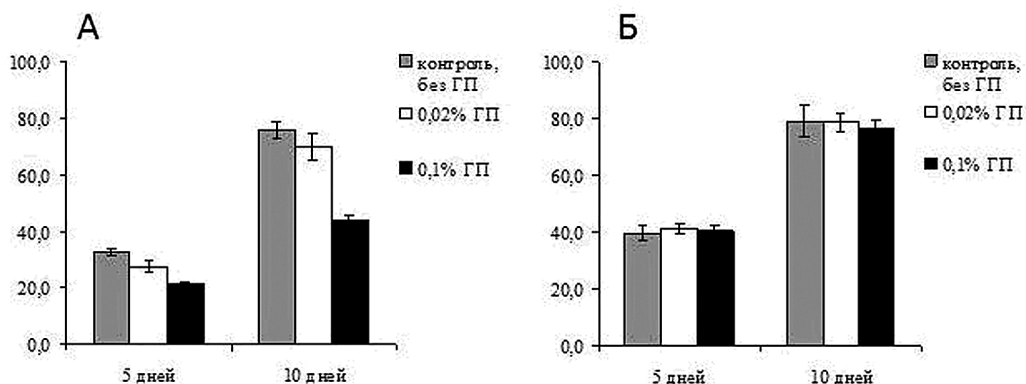


Рисунок 2. Диаметр колоний (в мм) микромицета *Alternaria alternata* при росте на агаризованной среде Чапека в вариантах: А) сахарозы - 30 г/л и Б) сахарозы- 3 г/л

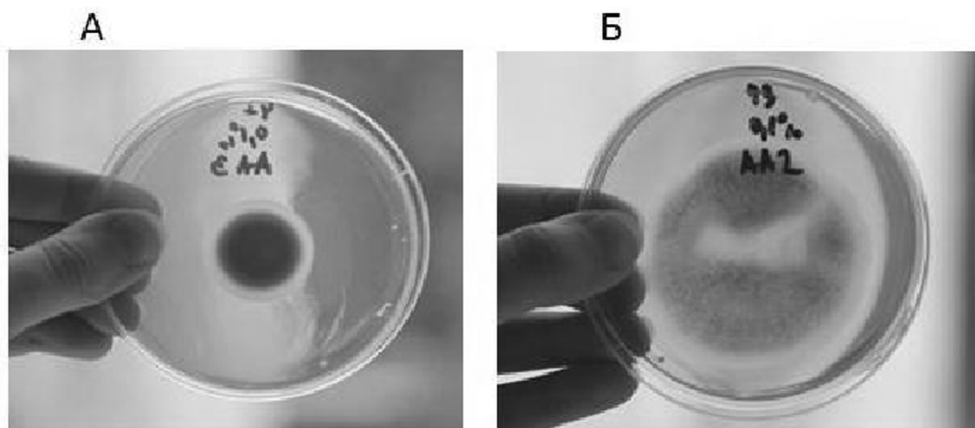


Рисунок 3.

### Заключение

Таким образом, очевидно, что реакция микромицета на присутствие гуминового вещества различается в зависимости от условий среды. В жидкой среде исследованные дозы сахарозы не являются лимитирующими для стимулирующей активности гумата. На агаризованной же среде, где дополнительным источником углерода служит еще и агар-агар, и труднодоступные компоненты ГП, динамика исследуемых показателей роста иная.

### Цитируемая литература

1. Gramss G., Ziegenhagen D., Sorge S. (1999) Degradation of soil humic extract by wood- and soil-associated fungi, bacteria, and commercial enzymes // Microbiol. Ecol. № 37. P.140-151.
2. Lindahl BD, Ihrmark K, Boberg J, Trumbore SE, Hogberg P, Stenlid J, Finlay RD (2007) Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. New Phytol 173:611-620



3. Silva-Stenico ME, Vengadajellum CJ, Janjua HA, Harrison STL, Burton SG, Cowan DA (2007) Degradation of low rank coal by *Trichoderma atroviride* ES11. *J Ind Microbiol Biotechnol* 34:625–631
4. Zavarzina A.G., Lisov A.A., Zavarzin A.A., and Leontievsky A.A. Fungal Oxidoreductases and Humification in Forest Soils /G. Shukla and A. Varma (eds.)/ *Soil Enzymology, Soil Biology*, 2011, 22, - P. 207-229
5. Методы экспериментальной микологии. Справочник под ред. В.И. Билай, Киев «Наукова думка», 1982
6. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.

### **Благодарности**

Представленная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-00690 мол\_а «Изучение трансформации гуминовых веществ микромицетами в загрязненных средах на основе спектральных методов анализа». Авторы выражают благодарность д.б.н. Марфениной О.Е. и к.б.н. Ивановой А.Е. за предоставление культуры *Alternaria alternata*.

### **MODIFICATIONS OF GROWTH CHARACTERISTICS OF MICROMYCETE *ALTERNARIA ALTERNATA* UNDER LIGNOHUMATE INDIFFERENT ENRICHMENT MEDIA BY CARBOHYDRATES**

**Fedoseeva E.V.<sup>1</sup>, Terekhova V.A.<sup>1,2</sup>, Sapunkova N.Yu.<sup>1</sup>, Bondarenko K.S.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)

<sup>2</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution

The article describes the effects of humic substances (HS, lignohumate) on growth *Alternaria alternata* in two variants modified Czapeks medium differing with the content of sucrose (30 and 3 g / l). It is shown that the investigated concentration of HS (0.1 and 0.02%) stimulated mycelium accumulation in both modification of the culture fluid. On the agar-medium high content of sucrose (30 g / l) limited the stimulation. In the presence of 0.1% HS for the 10th days colonies were almost twice as less than in the control. The conclusion was drawn that both concentration of HS did not have a depressing effect on *A. alternata*. It is assumed that in the conditions of deficiency of easily digested carbohydrates development of colonies and sporulation of *A. alternata* was due to large carbon-containing components (HS and agar-agar).

### **ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ: ИНФОРМАТИВНОСТЬ И УНИВЕРСАЛЬНОСТЬ**

**Филенко О.Ф.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ofilenko@mail.ru

<sup>2</sup> Факультет почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, terekhova@gmail.com

**Аннотация.** В докладе затронуты вопросы становления биотестирования, его применения в разработки критериев качества и токсикологического контроля окружающей среды и необходимости гармонизации задач биотестирования в решении экологических проблем. Подчеркнута необходимость повышения воспроизводимости экотоксикологических оценок путем обоснованного выбора методов и тест-объектов, унификации методических приемов, создания банка и коллекций тест-организмов.

Никто не может точно сказать, когда впервые появилось биотестирование, как средство оценки качества непосредственной среды обитания человека. Классическим примером может служить традиционное использование мелких птиц в рудни-

ках в прошлые века для оценки содержания опасных для человека газов в воздухе. Что касается выявления угрожающих условий для жизни других живых существ, то такой прием целенаправленно применяется с 19 века. Часто такие испытания становились многоплановыми и скрупулезными и в России, и в других странах (Бэр, 1860; Гримм, 1891; Арнольд, 1897). В качестве примера можно сослаться на работы в России по оценке качества вод в р. Волге в связи с перевозом нефти и нефтепродуктов в деревянных баржах (Купцис, 1901), в которых оценивалось действие нефтепродуктов в водной среде на широком круге организмов, и на появление известной «рыбной пробы» предложенной Никитинским и Долговым в 1913 г. В этот же период проявляется интерес к качеству водной среды и в других странах, например – в США (Тарзвелл, 1979).

Важно отметить, что многие проблемы и позиции методологии токсикологического контроля, обсуждаемые в настоящее время, были известны и обсуждались более 100 лет назад.

С этого же времени начинают формироваться и основы будущей биоиндикации. Так, Гримм полагал, что только нефтяная пленка уничтожает в Волге ежегодно «118 млн. пудов мошек». Арнольд в качестве наиболее чувствительного к загрязнению водной среды объекта выделял дафний (Гримм, 1881, 1892; Арнольд, 1903). Авторы оценивали и ущерб для пойменных угодий Волги в результате нефтяных проливаний.

С тех пор развились и остались актуальными и биоиндикация, и биотестирование, которое было положено в основу токсикологического контроля загрязнения среды и экотоксикологического нормирования (Филенко, Медянкина, 2011; Терехова, 2012, 2013; Филенко, 2014). В нашем сообщении затрагиваются такие проблемы, как взаимосвязь токсикологического контроля с нормированием загрязнения, некоторые меры по повышению надежности и воспроизводимости оценок.

Некоторые приемы биотестирования адаптированы к проведению экологической экспертизы состояния природных и сточных вод, введения в эксплуатацию новых технологий и материалов, реконструкции и технического переоснащения хозяйственных объектов, расчет платы за водопотребление. Методы биотестирования могут быть также применены в исследовании общих закономерностей биологического влияния некоторого фактора среды, в экологическом нормировании, в исследовании особенностей действия новых медикаментозных средств.

Однако, в части токсикологического контроля объектов окружающей среды биотестирование имеет ряд противоречий, которые существенно ограничивают его природоохранную функцию. Прежде всего, это – зачастую неоправданное сокращение длительности испытаний. Редко когда 2-3х суточные опыты адекватно характеризуют биологическую и экологическую угрозу конкретного загрязнения среды. Многие вещества, в частности, хроноконцентрационные токсиканты оказывают действие в более отдаленные периоды, влияя на рост и размножение тест-объектов. Рекомендуемые методическими руководствами способы биотестирования не позволяют надежно выявить такие свойства загрязнителей, как способность вызывать отдаленные биологические эффекты и накапливаться в тканях организмов. А, с другой стороны, видимые первичные, даже статистически достоверные, реакции тест-организмов на воздействия не служат надежным свидетельством последующих экологически значимых изменений.

Как известно, попыткой экстраполяции результатов кратковременных испытаний на исход хронических воздействий служат т.н. «факторы аппликации» («application factors»). В таблице 1 приведены примеры таких коэффициентов, использовавшиеся для установления допустимых концентраций на основе оперативного биотестирования.

Таблица 1. Коэффициенты для расчета допустимых концентраций на основе результатов кратковременных испытаний (U.S.EPA,1977;AFS, 1979)

Вещество	Фактор аппликации
Хром	0,03 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для чувствительных морских
Медь	0,1 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Свинец	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Никель	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Селен	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Серебро	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Цинк	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 час для наиболее чувствительных пресноводных
Альдрин	ПДК составляла от 0,0004 до 0,004 от ЛК <sub>50</sub> за 96 и 0,02 от ЛК <sub>50</sub> за 20 суток
Хлордан	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 часов
Эндосульфат	0,1 – 0,01 от ЛК <sub>50</sub>
Гептахлор	0,01 от ЛК <sub>50</sub> за 96 часов

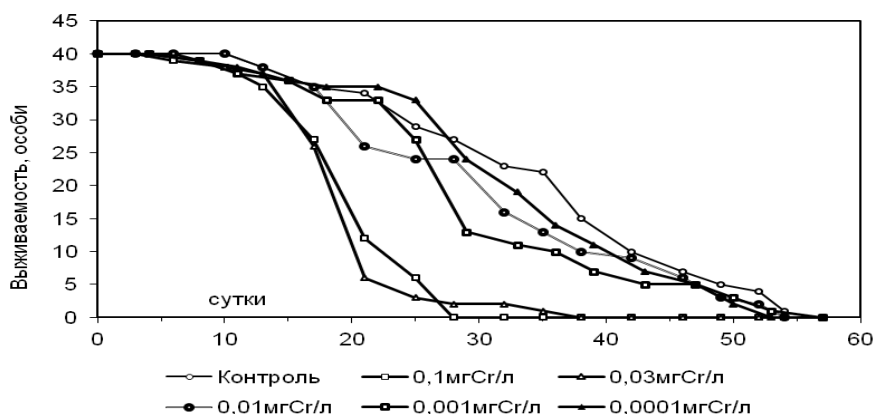


Рис. 1. Влияние бихромата калия на выживаемость рачков *Ceriodaphnia affinis*

В дальнейшие годы идея установления нормативов на основе кратковременных испытаний потеряла актуальность, в биотестировании она, вероятно, может найти применение, хотя даже в этом случае возникают существенные препятствия. Так, на рис. 1 приводятся результаты по наблюдению эффекта эталонного токсиканта бихромата калия в малых концентрациях в сроки, охватывающие всю продолжительность жизни рачков. В кратковременных наблюдениях действие концентраций 0,03 и 0,1 мг/л не проявлялось, однако через 2–3 недели вредоносное действие становится очевидным. Подобные примеры свидетельствуют о том, что надежные в экологическом отношении оценки требуют более продолжительных сроков, чем предписано методическими рекомендациями.

Таким образом, проявляется давнее противоречие между потребностью в быстрых оценках токсичности и экологической надежностью этих оценок. В связи с этим нельзя считать обоснованным установление класса экологической опасности отхода или стока на основе результатов кратковременных испытаний. Такое биотестирование может только предоставить свидетельство наличия или отсутствия острой токсичности и ничего более того. Установление класса опасности загрязняющего вещества должно проводиться только в продолжительных наблюдениях.

Перспективной основой для выбора тест-видов токсикологического контроля водной среды может служить фонд материалов по установлению предельно-допустимых концентраций (ПДК) различных веществ в водной среде, которые в связи с ведомством, ответственным за их разработку, называют рыбохозяйственными, но которые на сегодняшний день являются самыми экологически ориентированными. На сегодняшний день установлены нормативы более, чем для тысячи отдельных веществ и технологических материалов. Часть разработок в рамках нормирования критикуется, но все они если и непригодны для установления ПДК, то вполне приемлемы для определения класса опасности. Эта основа пригодна для выбора тест-объектов и экологически значимых оценок и для почвенной среды.

Методические схемы установления ПДК в воде рыбохозяйственных водоемов, как средства государственного регулирования, существуют с 80х годов прошлого века («Методические указания...», 1979, 1986, 2009; «Методические рекомендации...», 1989). Однако, работа с методическими рекомендациями продолжается. Основные методологические принципы призваны обеспечивать экологическую представительность (включены основные экологические звенья), выявление скрытых и отдаленных нарушений (хронический режим), вынесение решений по «лимитирующему звену» (по наиболее чувствительному звену и функции).

Уже сформированная база нормативов позволяет выделить объекты, чаще других служащие лимитирующими при установлении ПДК. Ясно, что не все тест-организмы в равной степени чувствительны к разным химическим субстанциям из-за избирательной токсичности.

Относительный вклад каждого из звеньев в установлении нормативов представлен в табл. 2, составленной по материалам отчетов о разработке ПДК и сводного перечня ПДК (1999).

Таблица 2. Тест-объекты, оказавшиеся лимитирующими при установлении ПДК для водной среды

Лимитирующие объекты	Число веществ, для которых объект оказался лимитирующим	
	абсолютное число	в %%
Всего	612	100
Фитопланктон	43	7
Зоопланктон (рачки)	142	<b>23</b>
Зообентос (личинки насекомых и моллюски)	63	<b>10,3</b>
Икра рыб	38	6,2
Личинки и взрослые рыбы	197	<b>32,2</b>
Прочие (санитарные и органолептические показатели)	129	21,3

Представленные результаты свидетельствуют о том, что при выборе метода биотестирования следует учитывать реальную информативность биологического объекта для конкретного состава загрязнения, и что неоправданно мало уделяется внимания такому проверенному временем объекту, как рыбы. Даже вытяжки и экстракты из почв также могут оцениваться с применением «водных» тест – объектов.

Поскольку основной задачей биотестирования проб среды является своевременное предотвращение вредоносного действия загрязнения на биоту и организм

человека, идеальный метод биотестирования, как известно, должен быть оперативным, экономически рентабельным и способным адекватно информировать о потенциальной угрозе для самых чувствительных звеньев экосистемы и здоровья населения. Тест-метод должен предоставлять информацию не только о самом факте загрязнения, но и давать представление о его качественной и количественной характеристиках. Как показывает опыт, достичь соблюдения таких условий для отдельно взятого метода невозможно, но также невозможно и бесконечное расширение ассортимента обязательных объектов. В связи с этим каждый из предлагаемых методов должен иметь строгое целевое назначение и очевидные преимущества перед рекомендованными ранее, а методы и объекты должны обеспечивать получение воспроизводимых результатов. В связи с этим важным условием биотестирования является использование лабораторных культур, а не выборка организмов, собранных в естественных местообитаниях, и стабильность условий испытаний. Для повышения воспроизводимости и надежности результатов испытаний в нашей стране должен быть создан фонд аттестованных (эталонных) живых систем (организменные, клеточные, или субклеточные тест-культуры) и установлена обоснованная область их применения экологическая значимость. Эти задачи являются приоритетными в области биотестирования на сегодняшний день.

Возможность решения проблемы стандартизации тест-культур мы видим в создании аттестованной коллекции в рамках проекта Московского университета "Ноев ковчег" – Комплексной научной программы "Научные основы создания национального банка-депозитария живых систем" (НИР) /The complex scientific program "Scientific bases of creation of the national Bank Depository of the living systems".

Проект "Ноев ковчег" посвящен созданию многофункционального сетевого хранилища биологического материала. В рамках проекта планируется работа с материалом всех возможных типов – от отдельных биологических молекул до целых живых организмов. Основная задача проекта – создание депозитария, который позволит, во-первых, сохранить биоразнообразие нашей планеты, а во-вторых, создать новые способы полезного использования биологического материала.

Первые шаги на пути к созданию эталонной коллекции сделаны. На данном этапе коллекция организмов для реализации ГОСТИрованных методик оценки токсичности включена в одно из четырех обозначенных в проекте направлений – "Микроорганизмы и грибы".

В реестре же Росстандарта – Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений представлено около двух десятков методик оценки экотоксичности. Измерение токсичности образцов проводится с использованием стандартизованных тест-культур более широкой таксономической принадлежности - водоросли, бактерии, простейшие, ракообразные, клетки млекопитающих, высшие растения. Основной вид контроля качества и надежности тест-культур, помимо правильной видовой идентификации с применением современных молекулярно-генетических методов, заключается в регулярной проверке их чувствительности к референтному токсиканту. Причем, помимо солей хрома и кадмия, должны быть предложены органические токсиканты, такие, как пентахлорфенолят натрия.

Вероятно, коллекционный фонд биотест-культур разной таксономической принадлежности и разных трофических уровней должен быть аттестован в дальнейшем как специфическая биотехнологическая коллекция, которая уже сейчас востребована природоохранными службами и лабораториями, осуществляющими экологический контроль и определение степени опасности отходов.

В зарубежной практике на протяжении последних десятилетий востребованными оказались так называемые токситы – (toxkits) - наборы необходимых для проведения биотестирования расходных материалов. Токситы разработаны в лаборатории экологической токсикологии и водной экологии Университета Гент (Бельгия) под руководством проф. G. Persoone (<http://www.microbiotests.be/>).

В токситы, наряду с питательными средами, реактивами, специфической лабораторной посудой, включены тест-культуры, находящиеся в анабиотическом состоянии или иммобилизованные (эфиппиумы дафний, покоящиеся яйца коловраток, цисты артемий, клетки водорослей на агаризованных средах, лиофильно высушенные бактерии *Vibrio fischeri*).

В сравнительных испытаниях такие культуры дают отклики на воздействия, идентичные со стоковыми лабораторными культурами по показателям чувствительности и прецизионности (Persoone et al., 2009).

Таким образом, наличие биологического материала не в активной, а в иммобилизованной форме, или в виде покоящихся стадий, в известной степени решают проблему стандартизации стабильности тест-культур по признаку чувствительности к токсикантам.

Стоимость таких импортных токс-китов осложняет их применение для массовых анализов в практике экологического контроля в нашей стране. Кроме того, не все toxkits имеют ранг стандартов в нашей стране.

Разработчиками токситов, как и ряда отечественных методик биотестирования, определена область применения тест-культур (для воды, для донных отложения, почв, твердых отходов и т.д.), которая регламентирована стандартами ISO или OECD и ГОСТами (Johnson, 2000).

Для решения проблемы эффективности применения того или иного вида тест-организмов и для повышения информативности результата биотеста обоснование области применения должно учитывать форму и химический состав ксенобиотика. На примерах оценки почв, загрязненных нефтепродуктами, продемонстрирована ограниченность применения гидробионтов и зависимость эффективности таких анализов от возраста загрязнений. Для старых битуминизированных загрязнений непродуктивно использовать элюатные методы и анализировать водные экстракты с помощью гидробионтов, которые реагируют на растворенные токсиканты. Тут следует подбирать аппликатные методы, обеспечивающие контакт бактериальных клеток, семян, или особей педобионтов (червей и др.) с твердыми частицами почв. Необходимость и достаточность гидробионтных тестов обсуждается в настоящее время и в связи с оптимизацией системы оценки химикатов и пестицидов, применяемых на почвах.

Несмотря на своеобразие водной и почвенной сред, методология, методические приемы и целевые установки биодиагностики, по существу, сходны. Поэтому принципы и общие рекомендации по контролю качества и лимитированию загрязнения в равной степени распространяются на все среды.

В нашей стране нормирование (априорное установление допустимых лимитов загрязнения среды в эксперименте) и токсикологический контроль с 60х годов разделились, главным образом – из-за разной ведомственной принадлежности пользователей результатов оценок. В настоящее время формируется представление о необходимости их воссоединения в рамках «экологического нормирования», а в перспективе неизбежно установление взаимосвязи нормирования и токсикологического контроля качества водной среды, донных осадков, почв. Однако решать проблемы внедрения приемов биотестирования, правила интерпретации результатов оценок, усло-

вий экологического нормирования и пр. должны не анонимные авторы многочисленных циркуляров, а специализированный межведомственный совет.

### Цитируемая литература

- American Fisheries Society. A review of the EPA Red Book: Quality criteria for water. Bethesda, 1979.
- Johnson I. Criteria-based procedure for selecting test methods for effluent testing and its application to Toxkit G. Persoone, C. Janssen, W. M. De Coen. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2000. P. 73–94.
- Persoone G., Baudo R., Cotman M., Blaise C., Thompson K. Cl., Moreira-Santos M., Vollat B., Törökne A. and Han T. Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test – Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs No 393 (2009) ▶ Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst., 393 (2009) 01-29.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1977. Quality criteria for water. Office of Water and Hazardous Materials, Washington, D.C. 156 p.
- Арнольд И. В. О влиянии нефти на рыб // Вестник рыбопромышленности, 1897, № 4, С. 167-196.
- Арнольд И.Н. Загрязнение вод нефтяными продуктами и его влияние на рыбные богатства. СПб тип. Киришбаума 1903. 63с.
- Бэр К. Исследования о состоянии рыболовства в России. - СПб., 1860, т. I, - 97 с.
- Гримм О. А.. Ещё о нефти // Вестник рыбопромышленности. № 3. 1892. С. 111—117.
- Гримм О. А.. О губительном влиянии нефти на рыб и мерах противодействия этому // Вестник рыбопромышленности. № 12. 1891. стр. 379—387.
- Купцис И. Д. Дальнейшие исследования относительно вредных свойств нефти и ее продуктов для рыб и животных. СПб тип. Демакова 1901, 122 с.
- Методические рекомендации по установлению предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ для воды рыбохозяйственных водоемов, М., 1986.
- Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения, Росрыболовство, Приказ № 695 от 04.08.2009.
- Методические указания по разработке предельно - допустимых концентраций (ПДК) пестицидов в воде рыбохозяйственных водоемов, Р.н.Д., 1979.
- Методические указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ для рыбохозяйственных водоемов и дополнительных характеристик, нужных для расчета ПДС, Л., 1989.
- Методическое руководство по биотестированию воды РД 118-02-90. М.: 1991, 48 с.
- Никитинский Я.Я., Долгов В.И.. Отчет микробиологической лаборатории. Отчет временного комитета по изысканию мер к охране водоемов Московского промышленного района от загрязнения сточными водами и отбросами фабрик и заводов за 1912 год. - М., 1913.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. ВНИРО, М. 1999.
- Тарзвелл К. М. Краткая история исследований загрязнения воды в США. Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Материалы двух советско - американских симпозиумов. Л. Наука. 1979, С. 17 – 39.
- Терехова В.А. Реализация биотической концепции экологического контроля в почвенно-экологическом нормировании. Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель НИА-Природа. М. 2013 С. 115 – 125.
- Терехова, В. А. Реализация биологической концепции экологического контроля в почвенно-экологическом нормировании // Использование и охрана природ.ресурсов в России. 2012. № 4. С. 31-34 .
- Филенко О.Ф. Водная токсикология и проблема экологического нормирования. Материалы V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы, 2014. Филлигрань Ярославль, т. 1. С 196-199.
- Филенко О.Ф., Медянкина М.В. Перспективы эколого-рыбохозяйственного нормирования в России. Материалы IV Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы», 2011. Борок, т. 2. С. 24-29.

## Благодарности

Работа над созданием коллекции стандартизованных тест-культур проводится в рамках проекта РНФ 14-50-00029 «Научные основы создания Национального банка-депозитария живых систем»

## ENVIRONMENTAL PURPOSE OF BIOASSAY: INFORMATIVE VALUE AND VERSATILITY

Fileiko O.F., Terekhova V.A.

The report touched on the formation of bioassay, its use in the development of quality criteria and toxicological environmental monitoring and the need for harmonization of bioassay tasks in solving environmental problems. It underlined the need to improve the reproducibility of the ecotoxicological assessment by proved choice of methods and test objects, unification of operations, establishment of the bank and collections of test organisms.

## СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОДИАГНОСТИКИ И ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРОБ УРБАНОЗЕМОВ

Фокина А.И.<sup>1</sup>, Домрачева Л.И.<sup>2</sup>, Лялина Е.И.<sup>1</sup>, Скугорева С.Г.<sup>1,3</sup>, Зыкова Ю.Н.<sup>2</sup>, Горностаева Е.А.<sup>1</sup>; Олькова А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Вятский государственный университет, Киров, Россия; annushka-fokina@mail.ru

<sup>2</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия, Киров, Россия

<sup>3</sup>Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН

### Аннотация

Применен комплексный подход при изучении проб урбаноземов, отобранных с территории, подвергшейся существенному загрязнению солями тяжелых металлов (ТМ). Объектом исследования методами химического анализа и биодиагностики были пробы урбаноземов, отобранных в районе воздействия металлургического предприятия ОАО «Электроцинк» (Россия, республика Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ). В августе 2015 г. отобрано пять смешанных проб с глубины 0–5 см в непосредственной близости и по мере удаления на юго-запад от ОАО «Электроцинк». Каждую из пяти проб отбирали с участков площадью 500 м<sup>2</sup> методом конверта. Участки пробоотбора находятся в общей доступности для населения, поэтому требуют исследования с последующим выбором методов ремедиации [2, 4]. Среди методов биодиагностики выбраны: оценка состояния по характеру изменения структуры альго-циано-микологических комплексов, тестирование водных вытяжек с помощью цианобактерий рода *Nostoc*, тест по двигательной активности *Paramecium caudatum*, оценка по изменению билюминесценции тест-системы «Эколюм» [5]. Одновременно с методами биодиагностики применяли методы исследования химического состава образцов. Валовое содержание ТМ в образцах урбаноземов определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) [6]. Содержание органического вещества определяли фотометрически по методу Тюрина в модификации ЦИНАО: по количеству образовавшегося иона  $\text{Cr}^{3+}$  [3]. Кислотность определяли потенциометрически в водной и солевой вытяжках [1]. Для характеристики интегральной степени загрязнения образцов урбаноземов соединениями ТМ рассчитывали суммарный показатель загрязнения (СПЗ). Установлено, что исследуемые образцы урбаноземов характеризуются значениями pH, близкими к нейтральному уровню. Содержание органического вещества колеблется в пределах от 2,2 до 11,5 %. Важной особенностью проб является высокий уровень их загрязнения соединениями ТМ. Во всех образцах установлено сверхнормативное содержание свинца: кратность ПДК варьировала от 1,2 для про-



бы наиболее удаленной от предприятия (5,5 км) и до 92 для пробы, отобранной в непосредственной близости к объекту загрязнения. Норматив содержания цинка превышен в 12–37,5 раз во всех пробах, кроме пробы наиболее удаленной от предприятия. Установлено превышение содержания меди по сравнению с допустимыми нормами. В результате исследования выявлено, что с увеличением загрязнения происходит изменение в альго-циано-микологических комплексах и дегидрогеназной активности цианобактерий. Сравнение результатов используемых в данной работе пяти биодиагностических методов (2-х биоиндикационных и 3-х биотестовых) с результатами химического анализа показало, что наиболее чувствительными методами являются метод биотестирования по определению дегидрогеназной активности ЦБ и методы биоиндикации, основанные на определении степени доминирования ЦБ и степени доминирования меланизированных грибов в структуре альго-циано-микологических комплексов. Дегидрогеназная активность ЦБ с увеличением загрязнения снижается. Высокую степень токсичности удалось однозначно выявить по состоянию аборигенной микрофлоры: одноклеточные зеленые водоросли были представлены только зелеными и диатомовыми водорослями, на фоне ярко выраженного эффекта цианофитизации сообщества (до 99 %) наблюдалось отсутствие азотфиксирующих форм, меланизация микокомплексов достигала 70,9 %.

**Ключевые слова:** урбаноземы, тяжелые металлы, биотестирование, биоиндикация, токсичность, устойчивость почвы, органическое вещество

### Цитируемая литература

1. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 488 с.
2. Влияние предприятий г. Владикавказа на содержание тяжелых металлов в объектах окружающей среды / Т.С. Геревич, Е.И. Лялина, Е.А. Горностаева, З.В. Кабалов // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. Молодежной науч.-практ. конф. с международным участием. Киров, 2012. С. 195–198.
3. ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества. М.: Государственный комитет стандартизации и метрологии СССР, 1991. 8 с.
4. Зангелиди В.В. Влияние техногенного загрязнения на состояние почв г. Владикавказа: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: Владикавказ. 2009. 120 с.
5. ПНДФ Т 14.1:2:3:4.11-04. Т.16.1:2:3:3.8-04. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению бактериальной биоломинесценции тест-системой «Эколюм», 2010. Москва: ООО «Нера-С», 2010. 30 с.
6. ФР.1.31.2012.13573. Методика выполнения измерений массовых долей токсичных металлов в пробах почв атомно-абсорбционным методом. Москва, 2012. 16 с.

### Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых российских ученых № МК-3964.2015.5.

### COMPARISON OF RESULTS OF BIODIAGNOSTICS AND CHEMICAL ANALYSIS OF SAMPLES URBAN SOILS

Fokina A.<sup>1</sup>, Domracheva L<sup>2</sup>, Lyalina E.<sup>1</sup>, Skugoreva S.<sup>1,3</sup>, Zykova Y.<sup>2</sup>,  
Gornostayeva E.<sup>1</sup>, Olcova A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vyatka State University, Kirov, Russia

<sup>2</sup>Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russia

<sup>3</sup>Laboratory of Biomonitoring of Institute of Biology Komi Science Centre RAS

Assessment of quality of the environment depends on the chosen biodiagnostics method. An integrated approach of studying of soil samples which were selected from the polluted by salts of heavy metals territory is described in the work. The bioindication methods are chosen: a structural change of algo-cyano-mycologic complexes, testing of water extracts with Nostoc cyanobacteria, testing on physical

activity of *Paramecium caudatum*, using of the «Ekolyum» test system. The methods of a research of the chemical composition of samples have been applied: gross content of heavy metals, acidity, content of organic substance. For the characteristic of integrated extent of pollution of samples of soil by the compounds of heavy metals a total indicator of pollution was counted. As a result of the research, a natural change with increasing of pollution in algo-cyano-mycologic complexes and dehydrogenase activity of cyanobacteria was established.

## INTEGRATING BIOINDICATORS INTO SYSTEM LEVEL RISK ASSESSMENTS

**Henshel D.S., Cains M.G.**

Indiana University School of Public and Environmental Affairs, Bloomington, USA;  
[dhenshel@indiana.edu](mailto:dhenshel@indiana.edu); [mgcains@indiana.edu](mailto:mgcains@indiana.edu)

Watersheds, airsheds, and other landscape scale ecosystems, especially those including humans, are complex systems. Organisms are active and critical components of these systems; thus organismal and sub-organismal bioindicators may be critical indicators of ecosystem health and function. However, complex systems may have apparently “healthy” bioindicator levels while not functioning well as a system. The defining characteristics of complex systems are not easily distillable to the organism level but emerge from the organization and interaction of organisms in the system. Thus system level risk assessments must integrate biomarkers and bioindicators into a model that also assesses the integration component, and includes metrics for system health and function. Stressors affecting the systems being modeled, and the effects of the stressors, often interact within individual organisms, whether the stressors are similar (e.g. multiple chemicals) or dissimilar (e.g. lead exposure, high stress acting concurrently on the hypothalamopituitary – adrenal axis), but also interact at a larger scale in ways that are not always detectable or measurable at the individual level. Effects induced by individual chemicals can be aggregated across exposures in time and space for the same individuals or populations, as well as across different forms of the same chemical (e.g. HgCl<sub>2</sub>, MeHg) once metabolic processes are taken into account. Problems associated with landscape scale assessment often require combining assessment metrics that are measured at different scales, may change over different temporal scales, and may be of very different kinds of metrics. An additional confounding factor is the need to assess and incorporate uncertainty into any model when the uncertainty units are diverse and need to be assessed cumulatively or in the aggregate, and when the variables may be combined using complex math models based on the way the data determines the final statistically defined model. When incorporating human indicator metrics into a landscape scale assessment, human based metrics may be indirect or fuzzy measures rather than metrics that can be directly measured, and may be extrapolated by using logical assumptions based on prior studies. Finally, when assessing at landscape or system scale, the impact of active processes on metrics must be taken into account through data collection, modeling or both. As summarized by Schroder and Seppelt (2006) “processes are understood as the interactions of different objects in an environment”, and need to be modeled considering the interactions and influences between metrics.

There is little formal guidance for integrating multiple metrics of dissimilar sources that allow for a full quantitative integration of risk assessment and vulnerability assessment type metrics beyond a visually presented spatial analysis of potential stressors and impacts and a relative ranking of different risks, generally aggregated by type of risk

(e.g. social, economic). While human health risk assessment models recognize and allow for multi-metric integration, the current guidance more so provides a way to think about, rather than calculate, cumulative risk. In an effort to develop multi-metric integration, Science and Decisions (NRC, 2009) emphasized that cumulative risk assessments might include and integrate non-chemical stressors, including psychosocial (e.g. socioeconomic status) and physical factors (e.g. heat, drought or water availability), and that some assessments might not be fully quantitative, but might need to be semi-quantitative (e.g. relative rankings or data normalization) or qualitative. The 2014 US EPA Framework for Human Health Risk Assessment to Inform Decision Making allows for more flexibility in risk assessment but doesn't provide additional cumulative risk assessment guidance. Several models have been proposed which begin the process of integration of risk due to the multiplicity of stressors affecting multiple endpoints in complex environments, including the Relative Risk Model, which enables consideration of complex ecosystems in a complex system with human components. Other integrating system models focus on ecosystem services more than mapping out risk across the system. The Ecosystem Based Management-Driver, Pressure, State, Ecosystem service, and Response conceptual model (EBM-DPSER) was developed to address the lack of integration between ecosystem services and multifaceted human-biophysical relationships into the natural resource and urban management decision-making process. Similarly, the EU-funded Operationalization of Natural Capital and Ecosystem Services (OpenNESS) project has been developing operational frameworks that provide robust and realistic solutions for incorporating ecosystem services into natural resource and urban management and decision-making. Building upon what has been done before, we propose a framework for integrating metrics across the organizational levels (biological, ecological) and time, incorporating points of intersection, and allowing integration of system level metrics using a combination of normalization tools and multi-metric statistical analysis. By integrating across organizational, type and time metrics, and providing visualization tools, we suggest that more knowledgeable and effective decisions can be made for system-scale management.

## **ТРАНСФОРМАЦИЯ МИКОБИОТЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ОСВОЕНИЯ ПОЧВ В ТУНДРОВОЙ ЗОНЕ**

**Хабибуллина Ф.М.**

ФГБУ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия, Khabibullina.fluza@mail.ru

### **Аннотация**

Уничтожение целинной тундровой растительности, обработка почвы, посев многолетних трав, влияние антропогенного режима, включающего в себя внесение удобрений и уборку трав, полностью преобразили верхние горизонты тундровой почвы и состав микробиоты, характерной для условий ненарушенной тундры. Проведенный микробиологический анализ органогенного (продуктивного) слоя почвы показал, что микобиота сеяных лугов воркутинской тундры характеризовалась преобладанием представителей зигомицетов, уменьшением в количественном и видовом отношении пенициллов, появлением нехарактерных для тундры видов родов *Aspergillus*, *Fusarium*. Среди доминирующих и частых видов выявлены типичные для тундровых почв *Penicillium lanosum*, формы, представленные стерильным мицелием, и *Fusarium oxysporum*.

**Ключевые слова:** микобиота, тундровые экосистемы, агроценозы, типичные виды

## Введение

Результатом процесса сельскохозяйственного освоения земель является замена природных экосистем на культурные моно- или маловидовые, что сопровождается преобразованием почвы. Сельскохозяйственное освоение почвы предусматривает и изменение микробиоты. Для выявления нарушений в сообществах почвенных микроскопических грибов, изменений их видового разнообразия и количественных показателей, соотношения биомассы бактерий, актиномицетов и грибов были проведены исследования микробиоты сеяных лугов тундровой зон.

## Материалы и методы

Исследуемым воркутинским лугам около 50 лет. Уничтожение целинной тундровой растительности, обработка почвы, посев многолетних трав мятлика *Alopecurus pratensis* L. и лисохвоста *Poa pratensis* L., влияние антропогенного режима, включающего в себя внесение удобрений и уборку трав, полностью преобразили верхние горизонты тундровой почвы и состав микробиоты, характерной для условий ненарушенной тундры. Вместо целинной торфянисто-поверхностно-слабоглеевой суглинистой образовалась тундровая задернованная окультуренная поверхностно-глеевая почва, хотя минеральные горизонты глубже 30 см, характерные для целинной тундровой почвы в профиле почвы луговой экосистемы, остаются морфологически и по свойствам практически без изменений. В дерновом горизонте по сравнению с органомным горизонтом целинной тундровой почвы появились наиболее благоприятные условия для развития микробной биоты, при этом гумус составлял 32.49 %, а pH характеризуется от слабокислой до нейтральной реакцией. На сеянном лугу в пятом десятилетии существования продолжают доминировать в травостое высеянные злаки. Состав травостоя остается без существенного изменения – около 40 видов высших растений (Панюков, 2005), достаточно высокое видовое разнообразие которых, безусловно, предполагает многообразие микробиоты, в том числе и микромицетов, в данной луговой почве.

## Результаты

Из почвы сеяного луга было выделено 32 вида микромицетов (из целинной контрольной почвы 27 видов), принадлежащих к 12 родам из отделов Zygomycota, Ascomycota и формального класса *Anamorphic fungi*. Наибольшее видовое разнообразие обнаружено среди анаморфных грибов (восемь родов) и зигомицетов (два рода).

Из анаморфных грибов наиболее представительным является род *Penicillium* (пять видов). При довольно большом разнообразии обилие *Penicillium* однако невелико, большее обилие отмечено для видов рода *Trichoderma*. Зигомицеты представлены восемью видами из родов *Mucor* и *Mortierella*, широко распространенными в почвах целинных и сельскохозяйственного использования в разных географических зонах. Обилие видов родов *Mucor* и *Mortierella* существенно выше, чем анаморфных грибов. Таким образом, в целом микробиота сеяного луга 50-летнего возраста характеризуется значительным видовым разнообразием, в которой обильно представлены зигомицеты.

Комплекс типичных видов микромицетов включает в органомном слое три доминирующих, три частых и восемь-девять редких видов. К доминирующим и частым видам комплекса относятся, с одной стороны, типичные тундровые микромицеты *Penicillium lanosum*, *Mycelia sterilia*, а с другой – *Fusarium oxysporum*, представитель более «южного» распространения в почвах агроценозов (табл. 1).

Таблица 1. Структура комплекса типичных видов микромицетов почвы сеяного луга (49-й год жизни трав) и целинной тундры (по частоте встречаемости)

Доминирующие	Частые
Сеяный луг	
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Geomyces pannorum</i>
<i>Mycelia sterilia (c/o)</i>	<i>Mortierella verticillata</i>
<i>Penicillium lanosum</i>	<i>Mycelia sterilia (m/o)</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	
Ивняково-ерниковая тундра	
<i>Geomyces pannorum</i>	<i>Mortierella alpina</i>
<i>Mycelia sterilia (c/o)</i>	<i>Mortierella isabellina</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Penicillium camemberti</i>
	<i>P. kapuscinskii</i>
	<i>P. simplicissimum</i>
	<i>P. lanosum</i>
	<i>Mycelia sterilia (m/o)</i>

Сопоставление видового состава почвенных грибов целинной тундры и сеяных лугов выявило достаточно невысокое сходство по Жаккару: 40 % – для доминирующих, для частых и редких – всего 12.5 % и 22 % соответственно.

По данным прямого счета количество актиномицетов, бактерий, грибов луговой почвы по сравнению с их содержанием в целинной почве было на два-три порядка больше (табл. 2).

Таблица 2. Биомасса почвенных микроорганизмов природной и луговой экосистем, в мг/г

Глубина взятия образца, см	Биомасса, мг/г (%)				Итого
	Актиномицеты	Бактерии	Грибы		
			Мицелий	Споры	
Целинная тундровая почва					
0-10	0,005-0,01 (1,57-1,6)	0,01-0,076 (3,15-12,6)	0,3-0,5 (83,3-94,6)	0,002-0,006 (0,6-1)	0,317-0,592 (100)
Сеяные луга					
0-10	0,63 (5,14)	0,52 (4,21)	9,6 (78,4)	1,5 (12,25)	12,25 (100)

Анализ биомассы мицелия и спор грибов показал, что и в природных, и в луговых тундровых почвах преобладает грибная биомасса. Биомасса спор грибов в целинной почве была незначительной, а в почве сеяного луга эти показатели возросли на два-три порядка, содержание составило более 12 %. Процентное соотношение у бактерий и актиномицетов в общей биомассе микроорганизмов в луговой почве было значительно выше целинных показателей. Общая биомасса микроорганизмов в условиях луговой экосистемы была больше в 20-40 раз. Все это свидетельствует о высокой биологической активности почвы сеяных лугов.

Таким образом, анализ запасов и структуры микробной биомассы, проведенный в природных условиях и агроценозе, выявил микробиологические параметры, позво-

ляющие судить об условиях, складывающихся для микроорганизмов в исследуемых почвах.

Высокие запасы микроорганизмов свидетельствуют о благоприятных условиях в луговой почве, но увеличение доли спор показывает тенденцию начала угнетения грибов в связи с ухудшением агроусловий в данной луговой экосистеме.

Проведенный микробиологический анализ органогенного (продуктивного) слоя почвы показывает, что в составе микобиоты, как и в растительном сообществе, при значительном видовом разнообразии обильны лишь некоторые группы видов, играющих, по-видимому, главную роль в биологических процессах. Поменялись и основные деструкторы органики – в условиях агроценоза основными целлюлозоразрушителями стали виды *Chaetomium*, тогда как в природной среде активными целлюлозоразрушителями являются актиномицеты и *Geomyces pannorum*.

**Таблица 3.** Сравнительная характеристика некоторых параметров комплексов микобиоты целинной и освоенной тундры (сеяный луг)

Экосистема	Количество микромицетов	Сходство видового состава грибов по Жаккару, %	Основные целлюлозолитики	Биомасса м/о, мг/г в.с.п.
Сеяный луг	32 вида (12 родов)	Для доминирующих – 40% частых – 12,5 редких – 22%	Виды <i>p. Chaetomium</i>	Грибов – 11,1 Бактерий – 1,12 Мицелий: споры: бактерии (78,4% : 12,3 %: 9,3%)
Целинная тундра	27 видов (11 родов)		актиномицеты и <i>Geomyces pannorum</i>	Грибов – 0,5 Бактерий – 0,08 Мицелий: споры: бактерии (90%:1% :9%)

### Заключение

Таким образом, под влиянием сельскохозяйственного освоения в тундровых почвах происходят изменения структуры биомассы грибов, зональных комплексов микромицетов и формирование специфической микобиоты, обладающей измененными свойствами. Микобиота сеяных лугов на Севере характеризуется преобладанием представителей зигомицетов, уменьшением в количественном и видовом отношении пенициллов, появлением нехарактерных для тундры видов родов *Aspergillus*, *Fusarium*. Среди доминирующих и частых видов выявлены типичные для тундровых почв *Penicillium lanosum*, формы, представленные стерильным мицелием, и *Fusarium oxysporum*.

### Цитируемая литература

1. Александрова А.В. Ключ для определения видов рода *Trichoderma* / А.В. Александрова, Л.Л. Великанов, И.И. Сидорова // Микология и фитопатология. – 2006. – Т.40. – Вып. 6. – С. 457-468.
2. Благовещенская, Г.Г. Микробные сообщества почв и их функционирование в условиях применения химизации [Текст] / Г.Г. Благовещенская, Т.М. Духанина. – Микробиология. – 2004. - №2. – С. 80-88.
3. Воробейчик, Е.Л. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). [Текст] / Е.Л. Воробейчик, О.Ф. Садыков, М.Г. Фарафонов. – Екатеринбург: УИФ Наука, 1994. – 280 с.

4. Марфенина, О.Е. Влияние некоторых антропогенных воздействий на разнообразие почвенных микромицетов и биомассу мицелия [Текст] / О.Е. Марфенина // Структура и функции микробных сообществ с различной антропогенной нагрузкой. - Киев: Наук. думка, 1982. – 174 с.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под. ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
6. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.
7. Милько А. А. Определитель мукооральных грибов. Киев: Наукова думка, 1974. 303 с.
8. Полянская, Л.М. Изменение состава биомассы в почве при окультуривании [Текст] / Л.М. Полянская, С.М. Лукин, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. – 1997. - №2. – С. 206-212.
9. Панюков А.Н. Биологическое разнообразие и продуктивность антропогенных экосистем Крайнего Севера / А.Н. Панюков, Н.С. Котелина, И.Б. Арчегова, Ф.М. Хабибуллина. – Екатеринбург, 2005. – 122 с.
10. Сорокин, Н.Д. Микробиологическая индикация и мониторинг лесных экосистем Сибири [Текст] / Н.Д. Сорокин, С.Ю. Евграфова, Н.В. Пашенкова, И.Д. Гродницкая, Г.Г. Полякова, Е.Н. Афанасова // Сибирский экологический журнал. – 2005. - № 4. – С. 687-692.
11. Хабибуллина, Ф.М. Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока европейской части России. [Текст] / автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. Сыктывкар, 2009. – 30 с.
12. Thorn R.G. Soil fungi / R.G. Thorn / Handbook of Soil Science / Ed. M.E. Summer // CRC Press. – Boca Raton-London-N.-Y., 2000. – P. 22-37.
13. Domsh K.H. Compendium of soil fungi / K.H. Domsh, W. Gams, T.-H. Anderson. – IHW-Verlag Eching, 2007. –672 p
14. Ramirez C. Manual and atlas of the Penicillia. Amsterdam-N.-Y.-Oxford: Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 p.
15. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi. 8th ed. / Eds. D. L. Hawksworth et al. CABI Bioscience, 1995. 540 p.
16. Domsh K. H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi. IHW-Verlag Eching, 2007. 672 p.

## INFLUENCE OF AGRICULTURE ON TRANSFORMATION OF SOIL MICROBIOTA IN TUNDRA ZONE

**Khabibullina F. M.**

Upper horizons of tundra soils and undisturbed tundra microbiota composition have been transformed due to virgin tundra vegetation, soil treatment specifics, planting of perennial grasses, influence of anthropogenic regime (incl. fertilizing and harvesting).

Microbiological analysis of organogenic soil layer showed that the microbiota of seeded meadows in Vorkuta tundra was characterized by the predominance of zygomycetes, a decrease in quantitative and qualitative content of *Penicillium*, emergence of untypical for tundra soils species of *Aspergillus* and *Fusarium*. Among the dominants and frequent species there were identified *Penicillium lanosum*, sterile mycelium, and *Fusarium oxysporum*, typical for tundra soils.

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Хватов Д.Н.<sup>1</sup>, Семенов А.М.<sup>1</sup>, Верная О.И.<sup>2</sup>, Шабатин В.П.<sup>2</sup>, Шабатина Т.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет, МГУ им. Ломоносова, Москва, Россия; dmitry.khvatov@gmail.com

<sup>2</sup>Химический факультет, МГУ им. Ломоносова, Москва, Россия

## Аннотация

Одним из возможных способов борьбы с антибиотикорезистентными штаммами является модифицирование молекул известных антибактериальных лекарственных средств (ЛС). Создание новых полиморфных модификаций известных ЛС, несущих изменения кристаллической структуры, размера молекулярных агрегатов и показателей растворимости и стабильности, является возможным благодаря методу криомодифицирования. В ходе криомодифицирования может осуществляться нагрузка молекул ЛС наноразмерными частицами (НЧ) тяжелых металлов, что приводит к получению полиморфных композитов на основе молекул ЛС, содержащих активные в отношении бактериальных клеток металлы. В данной работе проводится микробиологическая диагностика полиформных модификаций антибиотических ЛС: диоксидина, гентамицина, метронидазола, нагруженных НЧ серебра или меди. Испытание ЛС проводится *in vitro* – на микроорганизмах (МО) и/или *in vivo* – биологический метод, на лабораторных животных. Известные методы *in vitro*: (1) диско-диффузионный, (2) таблеточно-диффузионный, (3) луночно-диффузионный метод, (4) метод серийных разведений ЛС, (5) кинетический метод определения  $K_i$  (метод «острых опытов»), (6) люминесцентный (фотонный), (7) микроскопический. Методы имеют достоинства, недостатки и ограничения. Наиболее распространенными является группа диффузионных методов. Их достоинства – доступность, краткосрочность, наглядность, дешевизна. Недостатки диффузионных методов: условная размерность (разница между контролем и опытом в размере зоны задержки роста в мм); необходимость статистической оценки достоверности; зависимость от условий эксперимента. Кинетический метод позволяет получать количественную размерность, содержательность, сравнимость. Недостатки – большая трудоемкость. Ограничения – только для растворимых веществ, рост МО только в жидкой среде. Методы различны по чувствительности, глубине «проникновения» в познания механизмов действия на тестовых МО. Кинетический метод выявляет «узкие места» в метаболизме МО. Работа проводилась на спектре бактерий, включающем микроорганизмы, классифицируемые как условные патогены и различающиеся по важным цито-морфологическим признакам: *Escherichia coli* 52, *Staphylococcus aureus* 144, *Pseudomonas aeruginosa* 47, *Mycobacterium cyaneum* 98. Приведены результаты определения АА упомянутых ЛС. Основным методом в работе при определении АА являлся диффузионный метод с применением различных носителей ЛС – дисков фильтровальной бумаги, полимерных гелей на основе альгината, альбумина, хитозана, таблеток из прессованного ЛС. Приведены результаты применения кинетического метода определения АА ЛС (метод острых опытов), позволяющего получать константы ингибирования ( $K_i$ ) исследуемого ЛС. Дается способ статистического анализа получаемых результатов (t-критерий Стьюдента), позволяющий оценивать значимость различий между модифицированными и контрольными препаратами. Выявлены различия в действии ЛС в отношении перечисленных организмов. На действие модифицированных ЛС также как и на действие исходных форм ЛС оказывают влияние такие факторы как концентрация раствора ЛС, тип металла, которым нагружается ЛС, метод получения НЧ металла, способ получения носителя ЛС. Для всесторонней оценки используемых методов модификации ЛС необходимо расширение спектра тестируемых микроорганизмов. Работа при поддержке гранта РФФИ № 16-13-10365.

**Ключевые слова:** биодиагностика, антибиотикочувствительность, наночастицы, лекарственные средства.



# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВОДЫ, ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Хоружая Т.А.

ФГБУ "Гидрохимический институт", Ростов – на – Дону, Россия, [Khorugajat@mail.ru](mailto:Khorugajat@mail.ru)

## Аннотация

На основе анализа действующих в России федеральных и ведомственных нормативно-методических документов по определению токсичности вод, а также опыта применения методов биотестирования природных вод выделен ряд проблем и разработана классификация качества воды по токсичности, сопоставимая с используемыми в государственном мониторинге классификациями по химическим и гидробиологическим показателям загрязненности поверхностных водных объектов.

**Ключевые слова:** биотестирование токсичности, поверхностные воды суши, загрязнение, качество вод, классификации, эколого-токсикологическое состояние

## Введение

Токсичность воды для гидробионтов выявляется в настоящее время во многих водоемах и водотоках России [2,4,7]. Токсическое действие загрязняющих веществ, присутствующих в природных поверхностных водах суши (ПВС) и обуславливающих токсичность, приводит к гибели гидробионтов, снижению биоразнообразия, исчезновению обитателей чистых вод. Мониторинг токсичности природных вод становится все более актуальным.

Самый простой способ определения токсичности вод это биотестирование – оценка качества воды по ответным реакциям на неё водных организмов (гидробионтов), являющихся тест-объектами. Этот интегральный методический подход позволяет выявить реальную токсичность воды, ухудшение ее качества, обусловленное присутствием токсичных компонентов, без их химической идентификации. К настоящему времени разработано множество методов биотестирования (биотестов), в которых используются разные ключевые термины, способы выражения токсичности и классификации, что приводит к разночтениям, затрудняет итоговую оценку токсичности и стыковку с химическими и гидробиологическими показателями эколого-токсикологического состояния водных объектов. Задачей исследования является разработка классификации качества воды по токсичности, сопоставимой с используемыми в мониторинге классификациями по загрязненности, для использования в комплексной оценке эколого-токсикологического состояния поверхностных водных объектов.

## Материалы и методы

Проведен анализ действующих в России федеральных и ведомственных нормативно-методических документов по определению токсичности вод: ГОСТов, ФР, ПНДФ, а также руководящих документов Росгидромета. Использован также опыт полевых исследований и результаты апробации биотестов на природных водах [2, 4, 5, 7].

## Результаты

Анализ действующих в России документов по определению токсичности, а также опыта апробации биотестов на природных водах показал, что результат биотестирования проб воды в каждом биотесте выражают по меньшей мере двумя способами: в виде токсического действия воды (острого или хронического - ОТД или ХТД соот-

ветственно) или степени ее токсичности. Токсическое действие устанавливают по времени выявления тест-реакции (например, гибели тест-объектов) по заданному критерию токсичности, а степень токсичности – по величине отличий тест-реакции в опытной серии проб от контрольной (по критерию токсичности, в процентах) при заданном времени эксперимента. Например, при биотестировании на дафниях по ФР.1.39.2007.03222 [6] критерием ОТД воды служит гибель 50% и более дафний за 96 час, а критерием ХТД гибель за период до 24 сут. Иногда как промежуточная предусмотрена «подострая токсичность» - ПОТД. Другой способ выражения токсичности – обозначение степени токсичности как «слаботоксичная, среднетоксичная, высокотоксичная» (например, в [1]). Таким образом, в результате биотестирования одной и той же пробы в итоговой оценке возможны разночтения.

Предлагается использовать принцип, заложенный в шкалу ГОСТ Р 54496-2011 по биотестированию на водорослях [1], который заключается в одновременном использовании обоих подходов: 1) оценке разных степеней токсичности воды и 2) выявлении токсического действия – острой токсичности (таблица 1).

Таблица 1. Степень токсичности проб природной и питьевой воды (по ГОСТ Р 54496-2011)

Степень токсичности проб природной и питьевой воды		Значение токсического эффекта для проб природной и питьевой воды, %
Общая	Детализированная	
Токсичность отсутствует	Нетоксичная	До 10 включ.
Не обладает острой токсичностью	Слаботоксичная	Св. 10 » 25 »
	Малотоксичная	» 25 » 35 »
	Среднетоксичная	» 35 » 50 »
Обладает острой токсичностью	Высокотоксичная	» 50 » 100 »

Однако, на наш взгляд, шкала ГОСТа имеет ряд уязвимых мест. Так 1-й ранг «Нетоксичная» вода выделен по незначительному отличию от контроля- «до 10 %» включительно. Как показывает опыт применения биотестирования [2,4,5,7], 10% отличий опытной серии от контроля недостаточно для вывода о нетоксичности воды, а обычно применяемый критерий должен быть не менее 20-25 %. Кроме того, интервал между рангами также весьма мал: составляет всего 10-15 %. Неудачными представляются термины «слаботоксичная» и «малотоксичная» вода: вряд ли между этими обозначениями есть разница. В связи с этим предлагается внести в шкалу ГОСТа ряд изменений (таблица 2), используя 5 предусмотренных документом рангов токсичности для оценки токсичности проб воды и, в комплексе с 5-ранговыми оценками по химическим и гидробиологическим показателям, – для анализа экологотоксикологического состояния поверхностных водных объектов.

Внесенные изменения (увеличение шага ранжирования на переходе от «нетоксичности» к «токсичности», введение дополнительных рангов – «ПОТД» и «ХТД»), обозначения степеней токсичности, приближенные к классификациям качества воды по загрязненности (согласно [3]) позволяют получить сопоставимые ранги и оценки качества воды по химико-биологическим показателям.

Таблица 2. Степень токсичности и токсического действия природной воды

Степень токсичности пробы воды или отклонения в % в опытной серии от контрольной	Качество воды по степени токсичности	Класс качества воды по токсичности
отклонения до 25% включ.	Условно нетоксичная	1
ХТД или отклонения свыше 25% до 35% включ.	Слабо токсичная	2
пОТД ; ХТД или отклонения от 35 % до 50%	Токсичная	3
ОТД или отклонения от 50% до 75%	Очень токсичная	4
ОТД или отклонения свыше 75%	Экстремально токсичная	5

### Заключение

На основе анализа действующих в России федеральных и ведомственных нормативно-методических документов по определению токсичности вод, а также опыта применения методов биотестирования природных вод и их апробации выявлены проблемы, обусловленные использованием разных ключевых терминов, способов выражения токсичности и классификаций, что приводит к разночтениям, затрудняет итоговую оценку токсичности и стыковку с химическими и гидробиологическими показателями эколого-токсикологического состояния водных объектов. Наиболее адекватной задачей использования результатов биотестирования в оценке качества поверхностных вод представляется 5-ранговая классификация, включенная в ГОСТ Р 54496-2011 по определению токсичности на водорослях. Предложена новая классификация на основе принципа классификации ГОСТа с поправками и дополнениями в части количественных параметров ранжирования и терминов степени токсичности. Классификация сопоставима с классификациями качества воды по химическим и гидробиологическим показателям, используемым в государственном мониторинге поверхностных вод Росгидромета и может быть применена для оценки эколого-токсикологического состояния поверхностных водных объектов.

### Цитируемая литература

1. ГОСТ Р 54496-2011 (ИСО 8692:2004) Вода. Определение токсичности с использованием зеленых пресноводных одноклеточных водорослей.
2. Никаноров А.М., Хоружая Т.А., Бражникова Л.В., Жулидов А.В. Мониторинг качества вод: оценка токсичности. С.П., Гидрометеиздат, 2000. - 159 с.
3. Организация и проведение режимных наблюдений за состоянием и загрязнением поверхностных вод суши. РД 52.24.309-2011. Ростов-на-Дону, Росгидромет, ФГБУ «ГХИ», 2011.-103 с.
4. Филенко О. Ф., Дмитриева А.Г, Исакова Е.Ф., Путинцев А.И. и др. Опыт применения биотестирования для оценки качества природных вод//Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Вып.2.Л., 1989. - С 203-215.
5. Филенко О.Ф. Биологические методы в контроле качества окружающей среды. Экологические системы и приборы. М. 2007, №
6. С.-18-20. 6. ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.
7. Хоружая Т., Коханская Е. Токсичность и токсическое загрязнение воды рек - реальность сегодня. Тематический сборник. Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012 .- 141 с.

**THE USE OF BIOTESTING OF TOXICITY IN THE ESTIMATION OF WATER QUALITY, CONTAMINATION AND EKOLOGO-TOXICOLOGICAL STATE OF SUPERFICIAL WATER OBJECTS**  
**Khoruzhaya T. A.**

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР  
В ОЦЕНКЕ СПРАВЕДЛИВОЙ СТОИМОСТИ ЗЕМЕЛЬ**

**Цветнов Е. В., Макаров О.А., Ермияев Я.Р.**

Факультет Почвоведения, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия; anarabis@yandex.ru

**Аннотация**

При экономической оценке стоимости земель в недостаточной степени учитываются почвенно-экологические показатели, величины указанных видов стоимости существенном образом определяются конъюнктурой рынка недвижимости и носят откровенно спекулятивный характер. Предлагается применить элементы концепции общей экономической ценности (ОЭЦ) и скорректированную методику оценки земли на почвенно-экологической основе Почвенного института им. В.В. Докучаева для расчета справедливой стоимости земель, а также использовать последнюю в качестве экологически и экономически оправданной основы исчисления налога на землю.

**Ключевые слова:** Эколого-экологическая ценность земельных ресурсов, кадастровая оценка, рыночная стоимость, справедливая стоимость земли

**ENVIRONMENTAL FACTOR IN ESTIMATING THE FAIR VALUE OF LAND**

**Tsvetnov E., Makarov O.A., Ermiyaev Y.**

Faculty of soil science, MSU, Moscow, Russia

During the economic assessment of the price of land soil-environmental indicators are not sufficiently taken into account, the value of these parameters has some impact on a situation on the real estate market which are determined and are speculative. It is proposed to apply the elements of the concept of total economic value (TEV) and adjusted the methodology of land valuation on the basis of soil and environmental assessment to calculate the fair value of land and use the latest in an ecologically and economically viable bases of calculation of land tax payments calculations.

# ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВОДЫ И ВОДНОЙ СРЕДЫ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ КАК ИНДИКАТОРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ КОСМОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Цетлин В.В.<sup>1</sup>, Макеева В.М.<sup>2</sup>, Смуров А.В.<sup>2</sup>, Савчуков С.А.<sup>2</sup>, Мойса С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Музей землеведения, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, [v\\_tsetlin@mail.ru](mailto:v_tsetlin@mail.ru)

## Аннотация

Разработан и апробирован на биообъектах способ измерения электрохимических параметров воды и жидкой среды живых организмов. Выявлены вариации электрических токов, сопровождающие изменения ионосферы и атмосферы, происходящие под влиянием различных космо- и геофизических факторов, таких как солнечные и лунные затмения, движение Луны и планет Солнечной системы, извержения вулканов, землетрясения. Впервые обнаружено, что на фоне постоянного ритмического воздействия космофизических факторов (сверхслабого излучения 10<sup>-8</sup>-10<sup>-10</sup> Вт/см<sup>2</sup>) гравитационное воздействие Луны (в момент прохождения через перигей) и планет (в момент кульминации), Солнца (в момент астрономического захода), а также влияния земной приливной волны и других факторов, может изменять состояние воды и жидкой среды организмов на 2-5 минут. Появление сильных вариаций токов в зафиксированный момент строго совпадает с расчетным временем движения планет. Экспериментально зафиксированные вариации электрических токов в электрохимических ячейках (на примере воды и внутренней водной среды модельного объекта - виноградной улитки) предлагается трактовать как сформировавшийся в процессе эволюции электрохимический механизм поддержания гомеостаза организмов как живых систем, находящихся под постоянным воздействием космофизических факторов. Метод измерения электрохимических параметров воды и жидкой среды живых организмов можно использовать для диагностики космофизических факторов.

**Ключевые слова** : вода, жидкая среда живых организмов, электрохимические параметры, индикаторы, космофизические факторы.

## Введение

Работа посвящена изучению биофизической природы реакций жидкой воды на воздействие космо- и геофизических факторов на биосферу. В наших предыдущих исследованиях, посвящённых изучению воздействий сверхмалых доз радиации на растения, микроорганизмы и птиц установлено, что малые дозы, превышающие природный радиационный фон в 100–500 раз, могут оказывать заметное влияние на онтогенез и репродуктивные функции у всех изученных биологических объектов [1]. Вне зависимости от принадлежности объектов к животному или растительному царству обнаруженные нарушения носили системный характер. Вода, входящая в состав внутренней среды живых систем, является универсальным приёмником внешнего слабого воздействия. Изменения её физико-химических свойств опосредовано влияют на процессы метаболизма и регуляции в организмах. Известно, что под воздействием слабых факторов окружающей среды, таких, как природный радиационный (корпускулярный и электромагнитный) фон, смена климатических сезонов, суточные ритмы и ряд других параметров солнечной активности влияют на биообъекты. Так, установлено, что приливные процессы в окружающей среде, вызываемые Луной, изменяли динамику подвижности спиростом, биохимические показатели слизи рыб [2, 3]. В условиях природного фона и пониженного геомагнитного поля снижались всхожесть и прорастание семян высших растений [4, 5], угнеталось эмбриональное

развитие моллюсков *Planorbarius corneus* [6]. Установленные факты свидетельствуют о том, что изученные биообъекты обладают способностью изменять свое физиологическое состояние.

Применение электрохимических методов анализа состояния чистой воды, например, при изучении окислительно-восстановительных реакций, позволили расширить диапазон исследований воздействия на окружающую среду таких явлений, как возникновение солнечных протонных событий и рентгеновских вспышек, сопровождающих выбросы солнечного вещества - протуберанцев и флоккулов, лунных и солнечных затмений, магнитосферные и ионосферные бури и т.п. Этим удалось экспериментально подтвердить прозорливые догадки А.Л. Чижевского о высокой чувствительности живых систем и воды к воздействию космических факторов [7].

### Материалы и методы

Разработана экспериментальная методика наблюдения влияния на воду факторов внешней среды, основанная на измерении электрохимических реакций воды, проявляющихся в изменении динамики электрических токов в водной электрохимической ячейке. Созданы устройства для круглосуточного мониторинга электрических токов в двухэлектродной электрохимической ячейке, заполненной водой высокой очистки [8].

В экспериментальной установке используются закрытые двухэлектродные стеклянные ячейки объемом 50 или 150 мл. Для исключения влияния прямого солнечного освещения воды при смене дня и ночи на протекание токов одни ячейки постоянно находятся в деревянном светозащитном ящике (деревянный экран), а другие – в алюминиевом ящике с толщиной стенки 1,5 мм (алюминиевый экран). Индикаторные электроды, изготовленные в виде пластин из инертных (плохо растворимых в воде) материалов, например, пищевой нержавеющей стали, или стандартные электроды из платиновой ленты, навитой на рамку из органического стекла. В ячейки заливалась вода высокой очистки (удельная проводимость  $\sigma = 0,1-0,2$  мкСм), полученная из дистиллята на специальной установке. Расстояние между электродами устанавливалось вручную в диапазоне от 10 до 30 мм. На электроды подавалось постоянное стабилизированное напряжение 0,1–3 В. Напряженность поля в зазоре между электродами не превышала 1 В/см. Блоком питания служил источник Instek GPS 4303 с величиной регулируемого напряжения  $\pm 15$  В. Стабильность напряжения поддерживалась с погрешностью, не превышающей 0,5 %. Ток, протекающий через водный промежуток и измерительное сопротивление  $\sim 120$  Ом, подается на ПК через преобразователь I-U и АЦП типа E-140 фирмы L-card. Помимо того, для более точного измерения электрических токов и перенапряжения использовали потенциостат РС-Micro, разработанный в Институте физхимии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН.

Запись и обработка сигналов производится на жесткий диск ПК с использованием программы Power Graph.

Измерения электрических токов в межэлектродном промежутке при непрерывном круглосуточном измерении проводятся в лаборатории Мониторинга радиационных условий обитания экипажей космических аппаратов ИМБП РАН с декабря 2007 г.

Методика измерения окислительно-восстановительного потенциала и водородного параметра воды при постоянном и переменном электрическом поле

Экспериментальная методика наблюдения влияния на воду перечисленных факторов внешней среды, основанная на измерении электрофизических свойств чистой воды: окислительного потенциала (ОВП) и водородного параметра pH. В методике

используются промышленно выпускаемые иономеры типа И-160-М, снабженные стандартными электродами для измерения окислительно-восстановительного потенциала и рН-метрии. Особенность методики заключается в одновременном, но раздельном измерении ОВП и рН несколькими приборами в отдельных ячейках. Измерения производятся непрерывно в течение суток. Результаты измерения фиксируются на персональном компьютере, обычно с одноминутным интервалом записи.

Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) определяется разностью потенциалов, обеспечивающей перенос электрона между парами веществ (электродов и растворов), одни из которых являются донорами электронов или восстановителями, а другие их акцепторами или окислителями [9, 10]. В условиях равновесия, когда в системе электрод-раствор электрохимические потенциалы равны, ОВП определяется разностью химических потенциалов веществ электрода и раствора, деленной на число Фарадея.

*Методика определения динамики окислительных свойств жидкой среды живых организмов (на пример немодельного объекта - виноградной улитки (Helix pomatia L.))*

Описанная выше методика исследований окислительных свойств воды и водных растворов белков использована для изучения динамики окислительных свойств жидкой среды организмов.

В качестве модельного объекта, позволяющего уловить эффект воздействия космофизических факторов на жидкую среду организмов, использована виноградная улитка. Исследовались электрохимические параметры воды и водного раствора слизи виноградной улитки в момент «спокойного» состояния ионосферы и атмосферы и в момент его изменения во время достижения точки кульминации орбиты Луны и планет Солнечной системы. Расчетное время кульминации Луны и планет определялось с помощью стандартной методики расчета движения планет. Перед приближением расчетного времени кульминации планет фиксация электрохимических параметров воды и жидкой среды живых организмов производилась практически в непрерывном режиме: в течение 10-12 минут с интервалом менее 2 минут.

В экспериментах использовались взрослые особи с оформленным устьем.

В экспериментальной установке использован потенциостат марки ИВС микро, разработанном в Институте физхимии и электрохимии им А. Фрумкина РАН. Прибор предназначен для определения характеристик химических реакций, протекающих в воде и позволяет измерять электрические токи в электрохимической ячейке при непрерывном изменении напряжения на межэлектродном промежутке.

Особенность режима работы прибора заключается в возможности проведения измерений токов с заданным промежутком времени, в частности, можно проводить мониторинг эффектов изменения окружающей среды, вызванного перемещением небесных тел Солнца, Луны и планет солнечной системы.

## Результаты

Предложенная экспериментальная методика многолетнего инструментального наблюдения изменения свойств воды под воздействием внешних факторов окружающей среды [8], позволила обнаружить эффекты, возникающие в воде во время солнечных и лунных затмений, а также сопутствующие сильному извержению вулкана Эйяфьядлайкеудль в Исландии и тектоническим процессам, проявляющимся в виде землетрясений и цунами. На рис. 1-4 показаны зафиксированные нами вариации токов во время отдельных геофизических событий.

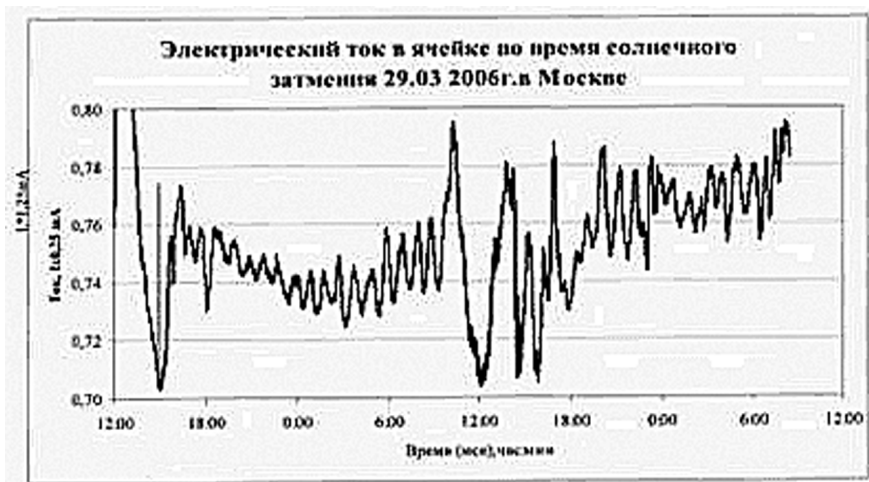


Рисунок 1. Ход электрических токов в ячейке во время (отмечено стрелкой) и сразу после солнечного затмения в Москве, произошедшего в 15 ч 6 мин 29 марта 2006 г.

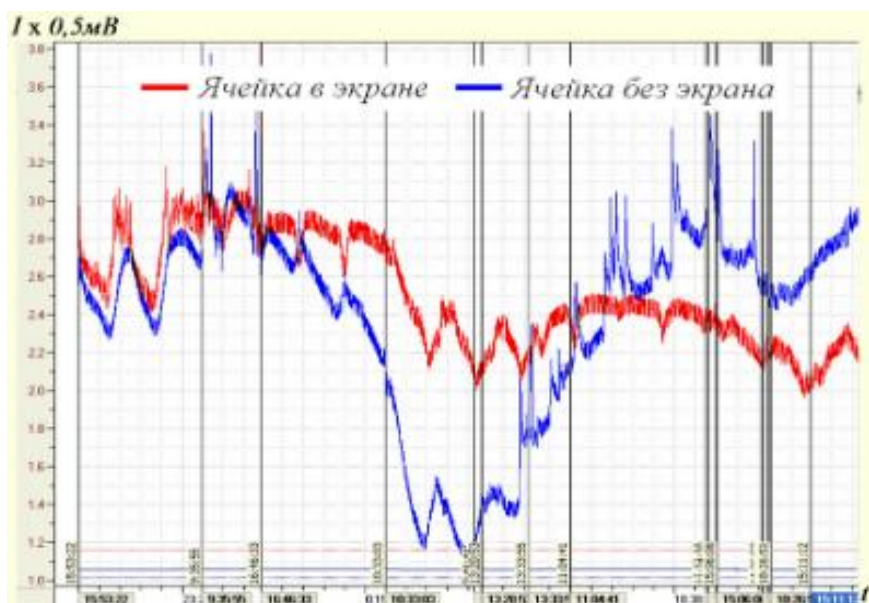


Рисунок 2. Динамика токов в экранированной и неэкранированной электрохимических ячейках в период извержения вулкана Эйфьядлайекудль

Минимум токов наступил 12.04.2010 г., который независимые наземные службы зафиксировали в момент максимального извержения. По нашему мнению, в этот период проявился эффект снижения потока электромагнитного излучения (ЭМИ), вызванного загрязнением обширных областей атмосферы выбросами вулканических газов, пыли и пепла.

На рисунке 4 розовым цветом выделены токи, поступающие в устройство с полупроводникового фотоэлемента и служащие маркером смены дня и ночи. На



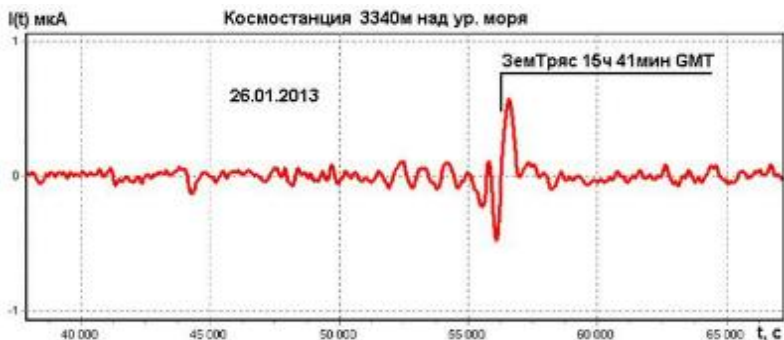


Рисунок 3. Регистрация токов в ячейке в устройстве, размещенном на Космостанции в Казахстане в период землетрясения в Иране 26 января 2013 г. в 15 час. 41 мин. по всемирному времени.

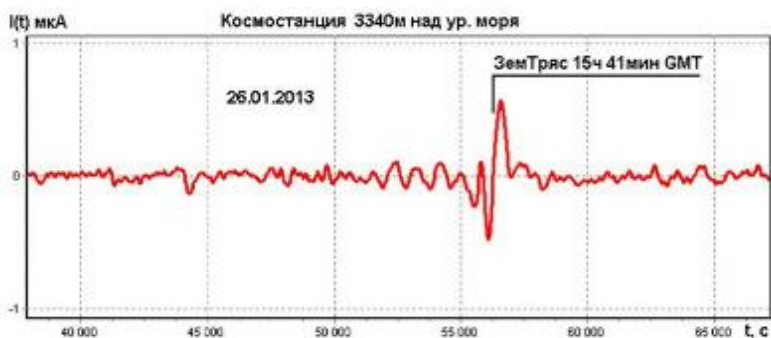


Рисунок 4. Динамика токов в двух ячейках в течение 3 суток в 26-28 июля 2013 г.

кривых токов, показанных синим и красным цветом, отчетливо виден периодический характер колебаний токов с периодом  $\sim 55-65$  минут. Почти периодические колебания тока, регистрируемые в ночное и утреннее время, связаны, по нашему мнению, с суточной динамикой изменений потоков космического электромагнитного излучения (ЭМИ), активирующего воду в ячейках, вызваны собственными вириальными колебаниями плотности атмосферы типа  $\text{So}_2$ . Зафиксированные колебания протекающих токов вызваны влиянием приливов на поток электромагнитного излучения (ЭМИ), поступающий из магнитосферы.

Итак, в экспериментах показано, что в водной среде под воздействием электромагнитного излучения окружающей среды постоянно происходит смена окислительно-восстановительного статуса, что неизбежно вызывает изменения в состоянии внутренней среды живых организмов, влияющей на обменные, регуляторные, иммунные и другие процессы [11].

Обнаруженные закономерности изменения электрических токов в воде в электрохимических ячейках позволяют, по нашему мнению, приблизиться к раскрытию механизмов влияния гео- и гелиофизических факторов не только на свойства чистой воды в электрохимической ячейке, но и в водной среде живых организмов.

В то время как при измерениях токов в межэлектродном промежутке, заполненном чистой водой, определяются дифференциальные параметры электрохимических реакций воды на воздействие факторов окружающей среды, мониторинг динамики

ОВП и рН позволяет наблюдать и контролировать интегральные характеристики биотропных условий обитания живых систем синхронный мониторинг окислительного отклика воды на воздействия радиационной и магнитной обстановки и климатических условий различных регионов страны и мира в целом. Так, на рисунке 5 показана многосуточная динамика ОВП воды в ИМБП РАН в г. Москве и за полярным кругом в Нарьян-Маре.

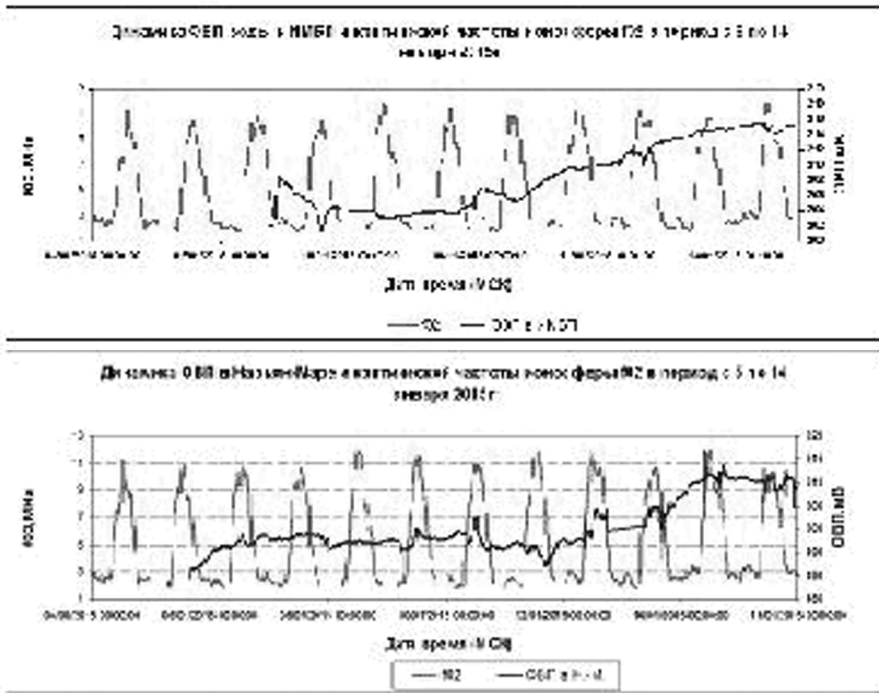


Рисунок 5. Динамика ОВП воды в Нарьян-Маре и Москве и критической частоты ионосферы fo2 в период с 6 по 14 января 2015 г.

Сходство трендов ОВП в Москве и Нарьян-Маре показывает, что глобальный поток ЭМИ, определяемый процессами в космическом пространстве далеко за пределами солнечной системы является общим для всей планеты Земля. Однако имеются заметные отличия ОВП в локальных проявлениях. Так, видно, что днем 8 января 2015 г. в Москве была отмечена магнитная буря, резко понизившая окислительные свойства воды, а в Нарьян-Маре падения ОВП не отмечалось. Следовательно, если базироваться на представлениях, что во время магнитных возмущений в магнитосфере формируются потоки заряженных частиц, высыпающихся на низковысотные слои ионосферы и атмосферы (E и D слои), можно представить процесс падения окислительных свойств воды как реакцию на приход потоков электромагнитного излучения, генерируемого при торможении и поглощении таких частиц в атмосфере.

*Результаты изучения динамики электрических токов воды и водного раствора слизи виноградной улитки в «спокойном» и измененном состоянии ионосферы и атмосферы*

В настоящей работе представлены предварительные результаты исследований по выявлению эффектов космофизических и геофизических факторов окружающей

среды на живые системы в воде и водных растворах слизи моллюсков на примере виноградной улитки.

Использование методики определения окислительных свойств воды и водных растворов белков позволило исследовать динамику электрохимических параметров воды и внутренней водной среды живых систем например если зи виноградной улитки. Вариации электрических токов были зафиксированы в «спокойном» состоянии ионосферы и атмосферы и в момент изменённого приливными волнами состояния ионосферы и атмосферы, произошедшего во время изменения положения Луны и планет, а также во время астрономического захода Солнца и влияния земной приливной волны и других космо- и геофизических факторов. Расчетное время кульминации светил определялось с помощью стандартной методики расчета движения планет.

Например, эффект сильной вариации электрических токов в воде обнаружен во время прохождения Луны через перигей в 17 час.00 мин. 27.07.07. 2016 г. (продолжительность 305,21сек.). Эффект вариации электрических токов во внутренней жидкой среде организма выявлен для слизи виноградной улитки время кульминации Юпитера в 17.час.48 мин. 28.06.2016 г. (продолжительность 102.75 сек.), во время захода Меркурия в в 17 час.50 мин. 44 сек. (продолжительность 227, 41 сек) а так жево время астрономического захода Солнца (18 час. 31 мин. 15 сек.) и влияния Земной приливной волны (18 час.09 мин.28 сек).

В спокойном состоянии ионосферы и атмосферы зарегистрированная картина хода электрических токов в электрохимических ячейках представлена на Рисунок 6 (чистая вода) и 7 (водный раствор слизи виноградной улитки).

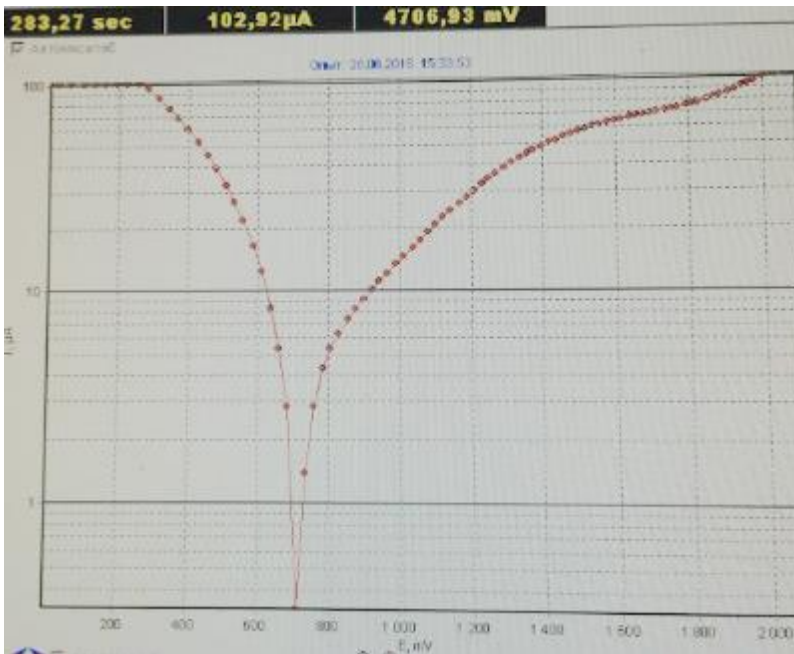


Рисунок 6. Зарегистрированная картина хода электрических токов в электрохимических ячейках с чистой водой в спокойном состоянии ионосферы и атмосферы (15 час.33 мин. 53 сек. 28.06. 2016 г.).

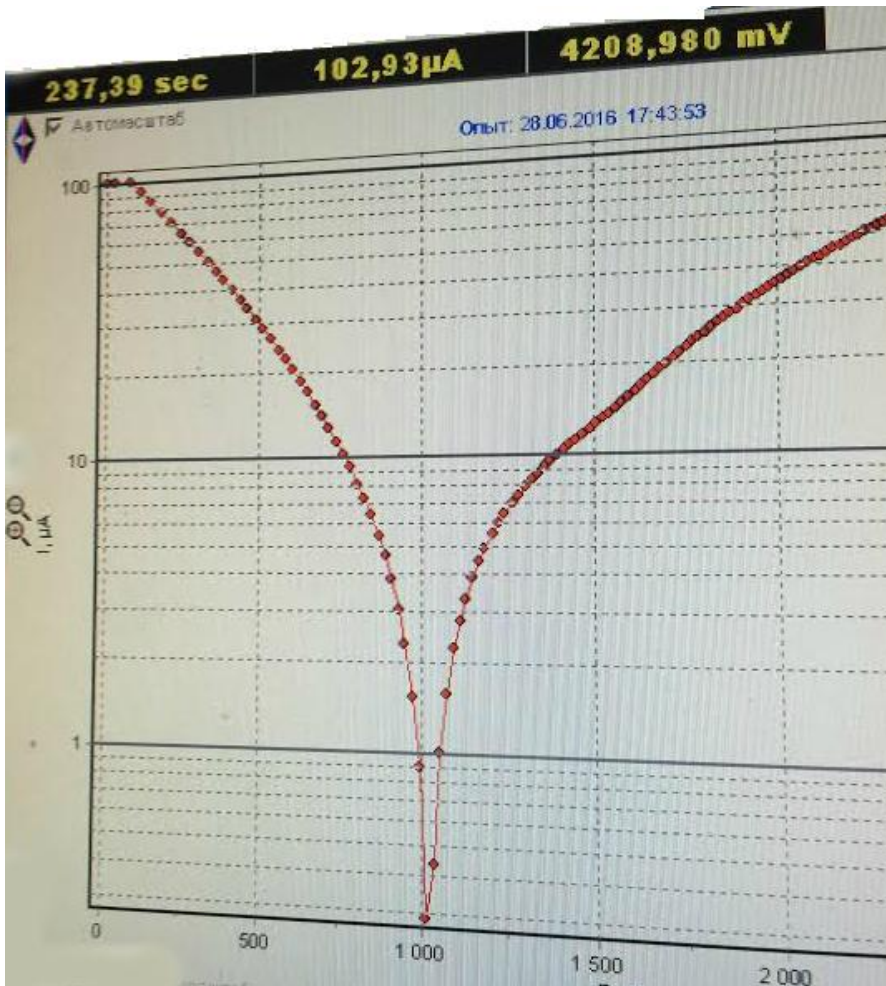


Рисунок 7. Зарегистрированная картина хода электрических токов в электрохимических ячейках с водным раствором слизи виноградной улитки в спокойном состоянии ионосферы и атмосферы (17 час.43 мин. 53 сек. 28.06. 2016 г.).

Следует отметить сходство форм кривых воды и улитки, что говорит о прямой связи изменения окислительных свойств воды и состояния слизи.

«Спокойное» состояние ионосферы и атмосферы - это состояние во временных промежутках между возмущающими воздействиями, вызванными движением Луны и планет Солнечной системы.

Во время кульминации происходит изменение толщины ионосферы и атмосферы за счет приливной волны, вызванной гравитационным воздействием. На Рисунок 8-10 представлены картины вариации электрических токов, зафиксированные нами в измененном состоянии ионосферы и атмосферы для слизи виноградной улитки.

Необходимо отметить, строгую корреляцию появления сильных вариаций токов электрохимических ячейках с расчетным временем движения Луны, планет, а также влиянием других космо- и геофизических факторов.

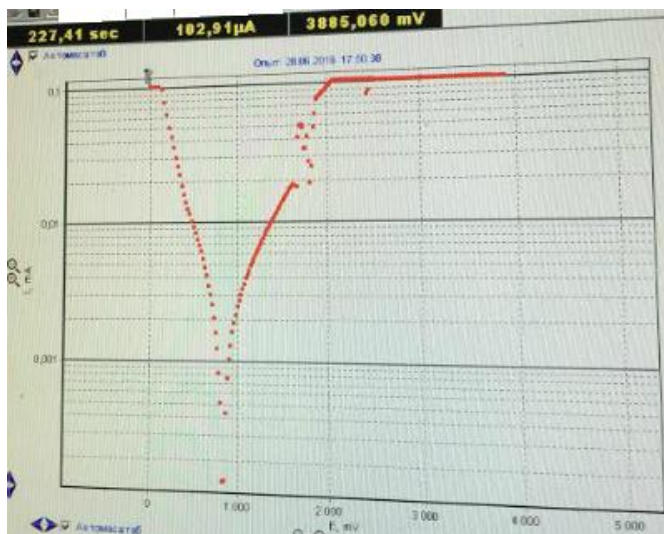


Рисунок 8. Зафиксированные вариации электрических токов в ячейках с водным раствором слизи виноградной улитки в зарегистрированный момент изменения состояния ионосферы и атмосферы, обусловленного заходом Меркурия (17 час.50 мин.38 сек.).

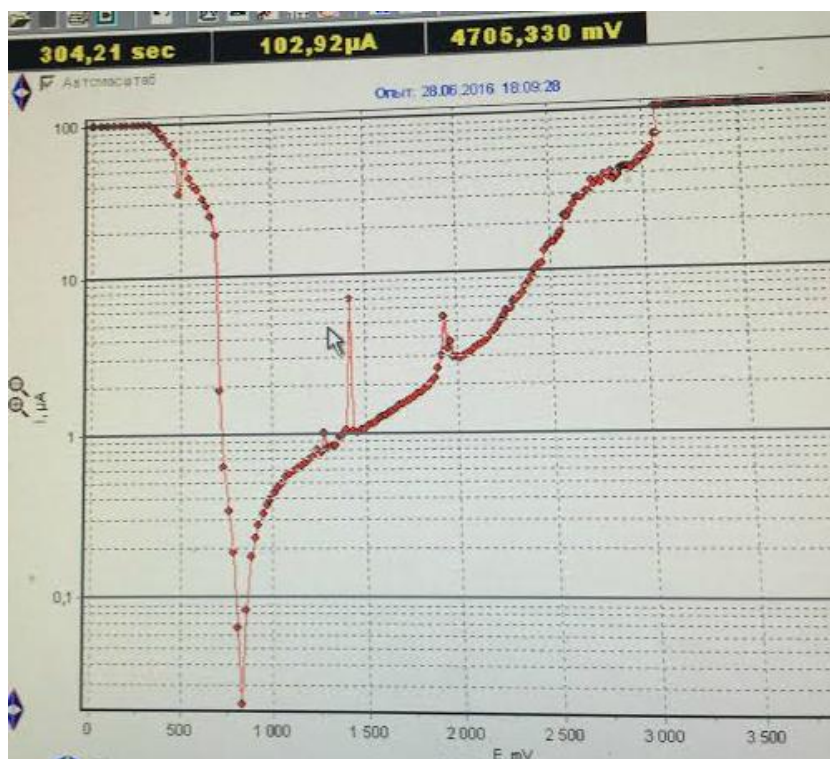


Рисунок 9. Вариации электрических токов в ячейках с водным раствором слизи виноградной улитки, зафиксированные время влияния земной приливной волны (18 час.09 мин.28 сек.).



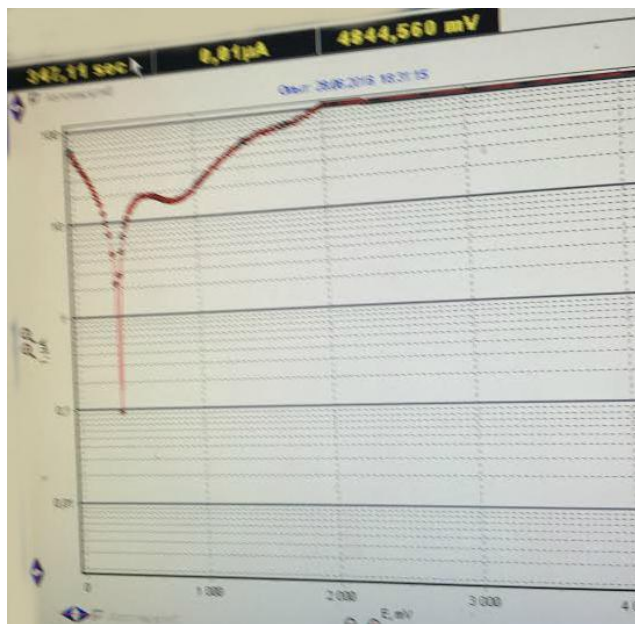


Рисунок 10. Вариации электрических токов в ячейках с водным раствором слизи виноградной улитки, зарегистрированные в момент астрономического захода Солнца (18 час.31.мин. 15 сек).

В момент измененного состояния ионосферы и атмосферы обнаружено повышение электрического перенапряжения в межэлектродном пространстве, продолжительностью 2-5 минут. Размах колебания напряжения увеличился с 500-800 мВ до 120-1000 мВ. Одновременно, во всех зафиксированных случаях наблюдались всплески и прерывание динамики электрического тока, что, возможно, обусловлено изменением состояния воды и структуры белка.

Результаты исследований позволяют считать, что электрохимические параметры жидкой воды и жидкой среды живых организмов могут использоваться в качестве индикаторов воздействия космо- и геофизических факторов, что может быть использовано при создании систем оценки космофизической опасности, работающих в реальном времени.

### Заключение

Предложен метод оценки влияния космо-физических факторов на биообъекты, позволяющий производить диагностику их эффектов на живые системы. Главным звеном в действии факторов окружающей среды на биообъекты является вода как основной компонент биообъектов, которая изменяет свои свойства и структурное состояние.

Зафиксированный нами в эксперимент процесс вариации электрических токов (на примере воды и внутренней водной среды живого организма-виноградной улитки) предлагается трактовать как сформировавшийся в процессе эволюции электрохимический механизм поддержания гомеостаза организмов как живых систем, находящихся под постоянным воздействием космофизических факторов.

Таким образом, на фоне постоянного ритмического воздействия космофизических факторов (сверхслабого излучения  $10^{-8}$ -  $10^{-10}$  Вт/см<sup>2</sup>) излучение от Луны и пла-

нет может изменять состояние ионосферы и атмосферы на 2-5 минут. Появление сильных вариаций токов в этот момент строго коррелирует (совпадает) с расчетным временем движения планет.

Результаты исследований позволяют считать, что электрохимические параметры жидкой среды живых организмов могут служить надежными маркерами эффекта воздействия космофизических факторов, что может быть основой для работающей в реальном времени системы оценки космофизической опасности (в том числе радиационной) и информации населения. Проведенные исследования показывают также широкий спектр причин, которые нарушают воспроизводимость медико-биологических экспериментов. Предложен метод оценки влияния космофизических факторов на биообъекты, позволяющий производить диагностику их эффектов на живые системы. Главным звеном в действии факторов окружающей среды на биообъекты является вода как основной компонент биообъектов, которая изменяет свои свойства и структурное состояние.

### Цитируемая литература

1. Ушаков И.Б. Цетлин В.В., Мойса С.С. Прогноз радиационной ситуации в дальнем космосе: реакция воды и живых систем при хроническом воздействии ионизирующего излучения в малых дозах. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2013. Т.47.с.61-68.
2. Цетлин В.В., Зенин С.В., Лебедева Н.Е. Механизмы воздействия сверхслабых доз ионизирующей радиации на водную среду // *Биомед. радиоэлектроника*. 2005. № 6. С. 53-58.
3. Лебедева Н.Е., Цетлин В.В. Влияние космических ритмов на гидробионтов и среду их обитания // *Тр. биогеохим. лаб.»Современные тенденции развития биогеохимии»*. М. ГЕОХИ РАН. 2016. Т. 25. С. 81-87.
4. Цетлин В.В., Левинских М.А., Нефедова Е.Л., Дерендеева Т.А., Федотова И.В. Влияние малых доз ионизирующего излучения на водный субстрат и развитие семян высших растений // *Авиакосм. и экол. мед.* 2008. №3. С.18- 22.
5. Moisa S.S., Tsetlin V.V., Levinskich M.A., Nefedova E.L. Low Doses of Ionized Radiation and Hypomagnetic Field Alter Redox Properties of Water and Physiological Characteristics of Seeds of the Highest Plants.//*J. Biomedical Science and Engineering*, 2016. Vol. 9. № 8. P. 410-418. <http://dx.doi.org/10.4236/jbise.2016.98036>
6. Moisa S.S., Zotin A.A., Tsetlin V.V. The embryonic development of great Ramshorn Planorbium corneum under the hypomagnetic field // *American Journal of Life Sciences. Special Issue: Space Flight Factors: From Cell to Body*. 2015. Vol. 3. N 1-2. P.25-31. DOI: 10.11648/j.ajls.s.2015030102.15.
7. Чижевский А.Л. Космический пульс жизни: Земля в объёмах Солнца. Гелиотараксия.// М.: Мысль, 1995. 768 с.
8. Цетлин В.В. Исследование реакции воды на вариации космофизических и геофизических факторов окружающего пространства // *Авиакосм. и экол. медицина*. 2010. № 6. С. 26-31. Прикурин В.И., Бахир В.М. Электрохимическая активация воды: аномальные свойства, механизм биологического действия. М.: ВНИИИ МП АО МПО «Экран». 1987. 228 с
9. Рассадкин В.П. Вода обыкновенная и необыкновенная. М.: Галерея СТО. 2008. 840 с.
10. Прикурин В.И., Бахир В.М. Электрохимическая активация воды: аномальные свойства, механизм биологического действия. М.: ВНИИИ МП АО МПО «Экран». 1987. 228 с
11. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилуминесценция. // *Успехи биол. наук*. 2009. Т.49. С. 341- 388.

### ELECTRO-CHEMICAL PARAMETERS OF WATER AND WATER MEDIUM OF LIVING SYSTEMS AS INDICATORS OF THE EFFECTS OF COSMO-PHYSIC FACTORS

**Tsetlin V.V., Makeeva V.M, Moisa S.S., Smurov A.V., Savchukov S.A.**

A method of measuring the electrochemical parameters of water and the liquid medium of living organisms has been developed and tested on biological objects. Variation in currents that accompany

changes in the ionosphere and atmosphere, occurring under the influence of various cosmo- and geophysical factors such as solar and lunar eclipses, the motions of the Moon and the planets of the Solar system, earthquakes and volcano eruptions are identified. It is for the first time that it was found out that, with the impact of the cosmophysical factors (ultra-low radiation  $10^{-8} - 10^{-10}$  W/cm<sup>2</sup>) being constant, the condition of water and the liquid mediums of living organisms can be altered for 2-5 minutes by the gravity of the Moon (at the moment of passing through perigee), planets (at the moment of culmination) and the Sun (at the moment of astronomical sunset) as well as by the Earth's tidal waves. Strong variation in electric currents exactly coincides with the estimated time of planetary motion. The authors suggest that the experimentally recorded variations in electric currents in electrochemical cells (exemplified by water and the inner water medium of a model  $\frac{3}{4}$  grapevine snail (*Helix pomatia* L.) should be seen as an evolutionarily established electrochemical mechanism to maintain the homeostasis of organisms as living systems which are constantly exposed to cosmophysical factors. The method of measuring the electrochemical parameters of water and the liquid medium of living organisms can be used to diagnose the cosmophysical factors.

## PACIFIC SALMON, SEABIRDS AND MARINE MAMMALS AS BIOINDICATORS OF ORGANOCHLORINE CONTAMINATION ON NORTHWESTERN PACIFIC

Tsygankov V.Y.<sup>1</sup>, Boyarova M.D.<sup>1</sup>, Lukyanova O.N.<sup>1</sup>, Khristoforova N.K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Far Eastern Federal University (FEFU), Vladivostok, Russia; tsig\_90@mail.ru

<sup>2</sup> Pacific Geographical Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia

### Abstract

Organochlorine pesticides (OCPs) (HCHs and DDT) are still used as pesticides in the Southern Hemisphere and can reach the North Pacific due to atmospheric transfer. Marine mammals (*Pacific walrus Odobenus rosmarus divergens*, gray whale *Eschrichtius robustus*), the seabirds (Pacific gull *Larus schistisagus*, crested auklet *Aethia cristatella*, auklet crumb *Aethia pusilla*, northern fulmar *Fulmarus glacialis*, and grey petrel *Oceanodroma furcata*) and Pacific salmon (pink (*Oncorhynchus gorbusha*), chum (*O. keta*), chinook (*O. tshawytscha*), and sockeye (*O. nerka*)) were collected near the Kuril Islands (the northern-western part of the Pacific Ocean), in the Sea of Okhotsk and the Bering Sea. The total OCPs concentration (HCHs+DDTs) was found in each organism: in the Pacific walrus liver 90263 ng/g lipids, in the seabird tissues – from 29 ng/g lipids to 16095 ng/g lipids; and in the salmon — from 41 to 7103 ng/g lipids. The concentrations and possible sources of OCPs in marine organisms are discussed.

**Keywords:** bioindicators, OCPs, marine mammals, seabirds, Pacific salmon, Northwestern Pacific

### Introduction

Organochlorine pesticides (OCPs) are toxic lipophilic anthropogenic substances, resistant to photolytic, chemical and biological degradation. In the XX century, hexachlorocyclohexane (HCH) and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) were used mostly. At the end of 1970, the productions of these two substances were officially banned in several countries. The Stockholm Convention has compiled a list of particularly dangerous toxicants ("dirty dozen"), which included DDT and its metabolites (DDD and DDE) (UNEP 2005) in 2001. In 2009, nine compounds, which include HCH extended the list. DDT was widely used to protect people from malaria and other diseases. After the World War II, DDT was widely used in agriculture as an insecticide, which has led to widespread pollution of water and soil and to a serious deterioration in the human and animal health.

The term "bioindicators" is used for organisms or organism associations which respond to pollutant load with changes in vital functions, or which accumulate pollutants. The most



important reasons for using bioindicators are the direct assessment of biological effects, the determination of synergetic and antagonistic effects of multiple pollutants, the early recognition of pollutant damage to living organisms and relatively low cost compared to technical measuring methods. Intensive research over the last decades has resulted in the availability of numerous bioindicators which satisfy the requirements of convenience, standardization, cost, and evaluative capability. Bioindicators are commonly grouped as accumulative indicators and response indicators. Accumulative indicators store pollutants without any evident changes in their metabolisms. Response indicators react with physiological changes or visible symptoms of damage after the influence of toxic substances in low amounts (Markett et al. 2003; Holt and Miller 2010).

Fish inhabit almost the all aquatic environment of the planet. Most fish species are good OCPs accumulators. The many species of fish correspond to required criteria of bioindicators for the assessment of aquatic ecosystems. Therefore, fish are considered as one of the best organisms for the study of bioaccumulation characteristics and effects of pollutants on the ecosystem (Lukyanova et al. 2016). Bioindicators are provided the basis for biomonitoring.

Seabirds are useful bioindicators for organochlorine pollutants monitoring because they often are at the top of the food pyramid. Non-migrating birds can reflect the background contamination of their habitat. If there are no local pollution sources, birds reflect the global pollution resulting from the trans-boundary transfer of pollutants (Kunisue et al. 2003; Tsygankov et al. 2016).

Marine mammals can be considered key species for monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in the marine environment all over the world. They can be used as bioindicators of global pollution and also as biomonitors of modern trends in anthropogenic pollution of the biosphere (Tanabe and Subramanian 2006; Tsygankov et al. 2015b).

Therefore, the purpose of the study is to assess environmental status of the Sea of Okhotsk and the Bering Sea using marine organisms – Pacific salmon, seabirds and marine mammals.

### **Materials and methods**

Marine organisms have been collected in various parts of the Sea of Okhotsk and the Bering Sea in 2010-2013.

*Pacific salmon.* Samples of organs from fish of four *Oncorhynchus* species – pink (*O. gorbuscha*), chum (*O. keta*), sockeye (*O. nerka*), and chinook (*O. tshawytscha*) – were analyzed. The samples were collected during expeditions organized by Pacific Research Fisheries Centre (TINRO-Center): pink and chum were caught in the southern Sea of Okhotsk, off the Kuril Islands, in June 2012 and 2013, during pre-spawning migrations; sockeye and Chinook were caught in the western Bering Sea and in the Sea of Okhotsk in October and November 2010 and 2011, during feeding ground. The fish were dissected; their organs were separated from the body. In pink and chum, the organs subjected to analysis were muscles, liver, male gonads, eggs, and whole fish; in chinook and sockeye, muscles and liver.

*The seabirds* (Pacific gull *Larus schistisagus*, crested auklet *Aethia cristatella*, auklet crumb *Aethia pusilla*, northern fulmar *Fulmarus glacialis*, and grey petrel *Oceanodroma furcata*) were collected in June and October 2012 from the Sea of Okhotsk. The samples were collected during expeditions organized by Pacific Research Fisheries Centre (TINRO-Center). Various organs, depending on the size of the birds, were analyzed: feathers, the feathers with the skin, liver, muscle, and whole bird.

*Marine mammals.* The liver and muscles of gray whales (*Eschrichtius robustus*; 4 males and 3 females) of different ages, and Pacific walrus (*Odobenus rosmarus divergens*; 5 males and 3 females) caught by the indigenous people in summer 2010-2011 from the coast waters (Mechigmeny Bay) of the Bering Sea were studied. The International Whaling Commission (IWC) has allowed exclusive harvesting rights for these gray whales to the indigenous peoples of Chukotka and Alaska as a means of supporting their traditional lifestyle.

Frozen samples ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) were transported to laboratory. Before chemical analysis, separate organs and tissues were homogenized mechanically. Lipids were extracted from homogenized tissues (20 g) by means of n-hexane extraction, with subsequent disintegration of the fat components by concentrated sulphuric acid (Tsygankov and Boyarova 2015). Concentrations of organochlorine pesticides (HCH isomers ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HCH), DDT and its metabolites (DDD, DDE)) in samples were measured by a gas chromatograph Shimadzu GC-2010 Plus with an ECD (electron capture detector) (capillary column Shimadzu HiCap CBP5). Column temperature –  $210^{\circ}\text{C}$ , injector –  $250^{\circ}\text{C}$ , and detector –  $280^{\circ}\text{C}$ . Carrier gas is argon, inlet pressure:  $2\text{ kg/cm}^2$ , 1:60 flow divider, and flow rate of carrier gas through the column: 0.5 ml/min.

Laboratory blank samples were extracted and analyzed on a regular basis. Retention times for the standard samples were constant and were therefore relied upon for component identification. To identify individual substances, standard working solutions of OCPs in the concentration range of 1–100 mg/ml were applied. The calibration lines showed excellent linearity in the range of the concentrations of interest. To determine the quality of the methodology, a recovery study was performed using standard addition methods. Seven fish tissue samples were spiked with the mixture of pesticides standards. The spiked samples were extracted and analyzed as described in the method above. The results revealed that the mean recovery values ranged from 85.1 to 98.6%. This indicates that the analytical procedures outlined for the OCPs determination in this study were reliable, reproducible and efficient.

The statistical analysis of the results was performed in the software package IBM SPSS Statistics for Mac OS X. Significance of the obtained data was evaluated by using the Mann-Whitney  $U$  test with the significance level of  $p \leq 0.05$ .

## Results

### *Pacific salmon*

HCH isomers and DDE were found in all analyzed samples. The total content of pollutants in various organs varied within a wide range, from 41 to 7103 ng/g lipids. In general, the pesticide concentration increased in the following order: muscles < liver < eggs < male gonads. The maximum OCPs concentration in individual fish was recorded from sockeye liver (7103 ng/g lipids), where HCHs constituted 6453 ng/g that was also the maximum value for the studied salmon. The highest concentration of DDE was found in chinook liver (3022 ng/g). DDE in all the samples was the only registered DDT metabolite that indicates destruction of initial DDT, i.e. long-term presence of this pesticide in the ecosystem (Tanabe and Subramanian 2006). All three HCH isomers were detected in pink and chum; the total content of  $\alpha$ - and  $\beta$ -HCH was higher than the level of  $\gamma$ -HCH.  $\alpha$ - and  $\beta$ -HCH are the most stable isomer and typically constitute the major portion of the total HCHs content in living organisms (Wu et al. 1997).

The total concentration of HCH isomers in all the species was generally higher than the DDE concentration. As we showed earlier, the total concentration of HCHs in marine organisms from the Sea of Japan, the Sea of Okhotsk and the Bering Sea, as a rule, is

higher than the DDT content (Lukyanova 2013; Lukyanova et al. 2014; 2015; 2016; Tsygankov et al. 2014; 2015a; 2015b; 2016). In muscles and liver of chinook and sockeye, only two ( $\alpha$ - and  $\gamma$ -) of three HCH isomers were detected in all the analyzed samples; the value of  $\gamma$ -isomer was the highest. The high concentration of these isomers in species that spend several years in ocean indicates the recent input of technical HCH and lindane into marine ecosystems (Lukyanova et al. 2016). The same difference was observed for salmon from the Sea of Okhotsk and the Bering Sea. HCHs, as compared to DDT, are subject to atmospheric transfer to a greater degree (Bidleman 1999); as a result, HCHs is spread northward along the Asian coast and accumulates in the Arctic region (Wania and Mackay 1993).

A comparison of the total OCPs amount in muscles and liver of all four fish species showed that the mean values did not differ significantly between pink and chum, but they were significantly lower ( $p \leq 0.05$ ) than in chinook, in which the value was even lower than in sockeye (Fig. 2) (Lukyanova et al. 2016). The concentration increases in the following sequence: chum  $\leq$  pink < chinook < sockeye; for instance, the total concentration in muscles ranged within 78.8–174.1, 89.3–222.8, 265.0–2435.4, and 165.7–3020.1 ng/g lipids, respectively.

#### *Seabirds*

The total concentrations of pesticides in various organs of the seabirds ranged from 13 to 16095 ng/g lipids. The OCP concentrations in feathers ranged from 29 to 8289 ng/g lipids, in feathers with skin – from 1568 to 16 095 ng/g lipids, in the liver – from 1680 to 2478 ng/g lipids, in muscles – from 2230 to 3000 ng/g lipids, in whole body – from 13 to 15113 ng/g lipids.

DDT was found in the fulmars feathers only, 975-1978 ng/g lipids in each individual. DDE was present in all specimens ranging from 28 to 15276 ng/g lipids. DDD was not detected at all samples. Maximum OCPs concentrations in the whole body were observed in fulmars (5816 ng/g lipids), minimum – in the gray petrel (1705 ng/g lipids). Maximum total OCPs concentration in the feathers was found in the Pacific gull – 8289 ng/g lipids, the minimum – in fulmar, 29 ng/g lipids. The maximum total OCPs concentrations in feathers with the skin and the total DDTs were found in crested auklet (16095 and 15276 ng/g lipids, respectively), the lowest concentrations – in feathers with the skin of the Pacific gull (1568 and 1016 ng/g lipids, respectively). In the liver, the total OCPs concentration in fulmar (2478 ng/g lipids) and total DDTs (1923 ng/g lipids) exceeded those in Pacific gull (1680 and 1377 ng/g lipids, respectively). OCPs concentration in muscle of Pacific gull (3000 ng/g of lipids) and the amount of DDTs (2775 ng/g lipids) were higher than in fulmar (2230 and 2030 ng/g lipids, respectively) (Tsygankov et al. 2016).

Features of nutrition, migratory behavior and bird's life strategy define species peculiarities in the pesticide accumulation. The studied seabirds are a highly abundant species found primarily in subarctic regions of the North Atlantic and the North Pacific oceans. On the northern part of the Sea of Okhotsk bird reaches the Kurile Islands. Transoceanic migration is not typical for studied seabirds (Shuntov, 1998). In our study seabirds were collected from the south-western coast of Kamchatka and the Kuril Islands, where the most significant bird's concentrations are formed. Detection of  $\gamma$ -HCH and DDT on the feathers of birds enables estimation of the presence of “fresh” contamination. However, there are no local pollution sources of marine environment and the air in the Sea of Okhotsk areas; the atmospheric transport from areas of application, such as Southeast Asia, appears as the most probable source.

### *Marine mammals*

Pesticides were found in all the analyzed specimens of gray whales. The total content of pesticides ( $\Sigma\text{HCH} + \Sigma\text{DDT}$ ) in liver was higher than that in muscles. The concentration of pesticides in muscles ranged from 297 to 3581 ng/g lipids; in liver, from 769 to 13808 ng/g lipids (Tsygankov et al. 2015b). No statistically significant sex-dependent differences in the content of OCPs in muscles were observed; nevertheless, the concentration of xenobiotics in males (except for DDT and DDD, which were not found) tended to increase. In liver of males, only concentration of  $\alpha$ -HCH had statistically significant higher values ( $p = 0.05$ ), as compared to females. Here we may only note the tendency of growing pesticide content in liver of males. The low statistical significance of the obtained results is probably related to the small number of studied individuals.

The analysis of total OCP content ( $\Sigma\text{HCH} + \text{DDT}$ ) in muscles and liver of gray whale showed that statistically significant differences between muscles and liver existed only for  $\beta$ -HCH ( $p = 0.002$ ). As for other pollutants, statistically insignificant increases of the total concentration of DDT in liver and that of HCH in muscles were observed.

Pesticides were found in all the studied specimens of Pacific walrus. The total OCP ( $\Sigma\text{HCH} + \Sigma\text{DDT}$ ) content in liver varied within 4900–90300 ng/g lipids. These values substantially exceeded the range in muscles, which were 200–5700 ng/g lipids (Tsygankov et al. 2015b). In muscles, all isomers of HCH and DDT were detected; in liver, isomers of HCH, DDT, and DDE.

There was no statistically significant difference between muscles of males and females, although concentrations of all the pollutants, except for  $\alpha$ -HCH, were higher in females. As for liver, concentrations of all pesticides were higher in females (except for  $\beta$ -HCH, which was higher in males), but these differences were also insignificant statistically.

The total content of various OCPs in muscles and liver of Pacific walrus is showed that statistically significant results of comparison of the organs were obtained only for two compounds,  $\alpha$ -HCH ( $p = 0.016$ ) and DDT ( $p = 0.021$ ), the concentration of which proved to be higher in liver. For the other compounds, the differences were statistically insignificant: the  $\gamma$ -HCH and DDE concentrations were higher in liver, whereas the  $\beta$ -HCH concentration was higher in muscles.

The different levels of accumulation of pesticides in certain species indicate firstly the different degrees of pollution of their habitats by these compounds. The species-specific pattern of accumulation of lipophilic xenobiotics is determined to a great extent by the total fat content in the subcutaneous tissue and in some organs. Degree of sexual maturity of individuals is also of great importance. Gray whale and Pacific walrus inhabit similar geographical ranges, and the fat content in their organs differs insignificantly, amounting to 8–10%. Substantial differences in pesticide contents may be related also to the stage of reproductive cycle and are determined mostly by feeding habits. Gray whales feed predominantly on benthic crustaceans and other small-sized organisms that live both on and under the surface of soft bottom sediments (infauna). The major portion of walrus' diet comprises benthic invertebrates: bivalves, some species of shrimps, lobsters, polychaetes, priapulids, octopuses, holothurians, and also some fish species. Moreover, walruses may sometimes prey on spotted seals and harp seal pups (Burdin et al. 2009). Thus, items of walrus' food accumulate more pesticides in their bodies than gray whale's food items do, since the coefficients of pollutant accumulation for mollusks and fish are higher than those for crustaceans (Li et al. 2007). The different rates of pesticide biomagnification in gray whale and Pacific walrus are caused to a great extent by the difference in their feeding habits and daily rations (Tsygankov et al. 2015b).

## Conclusion

The use of bioindicators organisms facilitates the monitoring of the aquatic environment and indicates the degree of ecosystems contamination. In our study, Pacific salmon, seabirds and marine mammals are used as bioindicators for assessment of the ecological status of the Sea of Okhotsk and the Bering Sea. The presence of considerable concentrations of pesticides in marine organisms from the Sea of Okhotsk and the Bering Sea, which areas are very far from the regions of industrial activities and pesticides application, is not a surprise, but demonstrate and confirm general global pesticides background existing in the world today. The ocean became natural reservoir of contaminants from the various sources. It is determined the need for regular monitoring of the marine environment and biota in this region.

## References

- Bidleman TF (1999) Atmospheric transport and air-surface exchange of pesticides. *Water, Air, and Soil Pollution* 115:115–166. doi: 10.1023/A:1005249305515
- Burdin A, Filatova OA, Hoyt E (2009) Marine mammals of Russia. Kirov. Holt EA, Miller SW (2010) Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts. *Nature Education Knowledge* 3(10):8.
- Kunise T, Watanabe M, Subramanian A, et al (2003) Accumulation features of persistent organochlorines in resident and migratory birds from Asia. *Environmental Pollution* 125:157–172. doi: 10.1016/S0269-7491(03)00074-5
- Li A, Tanabe S, Jiang G, et al (2007) Persistent organic pollutants in Asia sources, distributions, transport and fate. Elsevier, Amsterdam; London.
- Lukyanova O. (2013) Persistent organic pollutants in marine ecosystems in Russian Far East: Sources, transport, biological effects. LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken.
- Lukyanova O.N., Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Khristoforova N.K. (2016) Bioaccumulation of HCHs and DDTs in organs of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) from the Sea of Okhotsk and the Bering Sea. *Chemosphere* 157:174–180. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.039
- Lukyanova O.N., Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Khristoforova N.K. (2014) Pesticide biotransport by Pacific salmon in the northwestern Pacific Ocean. *Doklady Biological Sciences* 456:188–190. doi: 10.1134/S0012496614030089
- Lukyanova ON, Tsygankov VY, Boyarova MD, Khristoforova NK (2015) Pacific salmon as a vector in the transfer of persistent organic pollutants in the Ocean. *Journal of Ichthyology* 55:425–429. doi: 10.1134/S0032945215030078
- Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G. (2003) Definition, strategies and principles for bioindicators/biomonitoring of the environment. In: Markert BA et al (ed) *Bioindicators and biomonitoring. Principles, concepts and applications*. Elsevier. Amsterdam.
- Shuntov V.P. (1998) *The Birds of Far Eastern Seas of Russia*. TINRO-Center, Vladivostok.
- Tanabe S., Subramanian A. (2006) *Bioindicators of POPs: monitoring in developing countries*. Kyoto University Press; Trans Pacific Press, Kyoto, Japan; Melbourne. Tsygankov VY, Boyarova M.D. (2015) Sample Preparation Method for the Determination of Organochlorine Pesticides in Aquatic Organisms by Gas Chromatography. *Achievements in the Life Sciences* 9:65–68. doi: 10.1016/j.als.2015.05.010
- Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Kiku P.F., Yarygina M.V. (2015a) Hexachlorocyclohexane (HCH) in human blood in the south of the Russian Far East. *Environmental Science and Pollution Research* 22:14379–14382. doi: 10.1007/s11356-015-4951-3
- Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Lukyanova O.N. (2015b) Bioaccumulation of persistent organochlorine pesticides (OCPs) by gray whale and Pacific walrus from the western part of the Bering Sea. *Marine Pollution Bulletin* 99:235–239. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.020
- Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Lukyanova O.N. (2016) Bioaccumulation of organochlorine pesticides (OCPs) in the northern fulmar (*Fulmarus glacialis*) from the Sea of Okhotsk. *Marine Pollution Bulletin* 110:82–85. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.084
- Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Lukyanova O.N. (2014) Persistent toxic substances in the muscles and liver of the Pacific walrus *Odobenus rosmarus divergens* Illiger, 1815 from the Bering Sea. *Russian*

- Journal of Marine Biology 40:147–151. doi: 10.1134/S1063074014020102
- UNEP (United Nations Environmental Program) (2005) Ridding the World of POPs: A Guide to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Geneva, Switzerland
- Wania F, Mackay D. (1993) Modelling the global distribution of toxaphene: A discussion of feasibility and desirability. Chemosphere 27:2079–2094. doi: 10.1016/0045-6535(93)90403-R
- Wu WZ, Xu Y, Schramm K-W, Kettrup A. (1997) Study of sorption, biodegradation and isomerization of HCH in stimulated sediment/water system. Chemosphere 35:1887–1894. doi: 10.1016/S0045-6535(97)00266-X

### **Acknowledgement**

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 14-50-00034).

## **БИОТЕСТИРОВАНИЕ НА РАКООБРАЗНЫХ КАЧЕСТВА ВОД АМУРСКОГО ЗАЛИВА ЯПОНСКОГО МОРЯ**

**Черкашин С.А.**

ТИНРО-Центр и Морской государственный университет им. адм. Г.И. Невельского, Владивосток, Россия; sergey.cherkashin@tinro-center.ru

### **Аннотация**

В экспериментах выявлено, что мизиды являются более показательными тест-организмами, по сравнению с личинками краба. Биотестирование 2003-2016 г.г. показало токсичность для двух видов мизид отдельных проб воды из внутренней наиболее загрязненной акватории Амурского залива, прилегающей к центральной части г. Владивостока. Однако, лишь в августе, сентябре 2003 и июле 2007 г.г., выживаемость мизид в водах из этого района в среднем была достоверно ниже, чем из внешней части залива. В последующие годы экотоксикологическое состояние вод залива улучшилось, вероятно, из-за снижения загрязнения.

**Ключевые слова:** Амурский залив, биотестирование, токсичность вод, мизиды, личинки краба.

### **Введение**

Спад промышленного производства в Приморском крае в 1990-е гг. способствовал заметному снижению объемов сброса загрязненных вод и, как следствие, улучшению экотоксикологического состояния Амурского залива, имеющего большое значение для развития марикультуры, прибрежного промысла рыб, беспозвоночных животных и других водных ресурсов. Однако на восточном побережье залива расположен значительный город Владивосток (население примерно 580 тыс. человек); практически по всему побережью залива расположены места отдыха населения и гостей края. В вершину залива впадает крупная река Раздольная, в долине которой ведутся сельскохозяйственные и другие работы. Поэтому загрязнение Амурского залива продолжается.

Существенная роль в оперативной оценке качества природной среды принадлежит биотестированию – экспериментальной оценке состояния компонентов экосистем, основанной на регистрации тест-функции используемой биосистемы (тест-объекта). Эффективность биотестирования и обоснованность выводов определяется, прежде всего, правильным выбором тест-организмов. Наиболее верное решение состоит в использовании нескольких тест-объектов, отвечающих определенным требованиям, в том числе уязвимость или чувствительность, экологическая значимость, массовость, широкая распространенность, доступность и простота содержания и применения в опытах. Вследствие низких концентраций большинства поллютантов

в Амурском заливе для биодиагностики необходимы высокочувствительные тест-организмы.

По мнению многих исследователей мелкоразмерные ракообразные оказываются обычно наименее устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов по сравнению с другими группами водных организмов [1-7]. Использование местных видов является благоприятным обстоятельством, повышающим экологический реализм оценки [8].

Задача этой работы – провести анализ экотоксикологического состояния вод Амурского залива с использованием ракообразных, отвечающих приведенным выше требованиям.

### Материалы и методы

Биотестирование воды Амурского залива выполняли в июне-сентябре 2003-2016 гг. Для каждой серии опытов отбирали пробы из поверхностного слоя (0 – 0.5 м) обычно на шести станциях, расположенных у побережья внешних и внутренних участков залива. Внутренняя зона залива наиболее подвержена загрязнению, внешняя (условно-фоновая) расположена у о-вов на границе открытых вод зал. Петра Великого. Всего оценили качество вод двадцати станций.

Исходя из того, что токсические уровни загрязнения обычно встречаются в прибрежной зоне, особенно в поверхностном слое вод, где концентрации всех поллютантов повышены в десятки и сотни раз, в качестве тест-объектов использовали широко распространенных и многочисленных в этих биотопах мизид *Paracanthomysis shikhotaniensis* и *Neomysis mirabilis* и личинок краба *Dorippe granulata*. Тихоокеанский, приазиатский краб *D. granulata* распространен от Гонконга до зал. Петра Великого и от о. Кюсю до о. Хоккайдо. Обитает на глубинах от 1 до 15 м на илистом и илисто-песчаном грунте, реже на других грунтах [9]. Личинок краба длиной 2-3 мм отлавливали из поверхностного слоя воды в районе о. Рейнеке (условно-фоновый район) с помощью заякоренной поверхностной планктонной сети типа Маручи-Ами с диаметром входного отверстия 1,3 м. Собранный материал доставляли в лабораторию научно-экспериментальной базы ТИНРО-Центра на о. Рейнеке, где в течение 48 ч проводили акклимацию личинок. Температура в опытах составляла 18-19°C.

Бореальный вид мизид *Neomysis mirabilis* (Czerniavsky, 1882), распространен в северной части Тихого океана от Сангарского пролива до Анадырского залива, Командорских островов и Аляски [10]. Обитает на глубинах от 0,2 до 140 м. Один из наиболее многочисленных и широко распространенных нектобентосных видов в прибрежной зоне дальневосточных морей России. В северной половине Японского моря встречается при температурах от -1,6 до 24 °C и солености 15-34,3 ‰. Бореальный приазиатский вид мизид *Paracanthomysis shikhotaniensis* (Petrjashov, 1983) встречается от северо-восточной Японии и зал. Посьета до Берингова моря [10]. В Японском море отмечен в зал. Петра Великого и в Татарском проливе. Верхнесублиторальный вид, обитает на глубинах 0-21,5 м в водах с температурой от -1,5 до +22,6 °C и соленостью 30-34 ‰ над скалистыми, реже песчаными, илисто-песчанными и валунно-галечными грунтами [10]. Наибольшая численность в районах прибойных мысов и скал.

Мизид отлавливали в прибрежной акватории о. Рейнеке на глубине 0.1 – 1.5 м гидробиологическим сачком из мельничного сита и содержали в акклимационных аквариумах на научно-экспериментальной базе ТИНРО-Центра на о. Рейнеке в течение 48-96 ч. Биотестирование осуществляли на мизидах *Neomysis mirabilis* и *Paracanthomysis shikhotaniensis* длиной 15-20 и 9-14 мм соответственно. Эти виды

мизид играют существенную роль в прибрежных экосистемах и являются перспективными промысловыми объектами. Наиболее многочисленными рачки *N. mirabilis* составляли в июне 60-98% от общей численности мизид в мелководных районах Амурского залива. Дополнительные физиологические нагрузки, такие как нерест и линька в процессе биотестирования в июне приводили к тому, что этот тест-объект в данный период оказывался более чувствительным, чем мизиды *P. shikhotaniensis*, численность которых в июле – сентябре у о. Рейнеке достигала 47-60%, а уязвимость представителей этого вида рачков была выше, чем *N. mirabilis*.

При биотестировании в каждый стакан с пробой воды помещали по 4-6 экземпляров рачков (мизид на 0,5 л; личинок краба на 0,2 л тестируемого раствора). Все пробы тестировали в трех повторностях. Продолжительность экспериментов составляла 48-96 ч, в зависимости от времени выявления достоверных различий в смертности тест-объектов. В течение всего эксперимента рачков не кормили. Гибель тест-организмов фиксировали каждые 24 ч, погибших животных удаляли.

Опыты в июне, июле, августе и сентябре проводили при температуре проб 13.2–15.4; 14.0–21.8; 19.8–22.4 и 17.4–21.4°C соответственно, и солёности 29.6–33.2‰ в экспериментах различных лет. Температура тестируемых вод следовала природным суточным изменениям. Содержание кислорода составляло более 80% насыщения.

Для каждой пробы определяли среднюю долю (%) погибших рачков и стандартную ошибку. Достоверность различий влияния тестируемых растворов на выживаемость тест-организмов определяли при уровне значимости  $P = 0.05$ . Сопоставляя результаты опытов с водой из открытой части залива и из внутренней наиболее загрязненной акватории у центральной зоны г. Владивостока, выявляли отличия качества вод.

## Результаты

Результаты биотестирования качества вод, отобранных летом 2003 г. из внутреннего участка залива, показали, что смертность личинок краба *Dorippe granulata* возрастала по мере увеличения длительности экспозиции, и за 96 ч достигала в среднем 66,67%.

Гибель рачков в пробах из акватории о. Рейнеке при этом достоверно не отличалась и составила 60 %. Биотестирование экотоксикологического состояния Амурского залива в августе 2003 г. показало достоверно меньшую гибель молоди стенобионтного вида мизид *Paracanthomysis shikhotaniensis* в воде условно-фоновой акватории, чем в пробах из внутренней (более загрязненной) части залива уже после 48-часовой экспозиции - 17 и 60% соответственно (таблица). Следовательно, мизиды являются более показательным тест-объектом, по сравнению с личинками краба, несмотря на меньшие размеры последних.

В августе 2004 г. вода оказалась достоверно токсичной лишь на одной из станций внутреннего участка залива у центральной части г. Владивосток. В этой пробе к завершению 72-часового опыта смертность мизид превышала 93%. Биотестирование проб из прибрежных районов Амурского залива, проведённое в июне 2005 г. на эврибионтных мизидях *N. mirabilis*, выявило достоверную токсичность вод у нефтебазы, расположенной на побережье центральной части внутреннего участка залива. Однако, гибель мизид в водах всех станций внутренних акваторий залива, в среднем, не была достоверно выше, чем в приобластных водах. В экспериментах 2007 г. по оценке влияния загрязнения Амурского залива на выживаемость мизид достоверно повышенная токсичность вод внутреннего района выявлена лишь в июле (таблица).



Таблица – Гибель мизид (%) при биотестировании вод Амурского залива

Дата	Виды мизид	Внешний район	Внутренний более загрязненный район
2003, август*, сентябрь*	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	16,7±6,7 <sup>1</sup> 20,0±0,0 <sup>2</sup>	60,0±11,6 <sup>1</sup> 66,7±6,7 <sup>2</sup>
2004, август, сентябрь	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	53,3±11,6 <sup>2</sup> 13,3±6,7 <sup>2</sup>	63,2±16,7 (33,3-93,3) <sup>2</sup> 26,7±6,7 <sup>2</sup>
2005, июнь, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	46,7±11,6 <sup>2</sup> 20,0±0,0 <sup>2</sup>	66,7±10,2 (53,3-86,7) <sup>2</sup> 33,4±6,7 (26,7-40,0) <sup>2</sup>
2007, июнь, июль*, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	6,7±0,0 (6,7-6,7) <sup>2</sup> 36,7±3,4 (33,3-40,0) <sup>2</sup> 26,7±5,8 (26,7-26,7) <sup>3</sup>	13,3±4,7 (6,7-26,7) <sup>2</sup> 70,0±3,3 (66,7-73,3) <sup>2</sup> 56,7±5,8 (46,7-66,7) <sup>3</sup>
2008, июнь, сентябрь	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	3,4±3,4 (0,0-6,7) <sup>3</sup> 44,5±5,5 <sup>2</sup>	3,4±3,4 (0,0-6,7) <sup>3</sup> 63,4±6,3 (46,7-76,7) <sup>2</sup>
2009, июль	<i>Neomysis mirabilis</i>	31,1±5,9 (20,0-40,0) <sup>3</sup>	33,4±6,7 (26,7-40,0) <sup>3</sup>
2010, июль, сентябрь	<i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	53,3±6,7 <sup>2</sup> 20,0±6,7 <sup>2</sup>	83,3±3,4 (75,0-91,7) <sup>2</sup> 29,2±3,3 (25,0-33,3) <sup>2</sup>
2011, июнь, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	26,7±6,7 (20,0-33,3) <sup>3</sup> 26,7±6,7 (20,0-33,3) <sup>2</sup>	36,7±3,4 (33,3-40,0) <sup>3</sup> 50,0±16,7 (33,3-66,7) <sup>2</sup>
2012, июнь, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	13,3±3,4 (6,7-20,0) <sup>2</sup> 52,8±6,7 (40,0-66,7) <sup>2</sup>	16,7±3,4 (13,3-20,0) <sup>2</sup> 63,4±5,8 (60,0-66,7) <sup>2</sup>
2013, июнь, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	44,4±5,7 (33,3-61,1) <sup>1</sup> 61,1±11,2 (55,5-66,7) <sup>3</sup>	47,4±6,7 (33,3-61,1) <sup>1</sup> 63,9±3,1 (50,0-77,8) <sup>3</sup>
2014, июнь, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	33,3±5,7 (27,8 – 44,4) <sup>3</sup> 41,7±8,3 (33,3 – 58,3) <sup>2</sup>	24,1±1,8 (22,2 – 27,8) <sup>3</sup> 69,4±5,7 (58,3 – 75,0) <sup>2</sup>
2015, июнь, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	31,5±3,3 (27,8-38,9) <sup>3</sup> 38,9±3,4 (33,3-50,0) <sup>2</sup>	39,7±4,3 (38,9-40,0) <sup>3</sup> 69,4±6,7 (58,3-75,0) <sup>2</sup>
2016, июнь, июль, август	<i>Neomysis mirabilis</i> <i>Paracanthomysis shikhotaniensis</i>	1,9±1,80 (0,0-5,6) <sup>3</sup> 40,0±3,9 (33,3-46,7) <sup>2</sup> 64,0±3,0 (58,3-67,7) <sup>2</sup>	1,9±1,80 (0,0-5,6) <sup>3</sup> 71,1±9,7 (53,3-86,7) <sup>2</sup> 64,0±7,4 (50,0-75,0) <sup>2</sup>

Примечание – 1 – 48-часовая экспозиция; 2 – 72-часовая экспозиция; 3 – 96-часовая экспозиция.  
\* – Достоверное различие между гибелью мизид в условно-фоновых и загрязненных районах

Значительные, но кратковременные повышения загрязнения после залповых сбросов, случавшиеся за последнее десятилетие, незамедлительно сказывались на выживаемости мизид. Так, биотестирование, проведенное в сентябре 2008 г. после массовой гибели многих видов рыб и ракообразных во внутренней части залива, показало, что вода из этих акваторий увеличивала смертность мизид и в наших опытах.

Но качество вод более загрязненной зоны в целом достоверно не отличалось от условно-фоновой района (таблица) при уровне значимости  $P = 0,05$ . Достоверная токсичность вод выявлена лишь у нефтебазы и в бухте Новик о. Русский. В воде у о. Рейнеке гибель мизид увеличилась в два раза по сравнению с предыдущим годом, но оставалась меньше, чем в других районах.

В последние годы в заливе появились некоторые признаки улучшения экотоксикологической обстановки. В 2009 – 2016 г.г. загрязнение Амурского залива было менее опасно для мизид (таблица). Опыты в июне 2016 г. показали, что качество вод залива у о. Рейнеке и соседних островов достоверно не отличалось от состояния вод внутренних районов Амурского залива. В отличие от исследований 1990-х – 2007 г.г. вода не оказывала токсичного влияния на мизид до завершения 96-часовых опытов. Учитывая условия биотестирования и температурный режим, отсутствие достоверных различий смертности рачков в тестируемых пробах говорит о хорошем качестве вод в период исследований и отсутствии достоверных негативных последствий загрязнения для мизид. В июле смертность рачков в тестируемых пробах из островного района была в среднем на 29% выше, чем в воде из внутренних районов, однако достоверную токсичность выявили лишь для пробы, отобранной у м. Створного, в район которого, вероятно, произошел вынос нефтяных углеводородов после их разлива в б. Золотой Рог. В августе 2016 г. смертность мизид в тестируемых пробах из островного района в среднем не отличалась от показателей для внутренних акваторий. Анализируя результаты исследований, необходимо отметить, что в последние годы в заливе сохраняются признаки улучшения экотоксикологической обстановки по сравнению с ситуацией до 2008 г. Однако, основные гидрохимические показатели во внутренней и внешней зоне района исследования, характеризующие состояние прибрежных вод, продолжали заметно отличаться. Тем не менее, межгодовая изменчивость содержания растворенного в поверхностном слое вод кислорода в период биотестирования была незначительной как в загрязненном, так и в условно-фоновом районах залива. Температурный режим, насыщение кислородом и отмечаемое опреснение вод внутреннего района не оказывали существенного воздействия на качество вод. Поэтому ускоренная гибель тест-объектов в пробах воды из акваторий центральной части г. Владивостока, вероятно, связана с повышенными концентрациями поллютантов, поступающих с городскими стоками.

Подводя итог биотестированию вод залива, необходимо отметить отсутствие токсичности вод большинства исследованных акваторий для двух массовых видов мизид. Поскольку ранее нами доказана повышенная уязвимость мизид для загрязнения по сравнению с большинством других обитателей зал. Петра Великого, то в большинстве районов Амурского залива состояние вод вполне благоприятно и для других промысловых видов ракообразных. Наиболее стабильные экотоксикологические условия характерны для открытой островной зоны залива. Однако в ряде опытов установлено кратковременно снижение качества вод и в этих районах, например, в сентябре 2008 г. Следовательно, последствия загрязнения залива нуждаются в регулярной экотоксикологической оценке. В прибрежной зоне все параметры экосистем чрезвычайно изменчивы в пространстве и времени. Поэтому для принятия управленческих решений по рациональному природопользованию необходимо продолжить экотоксикологические исследования состояния локальных условий и ресурсов.

## Заключение

Приведенные результаты свидетельствуют о большей перспективности мизид для биотестирования качества вод Японского моря, по сравнению с личинками краба *Dorippe granulata*. В экспериментах 2003-2016 гг. показана токсичность для двух видов мизид отдельных проб воды из внутренней наиболее загрязненной акватории Амурского залива, прилегающей к центральной части г. Владивостока. Однако, лишь в августе, сентябре 2003 и июле 2007 г.г., выживаемость мизид в водах из этого района в среднем была достоверно ниже, чем из внешней части залива. В последующие годы экотоксикологическое состояние вод залива улучшилось, вероятно, из-за снижения загрязнения. Лучшие экологические условия сохраняются в открытой части залива.

## Цитируемая литература

1. Патин С.А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана. М.: Пищ. пром-сть, 1979. – 304 с.
2. Мур Дж., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах: Контроль и оценка влияния: Пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 288 с.
3. Cripe G.M. Comparative acute toxicities of several pesticides and metals to *Mysidopsis bahia* and postlarval *Penaeus duorarum* // Environ. Toxicol. and Chemistry. – 1994. – Vol. 13, no. 11. – P. 1867–1872.
4. Черкашин С.А. Биотестирование: терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсикологии // Изв. ТИНРО. – 2001. – Т. 128, ч. III. С. 1020-1035.
5. Черкашин С.А. Отдельные аспекты влияния углеводородов нефти на рыб и ракообразных // Вестник ДВО РАН. 2005. № 3. С. 83-91.
6. Verslycke T., Vangheluwe M., Heijerick D. et al. The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid *Neomysis integer* under changing salinity // Aquat. Toxicol. 2003. Vol. 64, no. 3. P. 307-315.
7. Черкашин С.А., Блинова Н.К. Экспериментальные исследования токсичности фенола для ракообразных (обзор) // Гидробиол. журн. 2013. Том 49, № 3. – С. 61-74.
8. Филенко О.Ф. Биотестирование: возможности и перспективы использования в контроле поверхностных вод // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л.: Гидрометеиздат, 1989. С. 185-193.
9. Животные и растения залива Петра Великого. Л.: Наука. 1976. 363 с.
10. Петряшев В.В. Отряд МИЗИДЫ – MYSIDACEA Воас, 1883 // Ракообразные (ветвистоусые, тонкопанцирные, мизиды, эвфаузиды) и морские пауки / Биота Российских вод Японского моря под ред. О.Г. Кусакина. Владивосток: Дальнаука. 2004. С. 55-96.

## BIOTESTING ON CRUSTACEANS OF WATER QUALITY OF THE AMUR BAY, THE SEA OF JAPAN

**Cherkashin S.A.**

Pacific Research Fisheries Centre, Vladivostok  
Maritime Maritime State University named after admiral G. I. Nevelskoy, Vladivostok

Mysids are more indicative of the test organisms, compared to larvae of the crab, *Dorippe granulata*, as it is revealed in experiments. Biotesting in 2003-2016 showed toxicity of internal, most polluted, waters of the Amur Bay adjacent to the central part of Vladivostok, to mysids. However, only in August and September, 2003, and July, 2007, their survival in the waters of this region in average was significantly lower than in the open waters. In subsequent years, ecotoxicological status of waters has improved, probably due to the reduction of pollution.

# МЕСТО И РОЛЬ БИОМАРКЕРОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Чуйко Г.М.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия; gchuiko@mail.ru

## Аннотация

Дается определение понятия биомаркер, рассматривается история его введения в практику и использования в водной экотоксикологии, приводится классификация биомаркеров, анализируется их место и роль в современной системе оценки функционального состояния гидробионтов и экологическом мониторинге водных экосистем, сравниваются преимущества и недостатки биомаркеров с другими существующими методами анализа окружающей водной среды: физико-химическими, биотестированием и биоиндикацией. Приводится перечень актуальных в настоящее время биомаркеров и описываются примеры их использования.

**Ключевые слова:** водные экосистемы, биомаркеры, экологический мониторинг, оценка функционального состояния, гидробионты

## Введение

Влияние человека на окружающую среду – неизбежный результат его жизнедеятельности, как одного из элементов биосферы. Научно-технический прогресс, продолжающийся рост численности населения на планете и его постоянно возрастающие потребности требуют освоения новых территорий, введение в эксплуатацию все новых и новых минерально-энергетических сырьевых и пищевых ресурсов, создания и активного использования новых химических соединений, материалов и технологий, наращивания промышленного и сельскохозяйственного производства. Все это ведёт за собой масштабное поступление в природную среду и вовлечение в глобальную циркуляцию веществ антропогенного происхождения, отсутствующих в естественных условиях или встречающихся в природе в биодоступно безопасных количествах. Конечным звеном их аккумуляции в окружающей среде служат водные объекты, что вызывает загрязнение и снижение качества поверхностных вод, ухудшение условий обитания гидробионтов, уменьшение адаптивных возможностей и выживаемости отдельных организмов, исчезновение популяций, деградацию сообществ и целых экосистем.

Для минимизации негативных последствий антропогенного воздействия на водные организмы и экосистемы и прогнозирования экологических рисков необходима система комплексной оценки экологического состояния водных объектов, включающих анализ абиотических факторов и эффекты их действия на биоту. До недавнего времени такая система включала три компонента: инструментально-аналитический □ качественная и количественная оценка факторов воздействия методами физико-химического анализа; биотестирование – оценка токсичности воды и донных отложений по ответным реакциям (выживаемость, размножение, рост, двигательная активность и т.п.) тест-организмов разных экологических уровней (микроорганизмы, простейшие, одноклеточные водоросли, беспозвоночные, икра, мальки и взрослые рыбы) из лабораторных культур; и биоиндикация – обнаружение и определение экологического значения антропогенных нагрузок на водный объект на основе определения качественных (видовой состав) и количественных (численность, биомасса, видовое разнообразие) характеристик различных биоценозов гидробионтов (Никаноров, Иваник, 2014).

В последнее время в системе экологической оценки в качестве еще одного компонента все большее практическое применение получают биомаркеры (Лукиянова,

2001; Немова, Высоцкая, 2004; Моисеенко, 2009). Главное преимущество биомаркеров перед физико-химическими методами анализа – способность выявить биологические последствия действия отдельного взятого фактора или их совокупности, а относительно других биологических методов (биотестирования и биоиндикации) – высокая чувствительность и оперативность ответа, т.е. возможность зарегистрировать происходящие в биологической системе изменения на ранних этапах действия факторов и при их низкой интенсивности. В отношении ксенобиотиков (соединений, имеющих чужеродное для организма происхождение) – это выявление их действия на организм при хронических экспозициях в сублетальных дозах, когда еще другими методами это воздействие зарегистрировать не представляется возможным.

Идея разработки и использования биомаркеров сформировалась в 50-е – 70-е гг. XX столетия по мере осознания того, что регистрация токсичности только по показателю смертности является недостаточной для правильной оценки влияния антропогенного загрязнения и других неблагоприятных факторов окружающей среды на водные организмы и экосистемы. Кроме того, стало очевидным, что определение качества водной среды только посредством физико-химического анализа содержания и состава загрязняющих веществ не может дать ответ на главный вопрос о её пригодности для нормального существования гидробионтов и безопасного использования человеком.

Для понимания механизмов действия и выявления влияния токсических веществ на гидробионтов начали использоваться различные физиологические, биохимические, гистологические и морфологические параметры организма. Сами показатели и методы для их определения первоначально были заимствованы, главным образом, из клинической медицины, экологической физиологии и биохимии и ихтиопатологии. В результате было установлено, что многие из этих параметров позволяют оценить состояние организма и обнаружить токсическое воздействие на самых ранних стадиях развития токсического стресса, когда другими методами определить это еще невозможно. Работы в этом направлении были начаты одновременно во многих развитых странах, включая и бывший СССР.

### **Материалы и методы**

У нас в стране необходимость развития этого направления водной экотоксикологии была сформулирована Н.С. Строгановым (МГУ) в конце 60-х гг. прошлого века. На первой Всесоюзной научной конференции по вопросам водной токсикологии им были обозначены следующие перспективные задачи: «1) изучение связи токсических веществ с их химической природой (строением) и определение мест (процессов) поражения в организме, с целью прогнозирования на основе этих закономерностей биологических эффектов токсикантов, попадающих в водоем; 2) выявление изменений (пределы колебаний) в организмах нормальных и патологических, установление критериев нормы и патологии; 3) разработка диагностики отравления по морфологическим (патологоанатомическим, гистологическим) и биохимическим, химическим показателям» (Строганов, 1968).

Формулирование и начало использования термина биомаркер и связанных с ним основных понятий в гидроэкологической токсикологии относится к середине 80-х. Одними из первых официально ввели его в практику Национальные научные советы Канады (NRCC, 1985) и США (NRC, 1987), выпустивших соответствующие нормативные документы (Committee on Biological Markers..., 1987). В России в водной экотоксикологии этот термин активно используется с 90-х гг. Первоначально среди отечественных исследователей вместо него применялись такие понятия, как «эколого-

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

Существуют разные определения термина биомаркер, но все они в той или иной степени отражают ответную реакцию организма на действие того или иного фактора. Общебиологическое понятие биомаркер обозначает измеряемый параметр или событие (процесс, явление), происходящее в биологической системе или биологическом образце на суборганизменном и организменном уровне биологической организации (молекула, клетка, ткань, физиологическая система, организм) (Чуйко, 2014).

Некоторые исследователи понимают термин биомаркер в более широком смысле и используют его для обозначения изменений на всех биологических уровнях организации: суборганизменном, организменном, популяционном, уровне сообществ и экосистемы. Но абсолютное большинство ученых-экотоксикологов придерживается первоначального, более узкого понимания термина биомаркер. Для показателей событий, явлений и процессов, происходящих под действием загрязняющих веществ в биологических системах более высокого уровня (популяция, сообщество, экосистема), чаще применяется термин биоиндикатор, а применение биоиндикаторов с этой целью называется биоиндикацией. Биомаркеры используются в условиях *in vivo*, *in vitro* и *in situ* как в лабораторных экспериментах, так и в полевых исследованиях. А их использование по аналогии с биоиндикацией называется биомаркированием.

В водной экотоксикологии биомаркеры – это морфофункциональные показатели экспозиции гидробионтов к стрессорам окружающей среды, выражаемые на организменном и суборганизменном уровнях биологической организации, таких как молекулярно-генетический, биохимический, физиологический и гистологический (Adams, 2002). Они применяются для оценки состояния здоровья или риска проявления патологии (структурно-функциональные нарушения, связанные с болезнью) у гидробионтов, либо для оценки воздействия на организм химических загрязняющих веществ или ксенобиотиков. Затем результаты, полученные на уровне организма, интерпретируются как отражение более общего состояния организма (выживаемость, рост, размножение) или состояния популяции, сообщества, экосистемы. Взаимосвязь эффектов на разных уровнях биологической организации, вызываемых действием загрязняющих веществ, представлена на схеме (рис. 1).

В настоящее время в качестве биомаркеров применяют следующие параметры организма гидробионтов: 1) изменения на уровне ДНК; 2) функциональные белки, включая ферменты; 3) метаболиты; 4) неспецифические иммунологические, гистопатологические и физиологические ответы. Их можно условно разделить на два типа: биомаркеры воздействия и биомаркеры эффекта. Однако четкого разграничения между ними не существует, т.к. одни и те же биомаркеры могут быть одновременно отнесены к разным типам.

Биомаркером воздействия может выступать экзогенное соединение (или его метаболит) внутри организма (биологической системы), продукт взаимодействия между соединением (или метаболитом) и эндогенным компонентом, либо другое событие, связанное с воздействием химического или физического экзогенного



Рис.1 Блок-схема эффектов, которые может вызывать на разных уровнях биологической организации воздействие загрязняющих веществ (по: Sheehan, 1984; Maltby, 1994)

фактора. Биомаркеры воздействия являются специфическими и позволяют выявить факт воздействия конкретного фактора на организм или его присутствия в окружающей среде. Примером биомаркера этого типа может быть содержание метаболитов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в желчи, полихлорированных бифенилов (ПХБ) и металлотионеинов в тканях, активность АХЭ в мозге или крови, индукция ферментов биотрансформации ксенобиотиков в печени рыб и др. Оценка биомаркеров воздействия должна проводиться с учетом временных особенностей экспозиции и применительно к различным составным частям (компартаментам) организма. Наибольшую прогностическую ценность имеют те биомаркеры воздействия, для которых установлена функциональная или потенциальная корреляция с нарушениями здоровья организма или гидробионтов.

Биомаркером эффекта может выступать эндогенный компонент или параметр функциональной способности, либо другой показатель состояния равновесия организма или системы органов, на которые оказано воздействие, признаваемый как морфофункциональное нарушение или заболевание.

Примером биомаркера этого типа могут служить показатели состояния окислительного стресса (СОС), белки теплового шока (БТШ) или по-другому стресс-белки,

активность АХЭ в мозге, содержание глюкозы в крови, индукция ферментов биотрансформации ксенобиотиков в печени и др. Биомаркеры эффекта, как правило, являются индикаторами отклонений от нормального состояния организма. Обычно они указывают на изменения функции клеток, тканей, отдельных органов и организма в целом. Эти биомаркеры могут быть специфическими и неспецифическими. Специфические биомаркеры указывают на биологический эффект конкретного типа воздействия. Примером такого биомаркера служит активность АХЭ в мозге рыб. В результате ее снижения под действием фосфорорганических соединений (ФОС) и карбаматов, нарушается проведение нервного импульса в холинергических синапсах, и развиваются симптомокомплексы отравления организма нейрорепаралитического типа. Неспецифические биомаркеры не указывают на конкретную причину эффекта, но отражают общий, комплексный характер комбинированного воздействия. К такому типу биомаркеров относятся набор показателей, указывающий на развитие в клетке СОС: продукты перекисного окисления липидов ПОЛ (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты) и содержание карбонильных групп в белках, изменение активности ферментов (каталаза (КАТ), супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза, глутатион-S-трансфераза (GST) и др.) и содержания низкомолекулярных компонентов (восстановленный и окисленный глутатион, каротиноиды, витамин С (аскорбат), витамин Е (токоферол) и другие антиоксиданты) системы антиоксидантной защиты (АОЗ) в различных тканях организма. Однако не каждый показатель, отражающий морфофункциональные изменения или отклонения от нормы в организме гидробионтов может претендовать на роль биомаркера. При выборе показателей, потенциальных кандидатов в биомаркеры, необходимо руководствоваться следующими важными критериями: химическая и биологическая специфичность, ясность интерпретации данных, латентный период, устойчивость и обратимость ответа, биологическая изменчивость (вариабельность), взаимосвязь с эффектами более высокого уровня биологической организации, применимость в лабораторных и/или полевых условиях, ограничения практического применения (простота, надежность, точность)

Главное ограничение для широкого практического использования биомаркеров в настоящее время – сложность интерпретации полученных результатов с точки зрения оценки биологических последствий выявленных изменений для индивидуума, популяции, сообщества, поскольку прямая связь между процессами на разных уровнях биологической организации не всегда очевидна.

На блок-схеме (рис. 2) показаны последовательность изменений в организме и их возможные последствия для него при антропогенном воздействии на окружающую среду.

Важным моментом для практического использования биомаркеров является четкое понимание для каждого из них и для каждого вида гидробионтов следующих диапазонов их изменчивости под действием внешних и внутренних факторов: 1) гомеостатический или норма реакции – характерный для каждого вида в относительно стабильных внешних условиях; 2) адаптивный – в пределах которого организм может приспособиться к изменяющейся внешней среде, включая и антропогенное воздействие, без патологических нарушений и способностью в полном объеме выполнять все основные биологические функции (выживаемость, рост, размножение); 3) токсический – характеризующийся патологическими морфофункциональными нарушениями, которые влекут за собой болезнь организма и ограниченную возможность поддерживать его нормальную жизнедеятельность, в экстремальных случаях заканчивающихся его гибелью. Сравнение диапазонов биохимических и морфофунк-





Рис.2 Блок-схема интегрированного биохимического, морфо-функционального и целостного ответа организма на действие токсиканта (модифицировано по: Hinton and Lauren, 1990)

кциональных ответов с ответами целого организма гидробионтов при действии разных по интенсивности факторов внешней среды представлены на рисунке 3.

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

Использование биомаркеров в гидрэкотоксикологии сильно ограничивается недостатком базовых данных по биохимии и физиологии гидробионтов в «нормальных» физиологических диапазонах (норма реакции), поэтому, развитие таких знаний для конкретного биомаркера является существенным для внедрения в практику. Особое значение имеют и экологические факторы, такие как физико-химический состав водной среды (минеральный состав, рН, содержание растворенного кислорода, содержание органических и биогенных элементов и т.д.), сезонная цикличность био-

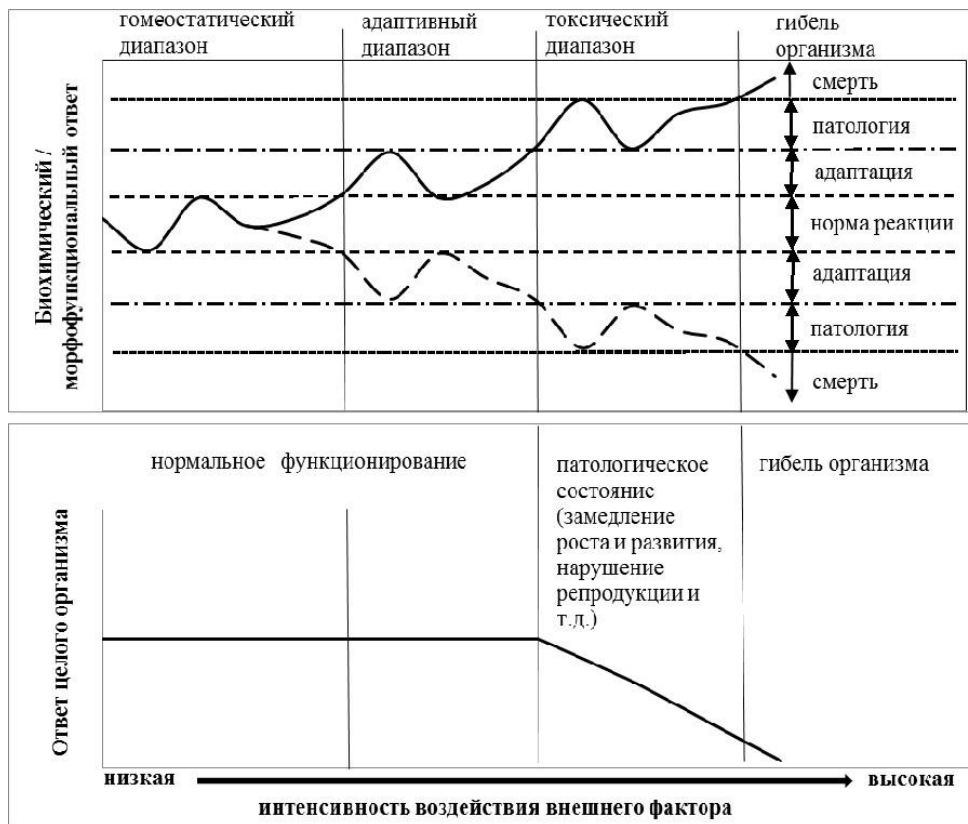


Рис.3 Сравнение диапазонов биохимических и морфофункциональных ответов с ответами целого организма гидробионтов при действии разных по интенсивности факторов внешней среды (модифицировано по: Versteeg et al., 1988)

логических и абиотических процессов и климатогеографические особенности мест обитания гидробионтов. В конечном итоге изменчивость измеряемого показателя (биомаркера) должна быть понятна и находится внутри допустимых пределов.

В отличие от млекопитающих и птиц, которые по отношению к основным экологическим факторам являются регуляторами в том смысле, что состояние внутренней среды их организма поддерживается на постоянном уровне независимо от изменения состояния внешней среды, гидробионты в своей массе относятся к конформерам, т.е. состояние их внутренней среды следует за изменениями внешней среды. Эти различия не позволяют механически использовать данные, полученные на млекопитающих и человеке, и требуют отдельного и тщательного изучения адаптивных реакций и токсических эффектов и установления их границ их диапазонов у гидробионтов. Решение проблемы четкого разделения адаптивных ответов и токсических эффектов у водных организмов позволит проводить правильный выбор биомаркеров для выполнения гидроэкотоксикологических исследований.

### Заключение

Таким образом, биомаркеры в настоящее время являются важным инструментом в гидроэкотоксикологии, который используется при изучении антропогенного влияния на водные организмы и экосистемы, помогает понять механизмы этого влияния

и оценить его последствия. Разработка новых биомаркеров и совершенствование уже имеющихся является одной из важных задач ученых-экологов. Подобно другим инструментам биомаркеры имеют свои преимущества и недостатки, которые должны быть учтены при их выборе, применении и интерпретации полученной с их помощью информации. Необходимы дополнительные развернутые исследования нормы реакции базовых уровней всех показателей, используемых в настоящее время и претендуемых на использование в качестве биомаркеров у широкого ряда видов гидробионтов.

### **Цитируемая литература**

- Лукьянова О.Н. Молекулярные биомаркеры. Владивосток: изд-во ДВГАЭУ, 2001. 196 с.
- Моисеев Т.И. Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты. М: Наука, 2009. 400 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М: Наука, 2004. 316 с.
- Никаноров А.М., Иваник В.М. Словарь-справочник по гидрохимии и качеству вод суши. Ростов-на-Дону: ООО «Центр Печатных Технологий АртАртель», 2014. 548 с.
- Строганов Н.С. Загрязнение вод и задачи водной токсикологии // Тезисы докладов на всесоюзной научной конференции по вопросам водной токсикологии, 30 января – 2 февраля 1968 г., МГУ, Москва. М: Наука, 1968. С.7-9.
- Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкотоксикологии: принципы, методы и методология, практика использования. Гл XV. // В кн. Экологический мониторинг. Часть VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: Учебное пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили, проф. Г.В. Шургановой. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского государственного университета, 2014а. С. 310-326.
- Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкотоксикологии: принципы, методы и методология, практика использования. В кн. Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: материалы V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова, с приглашением специалистов из стран ближнего зарубежья; Современные методы исследования состояния поверхностных вод в условиях антропогенной нагрузки: материалы школы-семинара для молодых ученых, аспирантов и студентов. (Борок, 28 октября – 1 ноября 2014 г.). В двух томах. Том 2. Ярославль: Филигрань, 2014б. С.186-201 с.
- Adams S.M. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Bethesda, Maryland: Am. Fish. Soc., 2002. 644 pp. Committee on Biological Markers of the National Research Council. Biological Markers in Environmental Health // Environmental Health Perspectives. 1987. Vol. 74, pp. 3-9.
- Sheehan P.J. Effects on individuals and populations. In P.J. Sheehan, D.R. Miller, G.C. Butler, Ph. Bourdeau (eds.) Effects of pollutants at the ecosystems level. Chichester (UK): John Wiley&Sons Ltd, 1984. P.23-99.
- Multyb L. Stress, shredders and streams: using Gammarus energetics to assess water quality. In D.W. Sutcliffe (ed.) Water quality and stress indicators in marine and freshwater systems: linking levels of organization.
- Hinton D.E., Lauren D.J. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes // In: Adams S.M. (Ed). Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Society Symposium 8. Bethesda, MD: AFS, 1990. P. 51-66.
- Versteeg D.J., Graney R.L., Giesy J.P. Field utilization of clinical measures for the assessment xenobiotic stress in aquatic organisms // In: W.J. Adams, Chapman G.A., W.G. Landis (eds). Aquatic toxicology and hazard assessment.
- ASTM STP 971. Philadelphia: American Society for Testing Materials, 1988. P.289-306.

## **PLACE AND ROLE OF BIOMARKERS IN ENVIRONMENTAL MONITORING OF AQUATIC ECOSYSTEMS**

**Chuiko G.M.**

The definition of a term biomarker is given. The history of its introduction into practice and use in the aquatic ecotoxicology is examined. Biomarker classification is presented. Their place and role in the modern system of evaluation of the functional state of aquatic and environmental monitoring

of aquatic ecosystems are analyzed. The advantages and disadvantages of biomarkers are compared with other existing methods of analysis of environmental aquatic environment: physicochemical analysis, biotesting and bioindication. A list of actual currently biomarkers is given and examples of their use are described.

## МОНИТОРИНГ КРЫМСКИХ СОЛЕННЫХ ОЗЕР

Шайда В.Г., Руднева И.И.

ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия; [svg@imbr-ras.ru](mailto:svg@imbr-ras.ru)

### Аннотация

Усиление антропогенного воздействия на экосистемы прибрежных водоемов Крыма, включая гипергалинные озера, в результате попадания в них сельскохозяйственных и бытовых стоков, загрязнения и изъятия минеральных компонентов для нужд химической промышленности, а также лечебной грязи для бальнеологических целей, привело к крайне негативным последствиям. Многие озера подвержены эвтрофированию, происходит сокращение численности артемии – основного и наиболее ценного вида, обитающего в соленых озерах. За годы эксплуатации в соленых водоемах Крыма добыто около одного миллиона тонн целебного ила, причем 40% этого количества вывезено, то есть безвозвратно потеряно. Большинство гипергалинных озер Крыма, ранее используемых в соляной и химической промышленности, а также для медицинских целей, практически находятся на грани экологической катастрофы. Одно из самых крупных озер Керченской группы – озеро Акташ площадью 2500 га, фактически прекратило свое существование как соленый водоем, так как в результате соединения его с Азовским морем соленость в озере снизилась до 13,61‰ и началось его интенсивное эвтрофирование. Такая же ситуация характерна для озера Богайлы и некоторых других соленых водоемов Крыма. Все эти факты свидетельствуют о необходимости тщательного анализа экологической ситуации гипергалинных водоемов с целью разработки охранных мероприятий и рационального использования их ресурсов. Систематическое изучение соленых озер в Крыму началось с 1926 года, когда в Саках была создана Контрольно-наблюдательная станция, преобразованная в 1971 году в Республиканскую гидрогеологическую станцию. Она осуществляла наблюдение за режимом соленых озер и минеральных вод на юге Крымского полуострова, где расположены грязевые курорты. При этом следует отметить, что биологическим ресурсам соленых озер, в частности, запасам артемии, уделялось значительно меньше внимания несмотря на то, что ракообразное имеет важное значение для развития аквакультуры, где используется в качестве эффективного стартового корма для выращиваемых в искусственных условиях личинок ценных видов рыб и креветок. Целью настоящей работы явилось исследование некоторых гидрохимических показателей, содержания тяжелых металлов Cu, Pb, Cd и Zn в воде трех озер Евпаторийской группы – Ойбургского, Конрадского и Сакского, а также оценка продукционных характеристик цист артемии, собранных в этих водоемах. Несмотря на небольшие расстояния, отделяющие озера друг от друга, они существенно различались как по физико-химическим характеристикам воды, так и по уровню загрязнения токсичными элементами. Так, соленость Ойбургского озера составила 134 г/л, Конрадского озера – 259 г/л и Сакского 225 г/л, pH 8,0, 7,6 и 8,2 соответственно. Содержание кислорода варьировало незначительно - от 7,0 до 7,9 мг/л.

Наиболее высокое содержание нитратов отмечено в воде Конрадского озера (240 мг/л), тогда как в других исследуемых водоемах их концентрация была одинакова (180 мг/л). Самый высокий уровень Cu обнаружен в воде Конрадского озера - 4,9 мг/л, в Ойбургском озере это показатель составил 1,2 мг/л, в Сакском – 0,3 мг/л. Концентрация Pb в Сакском озере существенно превышала (0,177 мг/л) соответствующие значения в двух других водоемах (0,04 мг/л). Cd был обнаружен только в Сакском озере. Процент вылупления цист артемии в Сакском озере (33.3%) превышал этот показатель в Конрадском (8,3%) и в Ойбургском (3,2%), что может быть обусловлено разными условиями обитания рачка в данных водоемах.

**Ключевые слова:** соленые озера, Крым, артемия, мониторинг, загрязнение

## MONITORING OF THE CRIMEAN SALT LAKES

Shaïda V.G., Rudneva I.I.

Chemical parameters (salinity, concentration of oxygen, nitrogen and pH) and concentration of heavy metals (Cu, Cd, Pb and Zn) were studied in three salt lakes: Saky lake, Konrad lake and Oiburg lake, located in the western part of Crimea. Salinity varied between 134 g/l and 259 g/l, pH ranged from 7.6 to 8.2. Nitrogen level varied between 240 mg/l and 180 mg/l. Concentration of Cu was estimated between 4.9 mg/l to 0.3 mg/l. Concentration of Pb varied between 0.177 mg/l and 0.04 mg/l. Cd was determined only in Saky lake. Hatching rate of *Artemia* cysts in Saky lake was higher (33.3%), than in Konrad lake (8.3%) and in Oiburg lake (3.2%), which was explained the different conditions in examined water bodies

## О ПОЛУЧЕНИИ БОЛЕЕ ВОСПРОИЗВОДИМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ НА СОЛОНОВОДНЫХ РАЧКАХ *ARTEMIA SALINA*

Шашкова Т.Л., Григорьев Ю.С.

Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия e-mail: tatyana\_eco@inbox.ru

### Аннотация

В биотестировании гипергалинных сред наиболее часто используют *Artemia salina*. И в настоящее время актуальность использования этого метода биотестирования возрастает [1]. Вместе с тем, при работе с этими организмами остается ряд вопросов, связанных с вариабельностью показателей выживаемости и чувствительности к модельному токсиканту, а также с трудоемкостью визуального подсчета выживших науплий. Недостаточная воспроизводимость результатов, полученных в разных лабораториях, может быть вызвана составом среды, в которой содержатся рачки и проводятся токсикологические эксперименты. В качестве культивационной воды предлагается применять незагрязненные морские воды или искусственные соленые среды. Последние готовятся разными способами. Согласно методике, разработанной в МГУ [2], культивационную воду получают внесением в водопроводную воду NaCl. С другой стороны, в соответствии с ГОСТ Р 53886-2010 [3] для содержания артемий рекомендовано использовать искусственную морскую воду, приготовленную из чистых химических реактивов. И, наконец, среду для рачков делают, растворяя в воде сухие концентраты морских солей. Использование различных по составу культивационных сред при определении токсичности загрязненных соленых вод может приводить к разным результатам. Причиной этому будет являться не одинаковая биодоступность в них потенциально токсичных соединений вследствие их взаимодействия с компонентами самой среды. Кроме того, при использовании водопроводной воды, состав и качество которой существенно варьирует, также можно получить неоднозначные результаты токсичности тестируемых проб, как было установлено нами в

предыдущих исследованиях на дафниях [4]. Проведенные эксперименты с науплиями артемий также показывают, что при использовании среды на водопроводных водах с добавлением NaCl не только варьирует чувствительность рачков к токсиканту, но и снижается их выживаемость в контрольном варианте опыта. Изучение выживаемости науплиев артемий и их чувствительности к модельному токсиканту (бихромату калия) в культивационной воде различного солевого состава и уровня солености показало, что наиболее оптимальной является среда, приготовленная на дистиллированной воде с добавлением комплекса химических реактивов. Другим значимым фактором для биотеста с науплиями артемий является соотношение объема тестируемых проб воды и количества рачков. С одной стороны, для получения статистически достоверных результатов предпочтительнее использовать большее количество особей, с другой – это может приводить к снижению чувствительности биотеста при работе с малым объемом пробы и осложнять процедуру подсчета выживших особей. С учетом этих особенностей в качестве наиболее приемлемого варианта была выбрана плотность посадки рачков в тестируемые пробы - 10 науплиев на 50 мл. Экспонирование рачков лучше производить в устройствах УЭР-03, в которых благодаря вращению кассеты с пробами обеспечиваются равные условия по аэрации, световому облучению и температуре. Для облегчения визуальной регистрации выживаемости артемий был разработан специальный прибор для подсчета рачков. Таким образом, проведенные исследования позволили определить условия, при которых можно получать более воспроизводимые результаты в токсикологических экспериментах на рачках артемий. На их основе планируется разработать и аттестовать новую методику биотестирования с более высокими эксплуатационными и метрологическими характеристиками.

**Ключевые слова:** *Artemia*, биотестирование

### Цитируемая литература

1. Приказ Минприроды России от 04.12.2014 N 536 "Об утверждении Критериев отнесения отходов к I - V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду"
2. Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *Artemia salina* L. ФП 1.1.39.2006.02505
3. ГОСТ Р 53886-2010 (ИСО 14669:1999) Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных.
4. Шашкова Т.Л. Выживаемость и трофическая активность *Daphnia magna* Straus в оперативном экологическом контроле водных сред. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук по спец. экология, Красноярск, 2011.

### ABOUT GETTING THE MORE REPRODUCIBLE RESULTS ON *ARTEMIA SALINA* BIOASSAY

**Shashkova T.L., Grigoriev Y.S.**

Studies, which have been conducted, have allowed to determine the conditions (the medium's salt composition, *Artemias* concentration, etc.), under which it is possible to obtain more stable results in toxicological experiments on *Artemia*. Based on the research is planned to develop and certify a new technique for biological testing with higher performance and metrological characteristics

## СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОЛЕЙ СВИНЦА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Панова М.И.<sup>1,2</sup>, Пукальчик М.А.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова; mary.akulova@gmail.com

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Россия

В условиях глобального загрязнения почвенного покрова проблема поиска чувствительных и информативных показателей состояния почвенной биоты выходит на лидирующие позиции. Одним из эффективных методов оценки состояния биоты *in situ* является определение ферментативной активности почв. На протяжении многих лет свинец является одним из самых «популярных» поллютантов как для полевых, так и для модельных опытов, однако, опубликованные данные об оценке влияния свинца на активность почвенных ферментов очень противоречивы и сильно разнятся для разных типов почв (Aoyama, Nagumo, 1996; Chaperon, Sauve, 2008; Yang et al. 2014; Колесников и др., 2015).

Цель данного исследования – сравнить эффекты нитрата и ацетата свинца на изменение биологических показателей дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте и ранжировать показатели по степени чувствительности. Выбор данных форм внесения свинца обоснован хорошей растворимостью нитрата и ацетата в водных и почвенных растворах, и с большим количеством опубликованных работ, затрагивающих вопросы подвижности свинца в почвах, и влияния его на ферментативную активность почвенной биоты, при внесении свинца именно в этих формах.

Для постановки модельного вегетационного эксперимента использовали верхний горизонт (5-20 см) дерново-подзолистой среднесуглинистой окультуренной почвы (УО ПЭЦ «Чашниково», Московская область). Исходные характеристики почвы: физическая глина – 35 %;  $pH_{KCl}$  –  $4,3 \pm 0,05$ ;  $pH_{H_2O}$  –  $7,58 \pm 0,05$ ;  $C_{орг}$  – 2,05 %; содержание подвижных форм калия ( $K_2O$ ) и фосфора ( $P_2O_5$ ) 102 мг/кг и 98 мг/кг соответственно; фоновое содержание свинца (валовая форма) – 5 мг/кг.

В вегетационные непроточные сосуды помещали по 0,2 кг воздушно-сухой почвы просеянной через сито 1 мм и увлажняли (до 60ПВ) растворами  $Pb(CH_3COO)_2$  или  $PbNO_3$  до достижения концентрации свинца (по  $Pb^{2+}$ ) – 0 (контроль), 10, 100, 300, 500 и 1000 мг/кг, что соответствовало 0, 0,3; 3,1; 9,4; 15,6 и 31,3 ПДК свинца согласно ГН 2.1.7.2041-06 (2006). Эксперимент инкубировали при температуре  $22 \pm 2^\circ C$  в течение 21 суток, влажность поддерживали на постоянном уровне. Повторность опыта – трёхкратная. На 3-, 7- и 21-е сутки от начала эксперимента проводили отбор серии образцов для определения активности почвенных ферментов. Отобранные пробы хранили в герметичных п/э пакетах в холодильнике при  $4^\circ C$ , длительность хранения не превышала 10-ти дней с момента отбора образцов на испытания.

Определение активности ферментов проводили общепринятыми методами: 1) де-гидрогеназы – по реакции с ТТХ (Lenhard 1962) 2) кислотную фосфатазу – по реакции с пара-нитрофенил фосфатом Na (Tabatabai, Bremner, 1969) 3) общую активность гидролаз – по реакции гидролиза ФДА (Якушев, Бызов, 2009) 4) уреазы – с реактивом Несслера и сегнетовой солью (Kong et al, 2009) 5) пероксидазы – с гидрохиноном (Карягина, Михайлова, 1986).

В ходе исследования установлено ингибирующее действие нитрата свинца на активность дегидрогеназы на 21 сутки (достоверная отрицательная корреляция:  $r = -0,846$  при  $p < 0,05$ ). Максимальная доза внесения (1000 мг/кг) оказывала ингибиру-

ние функции на 26,1%. На активность пероксидазы  $PbNO_3$  оказывал аналогичное воздействие. На общую активность гидролаз нитрат свинца не оказывал воздействия на 3-е и 7-е сутки экспозиции, однако, спустя 21 сутки от начала опыта обнаружено сильное ингибирующее действие 500 и 1000 мг/кг  $Pb^{2+}$  – более 75% от контроля. Достоверного влияния  $PbNO_3$  на активность уреазы не обнаружено. Однако, наблюдалась значительная вариабельность показателей активности уреазы внутри вариантов, как в контрольных пробах, так и при внесении нитрата, на 3- и 7-е сутки эксперимента, исчезающее к 21 суткам. Можно предположить сложные перестройки микробного комплекса вызывающие разнонаправленные изменения на начальных этапах сукцессии.

В случае применения ацетата свинца высокие дозы (500 и 1000 мг/кг) оказывали стимулирующее действие на активность дегидрогеназы на 66,7% и 55,1%, соответственно, относительно контроля (0 мг/кг) на 21 сутки. Аналогичные эффекты установлены для пероксидазы. Все исследованные дозы  $Pb(CH_3COO)_2$  не оказывали достоверного влияния на общую активность гидролаз на протяжении эксперимента. Активность кислотной фосфатазы и уреазы изменялась разнонаправлено, без корреляции между концентрацией внесенного  $Pb^{2+}$  и активностью ферментов. Средняя активность всех ферментов в контрольных образцах достоверно снизилась к окончанию эксперимента, что может быть объяснено постепенным истощением легкодоступных органических субстратов в условиях модельного опыта (Mogeno et al., 2003). Наглядное представление о различиях в действии нитрата и ацетата свинца на ферментативную активность почв дает сравнение средних коэффициентов отклонения показателей в пробах со свинцом, выраженное % от контроля (рис. 1).

Из представленных результатов следует, что внесение свинца в форме нитрата оказывает более выраженное ингибирующее действие, чем внесение свинца в форме ацетата. При внесении нитрата медианные значения коэффициента отклонения от контроля для ФДА, пероксидазы и дегидрогеназы определились в диапазоне ингибирования, в то время как для ацетата – в области стимулирования ферментативной активности. Активность фосфатазы и уреазы в опыте практически не зависела от формы и дозы внесения свинца, что может свидетельствовать о низкой чувствительности и малой информативности этого показателя в оценке загрязнения дерново-подзолистых почв свинцом. Полученные данные ярко демонстрируют значимость выбора формы внесения ТМ в модельных экспериментах на фиксируемые отклики.

Используя уравнение лог-логистической модели регрессии вида  $f(x) = 1 - \exp[-\exp(\beta X)]$  из пакета программ XLSTAT-Ecology (AddinSoft), были рассчитаны эффективные уровни воздействия нитрата свинца на дерново-подзолистые почвы для данных, в которых фиксировали достоверные отклонения от контроля как минимум для максимальных доз внесения свинца на 21-е сутки опыта. Таким образом, учитывали изменение активности дегидрогеназы, пероксидазы и ФДА, и не учитывали активность уреазы и кислотной фосфатазы. Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 1.

Примененный нами метод расчета зависимости «доза-эффект» и оценки концентраций свинца, приводящих к определению величины эффекта негативного действия на ряд почвенных ферментов показал, что лог-логистическая модель наилучшим образом описывала ответную реакцию гидролиза ФДА на внесение нитрата свинца.

В случае дегидрогеназы и пероксидазы расчетный коэффициент корреляции характеризовался значениями из диапазона «слабая связь», что и оказало влияние на высокие значения стандартной ошибки рассчитанных концентраций. На основании



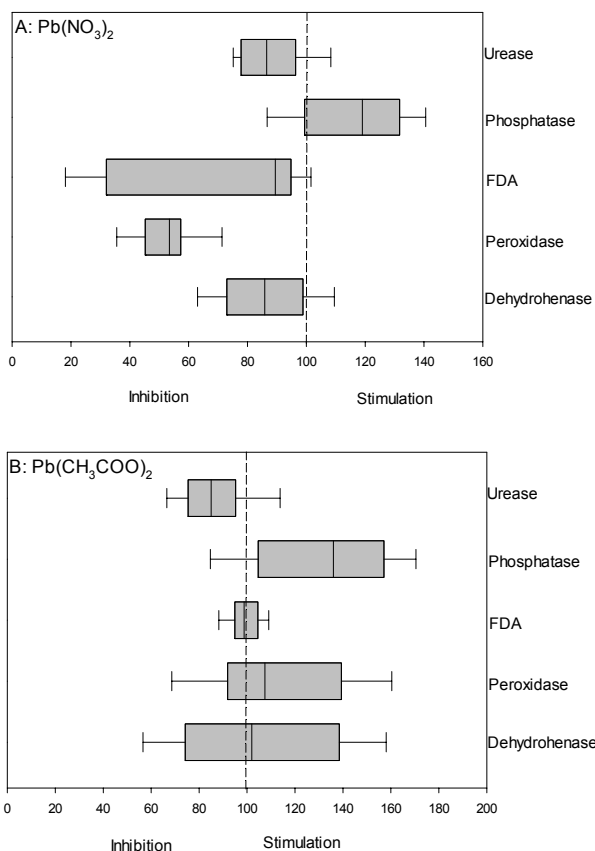


Рисунок 1. Диаграммы размаха коэффициентов отклонения ферментативной активности дерново-подзолистых почв под действием нитрата (А) и ацетата (В) свинца относительно контроля (100%-контроль) для всех доз внесения свинца на 21 сутки эксперимента. На графиках приведена медиана, квартиль и размах наблюдаемых значений.

Таблица 1. Эффективные уровни воздействия нитрата свинца на активность почвенных ферментов

Показатель	Эффективные действующие концентрации Pb, мг/кг			R (McFadden)*
	NOEC (EC <sub>10</sub> )	EC <sub>20</sub>	EC <sub>50</sub>	
Дегидрогеназа	49,5 (15,2–136,2)	450,4 (160,1–3122,7)	8985,4 (1646,2–516750,4)	0,131
Пероксидаза	0,04 (0,0–0,90)	0,60 (0,0–7,06)	377,65 (37,33–98785,5)	0,138
ФДА	128,4 (99,7–162,4)	191,3 (151,1–244,1)	488,2 (371,3–688,2)	0,391

\* Расчетный коэффициент «псевдо» корреляции МакФаддена показывает насколько хорошо логистическая модель (complementary log-log) описывает наблюдения. Значения в диапазоне 0,2–0,4 можно трактовать, как «очень тесная» связь (Hensher & Stopher 1979).

полученных данных почвенные ферменты можно ранжировать в ряд по уменьшению степени чувствительности к загрязнению нитратом свинца:

ФДА > пероксидаза > дегидрогеназа > уреазы ~ кислотная фосфатаза.

### Цитированная литература:

1. Aoyama M., Nagumo T. Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation // *Soil Sci. Plant Nutr.* 1996. Vol. 42. PP 821–831.
2. Chaperon S., Sauvé S. Toxicity interactions of cadmium, copper, and lead on soil urease and dehydrogenase activity in relation to chemical speciation // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2008. Vol. 70. I. 1. PP. 1-9.
3. Hensher D., Stopher P. (Eds.) *Bahvioural Travel Modelling.* 1979.
4. Moreno J.L., García C., Hernández T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge // *Eur. J. Soil Sci.* 2003. Vol. 54. PP. 377–386.
5. Yang J-X., He J-L., Jang H.-E., Li T-Q. Effect of Lead on Soil Enzyme Activities in Two Red Soils // *Pedosphere.* 2014. Vol. 24. I. 6. PP. 817-826.
6. Колесников С.И., Верниголова Н.А., Кузина А.А., Лаптинова А.С., Казеев К.Ш. Биодиагностика устойчивости коричневой карботантой почвы заповедника «Утриш» к химическому загрязнению почв // *Научный журнал КубГАУ.* 2015. №112(08). С. 1-11.

### Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы Живая природа и Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках научно-го проекта № 16-34-60011 мол\_а\_дк.

## CURRENT APPROACHES IN NANO(ECO)TOXICOLOGY

**Kahru Anne, Blinova Irina**

National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia

Nanomaterials are novel entities of particulate nature with at least one dimension less than 100 nm. The small dimensions of nanomaterials translate into novel physico-chemical properties compared with bulk materials of the same type. Due to these novel properties materials with self-cleaning, water repelling, optical and other interesting properties may be obtained. The same novel properties, however, may induce harmful effects to humans as well as to the environment, if the exposure concentrations will reach critical levels. Therefore, it is essential to find new strategies to assess the hazards and risks of novel nanomaterials to make the process quicker, less laborious and less expensive, to support the sustainable development of nanotechnologies.

**Keywords:** ecotoxicology, aquatic organisms, test suites, metal-based nanoparticles, bioavailability, solubilisation

### Introduction

The continuous increase of novel nanomaterials (NMs) at the market is a remarkable challenge for their safety evaluation. This process is costly and time consuming as the safety has to be evaluated during the entire life cycle of nano-enabled products. To guarantee the sustainable development of nanotechnologies novel approaches such as intelligent test strategies, read-across and modelling are needed to address this complex task. Moreover, to apply the safe-by-design approach, i.e. to modify the materials according to the safety needs without reducing the novel useful properties of the designed materials, the deep understanding of relationship between physico-chemical properties and toxicity mechanisms of these materials is needed.

### Materials and methods

Metal-based NMs are the most abundant synthetic NMs currently used [1] and our Lab has studied the toxic effects of these materials since 2004. For safety evaluation of NMs we use a test battery composed of aquatic species (bacteria, microalgae, protozoa, crustaceans, duckweeds), yeast cells and mammalian cell cultures in vitro. In parallel to bioas-

says, environmental chemistry analysis as well physico-chemical characterisation of NMs has been used.

### Results

We have shown that (i) in case of solubilisation-prone NMs such as ZnO, CuO and Ag, their toxicity was due to release of metal ions [2] and thus intrinsically dependent on environmental parameters and metal speciation. The most sensitive aquatic species to these NMs were algae and daphnids [3], for algae the toxicity correlated with potential of metallic NMs to generate reactive oxygen species (ROS) [4]. Throughout, the toxicity of nanosize materials was higher than one of their microsize analogues [2]. We also showed that the results from laboratory standardized tests do not necessarily predict the real risk for the environment as laboratory test condition are not environmentally relevant and unrealistically high concentrations of NMs are used in these test formats [5]. Conclusion It is essential to find new strategies to assess the hazards and risks of novel NMs to make the process quicker, less laborious and less expensive, to support the sustainable development of nanotechnologies.

### References

1. Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. Beilstein J Nanotechnol, 2015, 6, 1788-1804.
2. Kahru A., Ivask A. Accounts of Chemical Research, 2013, 46, 823-833.
3. Bondarenko O., Juganson K., Ivask A., Kasemets K., Mortimer M., Kahru A. Archives of Toxicology, 2013, 87, 1181 – 1200.
4. Aruoja V., Pokhrel S., Sihtmäe M., Mortimer M., Mädler L., Kahru A. Environmental Science: Nano, 2015, 2, 630-644.
5. Blinova I., Ivask A., Heinlaan M., Mortimer M., Kahru A. Environmental Pollution, 2010, 158, 41-47.

### Acknowledgement

Estonian IUT 23-5 and the contribution of the co-authors listed in the References is acknowledged.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МОРСКИХ ВОД ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Христофорова Н.К.<sup>1,2</sup>, Кобзарь А.Д.<sup>1</sup>, Цыганков В.Ю.<sup>1</sup>, Лукьянова О.Н.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690950

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток 690041

<sup>3</sup>Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-центр), Владивосток 690091

В 1970-80-е г.г. индустриализация во всем мире достигла такого уровня, что её негативное воздействие стало явно ощущаться не только в прибрежных, но даже в открытых морских водах. Оно проявлялось как на организменном, так и биоценотическом уровнях (морфологические отклонения, уродства, смертность, исчезновение видов и др.) и свидетельствовало о неблагоприятии среды обитания. Однако физические и химические методы того времени были недостаточно чувствительны, чтобы выявить изменения в уровнях концентраций предполагаемых поллютантов. И пока аналитическая аппаратура совершенствовалась, к жизни были вызваны биологические методы контроля качества среды. И даже когда появилась высокоточная аналитическая техника, биологические методы не ушли со сцены и вряд ли уйдут, потому что они в отличие от химических методов не отвечают на вопрос, сколько и какого вещества в воде (хотя это также важно!), а каково организму находиться в этом «химическом бульоне», хватит ли у него сил адаптироваться, противостоять и выжить в сложившихся условиях.

Первыми для оценки уровней загрязнения тяжелыми металлами и другими веществами (прежде всего, радионуклидами) стали использоваться аккумулярующие организмы-индикаторы. Как выяснилось со временем, наиболее адекватными отражателями геохимических условий среды оказались бурые водоросли-макрофиты (Bryan, Hummerstone, 1973; Fuge, James, 1973; Andrade et al., 2010; Chakraborty et al., 2014). В зависимости от региона, характера берегов, температуры воды, широты распространения в качестве индикаторов использовались ламинариевые, фукусовые, саргассовые водоросли. В холодных водах Атлантики и Пацифики наиболее широкое применение получили обитатели литорали фукусовые (Haug et al., 1974; Morrison et al., 2008) в тепловодных морях – саргассы (Khristophorova, Przhemenetskaya, 1999; Khristophorova, Kozhenkova, 2002). И хотя со временем появилось много новых методов контроля качества среды, позволяющих использовать организмы как датчики условий существования, бурые водоросли не сходят со сцены. Они легко добываются (часто без какого-либо снаряжения), легко хранятся (не требуют особых и специальных условий), что позволяет вернуться к анализу какого-то элемента, ранее не определявшегося.

В настоящей работе мы рассматриваем использование широко распространенной бурой водоросли *Sargassum miyabei* для определения уровня загрязнения морских прибрежных вод тяжелыми металлами. Это – один из видов саргассумов, произрастающих в зал. Петра Великого, давно признанный "истинным отражателем" условий обитания и использующийся в биомониторинге загрязнения среды тепловодных акваторий тяжелыми металлами (Христофорова, 1989; Христофорова и др., 2005; 2015).

Водоросли были собраны в Амурском зал. на 13 станциях, 11 из которых находились на восточном берегу залива (вдоль береговой черты г. Владивостока), 2 – на его западном берегу. При обработке водорослей, подготовке проб к анализу и атомно-абсорбционном анализе на спектрофотометрах Shimadzu AA-6800 и Nippon Jarrell Ash AA-85 использовали известные подходы и приемы (Христофорова, 1989). Расчет среднего значения и стандартного отклонения осуществляли в программе Excel. Достоверность сравниваемых различий определяли с помощью U-теста по методу Манна-Уитни в программе SPSS Statistics (табл. 1).

Как видно, на большинстве станций концентрация железа, типичного терригенного элемента, поступающего в морскую среду преимущественно за счет поверхностного смыва, речного стока, мобилизации в раствор из донных осадков на мелководье, взмучивания и биотурбации донных отложений, в *S. miyabei* составляла 500–700 мкг/г. Наименьшим содержание Fe было в саргассуме на станциях 1 и 2, у скалистых мысов южной оконечности п-оа Шкота, где практически нет источников его выноса (166 и 197 мкг/г соответственно).

Самое высокое содержание цинка, трассера антропогенного воздействия, обнаружено в макрофитах, собранных у м. Токаревского (55,7 мкг/г), входного мыса б. Золотой Рог, в которую поступает более половины сточных вод, сбрасываемых в зал. Петра Великого, минимальное – в водорослях со станций 6 и 7, удаленных от поступления стоков (12,8 и 4,7 мкг/г соответственно). Сброс бытовых и промышленных сточных вод в бухту привел к созданию здесь очага сильного хронического загрязнения. Кроме этого, ст. 1 находится на пути течения, выносящего в Амурский залив загрязненные воды из пролива Босфор-Восточный.

Минорными элементами по содержанию в саргассуме являлись медь и кадмий. Концентрация Cu изменялась от 2,5 до 22,4 мкг/г, причем самой низкой она была в водорослях со станций 11, 2 и 7 (2,5; 2,9 и 3,1 мкг/г соответственно), самой высокой

Таблица 1. Среднее содержание тяжелых металлов (мкг/г сух. массы) в талломах *Sargassum miyabei*, собранных в Амурском заливе ( $m \pm \sigma$ ) (из: Kobzar, Khristoforova, 2015)

№ станции	Fe	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
1	197±28	55,7±3,4	9,3±1,9	3,33±0,18	8,97±0,28	0,81±0,13
2	166±23	22,8±1,8	2,9±0,3	4,87±0,19	7,86±1,13	0,55±0,13
3	539±47	28,5±0,1	6,6±0,4	6,25±0,47	15,94±1,98	0,93±0,18
4	709±111	33,5±3,1	7,9±0,7	3,13±0,29	9,66±2,15	8,04±2,78
5	540±69	24,3±4,8	4,4±0,8	4,40±0,28	11,34±2,22	1,11±0,66
6	615±15	12,8±1,3	5,3±0,1	3,19±0,28	9,86±1,11	0,30±0,08
7	381±41	4,7±1,0	3,1±0,1	4,51±0,26	8,78±0,59	0,22±0,08
8	657±91	26,9±2,5	22,4±8,4	4,02±0,32	14,13±1,96	1,41±0,21
9	693±99	22,6±2,6	5,1±0,2	4,37±1,72	14,51±1,98	1,78±0,35
10	647±49	26,8±4,7	8,6±1,3	3,36±0,45	12,04±1,47	19,20±2,32
11	408±129	18,7±1,2	2,5±0,1	3,41±0,49	6,48±0,79	0,30±0,09
12	589±77	19,1±1,3	3,5±0,3	3,67±0,55	8,49±1,18	0,77±0,12
13	693±62	28,6±3,9	4,4±0,5	4,83±0,78	13,85±1,15	1,47±0,34

*Примечание:* станции отбора проб водорослей *Sargassum miyabei*: 1 – мыс Токаревского, 2 – мыс Россета, 3 – мыс Боброва. 4 – б. Первой Речки, 5 – мыс Грозный, 6 – мыс Красный, 7 – о-в Скребцова, 8 – предустье р. Седанка, 9 – мыс Дальний, 10 – мыс Марковского, 11 – п-ов Де-Фриза, 12 – п-ов Песчаный, 13 – б. Перевозная.

– в макрофитах из предустья р. Седанка (22,4 мкг/г). На шести из 13 станций концентрация кадмия в макрофитах не превышала 3,13–3,67 мкг/г, наибольшее его содержание (6,25 мкг/г) выявлено в водорослях, собранных на ст. 3.

Содержание свинца в водорослях оказалось минимальным по сравнению с другими элементами. На большинстве станций оно изменялось от 0,22 до 1,78 мкг/г, и только на двух станциях (4, 10) содержание Pb было значительно выше – 8,04 и 19,20 мкг/г соответственно.

Анализ распределения металлов в *S. miyabei* показал, что вдоль восточного берега Амурского залива (ст. 3, 4, 8, 9, 10) и на ст. 13 в б. Перевозная (на выходе из залива, на его западном берегу) концентрация практически всех элементов, кроме железа, была повышенной. В то же время в водорослях, собранных у о-ва Скребцова (ст. 7), выявлено самое низкое содержание свинца и цинка, пониженное – меди и никеля.

Обращает на себя внимание высоким уровнем концентраций всех металлов, за исключением свинца, самая удаленная от черты г. Владивостока станция 13, расположенная в б. Перевозная. Этот район в последние годы превратился в популярную зону отдыха. Рекреационный пресс обусловил рост концентраций цинка, меди (на уровне тенденции), кадмия ( $p = 0.013$ ) и довольно высокое содержание никеля. Никель сопровождает любые нефтепродукты, его можно обнаружить в среде и организмах в районах интенсивного судоходства и стоянки судов, а также в атмосфере при сжигании топлива на ТЭЦ и котельных (Грушко, 1987). Поступление кадмия в окружающую среду связано с промышленной и сельскохозяйственной деятельностью, со сжиганием дизельного топлива и мазута (Кадмий..., 1994), с эксплуатацией автотранспорта (истираемые шины колес, трущиеся части автомобилей, присадки к моторным маслам) (Клинская, Христофорова, 2011). Поверхностный смыв способствует поступлению Cd в прибрежную зону моря. По сравнению с фоновым диапазоном концентраций кадмия для саргассума северо-западной части Японского моря

– от 0,5 до 1,7 мкг/г (Чернова, 2012), определенные нами уровни этого элемента в 2,8–9,7 раза выше.

На микроэлементном составе водорослей, собранных на ст. 3, очевидно, отразилось сжигание топлива (мазута) на ТЭЦ-1, так как концентрации никеля и кадмия в них были самыми высокими.

Как было отмечено, почти на всех станциях в Амурском заливе в макрофитах наблюдалось низкое содержание свинца. По сравнению с серединой 1990-х годов оно снизилось более чем на порядок величин. Это отмеченное и в мировой научной литературе явление – результат прекращения использования в качестве антидетонатора тетраэтилсвинцовой добавки к бензину. В то же время высокое содержания свинца в водорослях, собранных на входе в зал. Угловой (ст. 10), обусловлено, очевидно, высокой сорбируемостью этого химического элемента на частицах как органической, так и неорганической взвеси (Шулькин, 2004). Мелководный зал. Угловой характеризуется мощным донным наилоком (грязями) и является местом, где тонкие частицы взвеси могут сорбировать и удерживать Pb. Опоры низководного моста, соединяющего п-ов Де-Фриза и пос. Седанка, снижают водообмен зал. Угловой с Амурским заливом и, очевидно, могут способствовать аккумуляции этого элемента в илах залива.

Наиболее удаленная от берега ст. 7 у о-ва Скребцова как биотоп контрастирует со всеми остальными станциями. В водорослях, собранных здесь, обнаружено наименьшее количество свинца и цинка, а также сравнительно невысокое содержание никеля, меди и кадмия.

Таким образом, анализ содержания тяжелых металлов в бурой водоросли *S. tiyabei* из Амурского залива (13 станций, 9 из них в черте г. Владивостока) показал, что содержание никеля и кадмия было самым высоким в макрофитах на ст. 3 (в районе ТЭЦ-1), свинца – на ст. 10 (на входе в зал. Угловой), цинка – на ст. 1 (на выходе из б. Золотой Рог), меди – на ст. 8 (в месте выноса в залив вод р. Седанка). Наименьшему антропогенному влиянию был подвержен биотоп ст. 7 (у о-ва Скребцова).

Высокой концентрации Pb в водорослях на ст. 10, по-видимому, способствует снижение гидродинамики в зал. Угловой в результате установки опор низководного моста. О заметном возрастании рекреационного пресса на ст. 13 в б. Перевозная свидетельствует высокий уровень содержания в саргассуме цинка, меди и кадмия.

В 1980-х годах появилась предложенная американскими учеными, а затем ставшая международной программа наблюдения за состоянием водной среды по содержанию тяжелых металлов в двустворчатых моллюсках (Mussel Watch), аккумулялирующими организмами-индикаторами в которой были мидии и устрицы. Широко практиковалось также использование в качестве индикаторов брюхоногих моллюсков-блюдецек (Phillips, 1977; 1979). Изучая импактные ситуации в прибрежной зоне моря, обусловленные антропогенным и техногенным влиянием, с использованием морских бентосных организмов – бурых водорослей, брюхоногих и двустворчатых моллюсков, мы неизбежно должны были прийти и пришли к природным морским биогеохимическим провинциям, создаваемым вулканизмом и апвеллингами в северо-западной Пацифике (Кавун, Христофорова, 1991; Малиновская, Христофорова, 1997; Kavun et al., 2002, и др.). Тихоокеанское огненное кольцо, начинающееся вулканами Камчатки и продолжающееся вулканами Курильских и Японских островов, а также более южных островных дуг западной Пацифики, – мощный источник геохимического воздействия на морскую среду. Поставщиком химических элементов в окружающую среду являются подводный и надводный вулканизм, а также Ку-

рило-Камчатский желоб, благодаря апвеллингу выносящий на поверхность биогенные (Пропп, Пропп, 1988; Сапожников, 1994) и другие элементы (Малиновская, Христофорова, 1997), формирующие импактные геохимические зоны в северо-западной части Тихого океана. В то же время данные о содержании тяжелых металлов в таких активно перемещающихся организмах, как рыбы, в частности тихоокеанские лососи, во время их нагула и миграции в прикурильских водах отсутствовали. Информации о микроэлементном составе азиатских лососей вообще крайне мало. В основном это работы сотрудников ТИНРО-центра (Ковековдова, 2011; Ковековдова и др., 2013), оценивавших содержание микроэлементов в промысловых рыбах дальневосточных морей с позиций ПДК.

Среди пелагических объектов, являющихся основой рыболовства в Японском, Охотском и Беринговом морях, большим спросом пользуются тихоокеанские лососи. Эти ценнейшие промысловые рыбы по объему вылова в текущем столетии стоят на втором-третьем месте после минтая и сельди. Из шести хорошо различающихся видов тихоокеанских лососей (кета, горбуша, чавыча, нерка, кижуч, сима) горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum, 1792 – самый многочисленный, наиболее мелкий и быстрорастущий вид. Она, как и другие виды рода, моноциклична, т.е. размножается один раз в жизни, а затем погибает. Уловы тихоокеанских лососей на 90% обеспечиваются тремя видами: горбушей, кетой и неркой. При этом в российских водах горбуша, как правило, имеет ведущее промысловое значение (Шунтов, Темных, 2011).

Горбуша, выловленная в начале июля в 2013 гг. в северо-западной части Тихого океана в районе Курильских островов во время экспедиции ТИНРО-центра, была проанализирована на содержание шести элементов - Zn, Cu, Cd, Pb, As, Hg, из которых медь и цинк являются эссенциальными (необходимыми) или истинными биоэлементами, кадмий, свинец, мышьяк, ртуть – неэссенциальными, но почти постоянно присутствующими в органах и тканях организмов. Кроме биологической значимости эти элементы различаются также геоэкологическими характеристиками. Цинк и медь, если они не поступают в окружающую среду от горнорудных, металлургических или машиностроительных производств, – это обычные компоненты хозяйственно-бытовых стоков, свидетельствующие об уровне антропогенного воздействия на среду. Свинец, кадмий и ртуть, открывавшие в 1960–70-е годы все "черные списки" тяжелых металлов из-за их токсичного действия на организмы, или являются трассерами техногенного воздействия на окружающую среду (Христофорова, 1989), или могут быть индикаторами природных биогеохимических провинций. В последнем мы неоднократно убеждались, изучая содержание тяжелых металлов (Fe, Mn, Zn, Cu, Cd, Pb, Ni, Cr) в мидиях, обитающих у Курильских островов и обрастающих навигационные буи вдоль побережья северо-западной Пацифики (Христофорова, Кавун, 1988; Кавун и др., 1989).

Все элементы в горбуше, кроме ртути, определены на атомно-абсорбционном спектрофотометре Shimadzu AA 6800. Данные о массовой концентрации ртути (мкг/г сырой массы) получены с помощью метода инверсионной вольтамперометрии на анализаторе "ТомьАналит" (ТА-4). Содержание элемента в минерализатах (растворах) проб определено методом добавок аттестованных смесей с установленным содержанием ртути (табл. 2).

Как можно видеть, горбуша, выловленная в прикурильских океанических водах, по содержанию в ней нормируемых токсичных элементов Cd, Pb, As и Hg отвечает российским санитарным нормам, предъявляемым к морепродуктам. Однако биогео-

Таблица 2. Концентрация элементов в мышцах горбуши из прикурильских океанических вод (в числителе – среднее значение, в знаменателе – стандартное отклонение) и диапазон их содержания в рыбе из Японского моря, выловленной в 1992, 2001, 2008 гг. (по: Ковековдова, 2011, из: Khristoforova et al., 2015)

Концентрация, мкг/г сырой массы					
Zn	Cu	Cd	Pb	As	Hg
$\frac{1.29}{0.079}$	$\frac{0.108}{0.012}$	$\frac{0.037}{0.005}$	$\frac{0.503}{0.059}$	$\frac{0.930}{0.093}$	$\frac{0.030}{0.009}$
0.57–3.25	0.032–0.087	0.005–0.012	0.012–0.013	0.300–1.370	0.007–0.015

*Примечание.* ПДК токсичных элементов (мкг/г сырой массы) в морепродуктах в России: Pb – 1.0, As – 5.0, Cd – 0.2, Hg – 0.2 (СанПиН ..., 2002); в Канаде: Hg – 0.5; в США: Cd – 3, Pb – 1.5, As – 86.

химическая провинция, какой является Курило-Камчатский регион с его надводным и подводным вулканизмом, а также выносом микроэлементов за счет апвеллинга из Курило-Камчатского желоба в поверхностные прикурильские воды, обуславливает избыток микроэлементов в среде и в постоянно живущих или нагуливающих здесь животных.

Известно, что азиатская горбуша имеет множество стад, которые нерестятся в реках бассейнов дальневосточных морей. Однако миграционные потоки горбуши на зимовку в дальневосточных морях существенно различаются. Если охотоморские стада, как правило, выходят в океан через Курильские проливы, зимуют в западной части Субарктического фронта и затем в весенне-летнее время возвращаются обратно, нагуливаясь в высококормном Курило-Камчатском районе (Шунтов и др., 1993), то япономорские стада проводят зиму в Японском море, не проходят через Курильские проливы и не нагуливаются в курило-камчатских водах (Бирман, 1986; Атлас ..., 2002; Шунтов, Темных, 2008, 2011). Таким образом, выходя на нагул и затем возвращаясь на нерест, через Курильский район проходят далеко не все азиатские стада горбуши, в частности, не заходит в него япономорская горбуша.

Высокое содержание кадмия, ртути и особенно свинца в горбуше из прикурильских вод по сравнению с таковым в япономорских рыбах свидетельствует о влиянии биогеохимической провинции, формируемой под влиянием природных факторов – современного вулканизма и апвеллингов, на охотоморские стада лососей. В то же время преобладание в горбуше из Японского моря цинка – показателя антропогенного воздействия на закрытое окраинное море – позволяет говорить о заметном влиянии человеческой деятельности на этот водоем. Обнаруженные нами различия в количестве элементов в охотоморской и япономорской горбуше представляют большой научный и практический интерес, подтверждая важность геохимических условий среды для формирования микроэлементного состава организмов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00034).

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Грушко Я.М. Вредные неорганические соединения в промышленных выбросах в атмосферу. Л.: Химия. 1987. 160 с.
- Кадмий: Экологические аспекты. Женева: ВОЗ. 1994. 160 с.
- Клинская Е.О., Христофорова Н.К. Биогеохимическая оценка состояния придорожных зон городов Дальнего Востока по содержанию тяжелых металлов в одуванчиках // Уч. зап. КнАГТУ. 2011. № 1. С.89–92.



- Христофорова Н.К.* Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. Л.: Наука. 1989. 192 с.
- Христофорова Н.К., Гамаюнова О.А., Афанасьев А.П.* Состояние бухт Козьмина и Врангеля (залив Петра Великого, Японское море): динамика загрязнения тяжелыми металлами // Изв. ТИНРО. 2015. Т. 180. С. 179–186.
- Христофорова Н.К., Чернова Е.Н.* Сравнение содержания тяжелых металлов в бурых водорослях и морских травах // Докл. РАН. 2005. Т. 400, № 4. С. 571–573.
- Чернова Е.Н.* Определение фоновых концентраций металлов в бурой водоросли *Sargassum pallidum* из северо-западной части Японского моря // Биол. моря. 2012. Т. 38, № 3. С. 249–256.
- Шулькин В.М.* Металлы в экосистемах морских мелководий. Владивосток: Дальнаука. 2004. 276 с.
- Атлас распространения в море различных стад тихоокеанских лососей в период весенне-летнего нагула и преднерестовых миграций. М.: ВНИРО. 2002. 190 с.
- Бирман И.Б.* Морской период жизни и вопросы динамики стад тихоокеанских лососей. М.: Агропромиздат. 1986. 208 с.
- Кавун В.Я., Христофорова Н.К.* Роль современного вулканизма и апвеллингов в формировании импактных зон тяжелых металлов в прибрежных водах Курильских островов // Мелководные газогидротермы и экосистема бухты Кратерной (вулкан Ушишир, Курильские острова). Кн. 1, ч. 2. Владивосток: ДВО РАН. 1991. С. 114–120.
- Кавун В.Я., Христофорова Н.К., Шулькин В.М.* Микроэлементный состав тканей мидии съедобной из прибрежных вод Камчатки и северных Курил // Экология. 1989. № 3. С. 53–59.
- Ковековдова Л.Т.* Микроэлементы в морских промысловых объектах Дальнего Востока России: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Владивосток: ТИНРО-центр. 2011. 40 с.
- Ковековдова Л.Т., Симоконов М.В., Кику Д.П.* Микроэлементный состав промысловых рыб дальневосточных морей // Проблемы региональной экологии. 2013. № 2. С. 72–75.
- Пропп М.В., Пропп Л.Н.* Гидрохимические показатели и содержание хлорофилла *a* в прибрежных водах Курильских островов // Биол. моря. 1988. № 4. С. 68–70.
- СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М.: Госкомсанэпиднадзор РФ. 2002. 156 с.
- Сапожников В.В.* Комплексные экологические исследования экосистем Берингова и Охотского морей // Океанология. 1994. Т.34, №2. С.309-312.
- Христофорова Н.К., Кавун В.Я.* Мониторинг состояния вод дальневосточных морей по мидиям-обрастателям навигационных буев // Докл. АН СССР. 1988. Т. 300, № 5. С. 1274–1276.
- Шунтов В.П., Радченко В.И., Чучукало В.И.* и др. Состав планктонных и нектонных сообществ верхней эпипелагиали западной части Берингова моря и тихоокеанских вод Камчатки в период анадромных миграций лососей // Биол. моря. 1993. № 4. С. 19–31.
- Шунтов В.П., Темных О.С.* Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах. Т. 1. Владивосток: ТИНРО-центр. 2008. 481 с.
- Шунтов В.П., Темных О.С.* Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах. Т. 2. Владивосток: ТИНРО-центр. 2011. 473 с.
- Andrade L.R., Leal R.N., Nosedá M., Duarte M.E.R., Pereira M.S., Mourao P.A.S., Farina M., Filho G.M.A.* Brown algae overproduce cell wall polysaccharides as a protection mechanism against the heavy metal toxicity // Marine Pollution Bulletin. 2010. No.60. P. 1482-1488.
- Bryan G. V., Hummerstone L. G.* Brown seaweed as indicator of heavy metals in estuaries in south-west England // J. Mar. Biol. Ass. U. K. 1973. Vol. 53. P. 705-720.
- Caliceti M., Argese E., Sfriso A., Pavoni B.* Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon // Chemosphere, 2002. Vol. 47. P.443–454.
- Chakraborty S., Bhattacharya T., Singh G., Maity J.P.* Benthic macroalgae as biological indicator of heavy metal pollution in the marine environments: A Biomonitoring approach for pollution assessment // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2014. No. 100. P. 61-68.
- Fuge R., James K.N.* Trace metal concentrations in brown seaweeds, Cardigan Bay, Wales // Mar. chem. 1973. №1. P.9-12.
- Haug A., Melsom S., Omang S.* Estimation of heavy metal pollution in two Norwegian fjord areas by analysis of the brown alga *Scopphyllum nodosum* // Environ. Pollut. 1974. Vol. 7. P. 179-192.
- Khristophorova N.K., Przhemenetskaya V. F.* Sargassaceae as promoting objects for sanitary mariculture // Proceeding of the international Symposium “Earth-Water-Humans”. 1999. P. 335-341.

- Khristophorova N.K., Kozhenkova S.I.* The use of the brown algae *Sargassum* spp. In heavy metal monitoring of the marine environment near Vladivostok, Russia // *Ocean Polar Res.* 2002. Vol.24, no 4. P.325-329.
- Khristophorova N.K., Tsygankov V.Yu., Boyarova M.D., Lukyanova O.N.* Heavy metal contents in the pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum, 1972 from Kuril ocean waters during anadromous migration // *Russian Journal of Marine Biology.* 2015. Vol 41, No.6, pp.479-484.
- Kobzar A.D., Khristophorova N.K.* Monitoring heavy-metal pollution of the coastal waters of Amursky Bay (Sea of Japan) using the brown alga *Sargassum miyabei* Yendo, 1907 // *Russian Journal of Marine Biology.* 2015. Vol 41, No.5, pp.384-388.
- Morrison L., Baumann H. A., Stengel D. B.* An assessment of metal contamination along the Irish coast using the seaweed *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyceae) // *Environ. Poll.* 2008. Vol. 152. P. 293-303.
- Phillips D. J. H.* The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments – a review // *Environ. Pollut.* 1977. Vol. 13. P. 317-381.
- Phillips D.J.H.* Trace metals in common mussel, *Mytilus edulis* (L.) and alga *Fucus vesiculosus* (L.) from the region of the Sound (Oresund) // *Environ. Pollut.* 1979. Vol. 18. P.31-43.

## **ВОЗМОЖНОСТИ И ЛИМИТАЦИИ МЕТОДА МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ЗАДАЧАХ ЭКОМОНИТОРИНГА**

**Горленко М.В.**

Московский государственный университет им. Ломоносова

Метод мультисубстратного тестирования (МСТ) является новым автоматизированным (система «Эко-Лог») методом микробиологического экомониторинга, позволяющим оценить качество природных сред на основе анализа спектров потребления питательных субстратов природным сообществом микроорганизмов (МВИ №13-06, ФР.1.37.2010.08619; ПНД Ф Т 16.1.17-10. М., 2010). Технология реализована на основе производимых нами 96ти луночных тест-планшетов «Эко-лог». В ячейки планшета помещаются набор из 48 тест-сред, каждая из которых содержит один тест-субстрат (разнообразные сахара, аминокислоты, соли органических кислот, полимеры и т.д.) и индикатор потребления субстрата. В зависимости от интенсивности потребления того или иного субстрата, содержащая его ячейка приобретает пропорциональную красную окраску. Фотометрическое оптическое измерение оптической плотности ячеек планшета позволяет получить многомерный массив данных – своеобразный метаболический отпечаток пальца сообщества. На основе новой модели ранговых распределений наш программно-аппаратный комплекс «Эко-Лог» (рис. 1) обрабатывает полученный массив данных, что позволяет произвести качественную оценку и сравнение природных объектов вне зависимости от их генезиса, оценить степень их стабильности в баллах, определить реальную красную черту для того или иного нарушающего воздействия для конкретного объекта, определить возможность самовосстановления системы и эффективность ремедиации.

Это стало возможным благодаря использованию вычисляемого программой уникального коэффициента благополучия системы  $D$ . Варьируя в изученных нами природных и модельных системах от 0,01 до 1,7, он позволяет оценить благополучие и стабильность микробных сообществ. На основании экспериментов можно ввести следующую шкалу: в благополучных избыточных системах, имеющих максимальный запас прочности,  $d$  принимает значения от 0,01 до 0,1; в устойчивых стабиль-

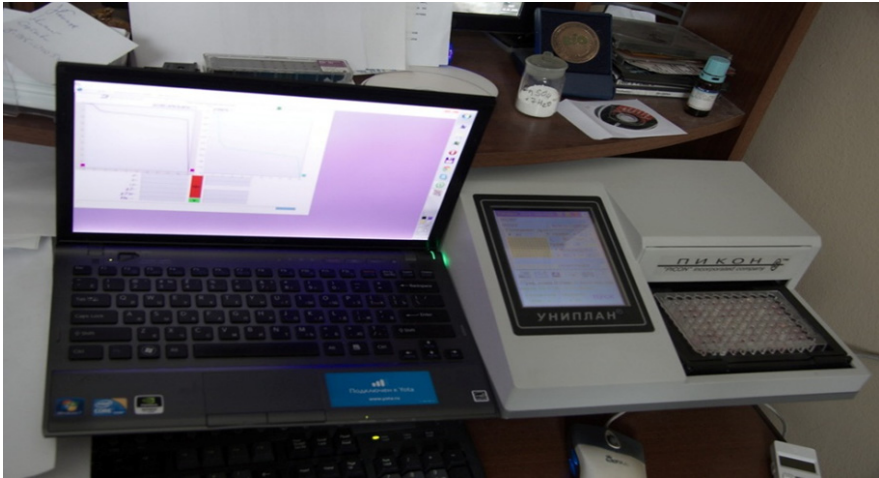


Рис. 1. Внешний вид системы «Эко-Лог»

ных системах - от 0,1 до 0,4; системам с истощенными ресурсами или находящимся под обратимым воздействием какого-либо нарушающего фактора характерны значения  $d$  от 0,4 до 0,8; кризисным дестабилизированным системам соответствуют значения 0,8-1,0; значения  $>1$  характерны для необратимо нарушенных систем, потерявших исходную функциональную целостность (рис. 2).

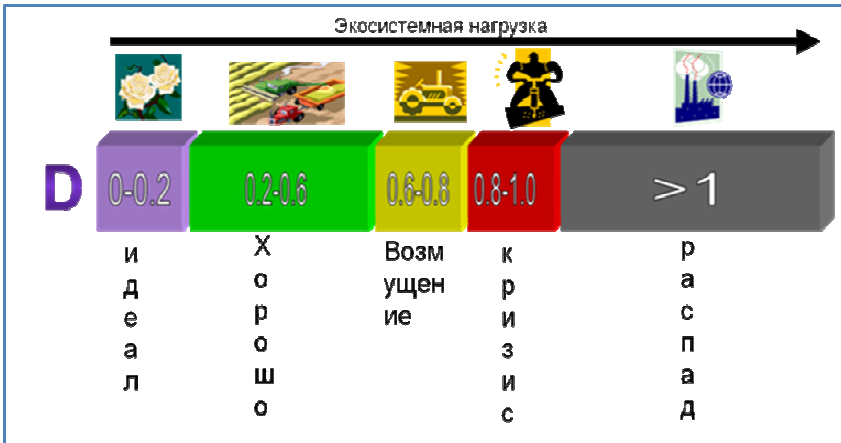


Рис. 2. Абсолютная шкала состояния экосистемы на основании параметра  $d$  благополучия, как критерий оценки качества местообитания

На протяжении 20 лет метод с успехом применяется для определения степени воздействия различных нарушений и оценки благополучия системы на таких объектах, как почвы, урбаноземы, илы, природные и сточные воды, биореакторы. Метод хорошо зарекомендовал себя в задачах бонитировки и экокартирования, оценке качества сельскохозяйственных земель, скрининга городских почв. Метод незаменим в задачах оптимизации агрометеорологических схем и оценке эффективности применения удобрений (Горленко М.В., Кожевин П.А., 2005; Горленко М.В, Кожевин П.А., Терехов А.С., 2008).

Основными лимитациями метода являются.

1. Неспособность напрямую оценить качество объектов, лишенных микрофлоры, или с концентрацией микроорганизмов ниже 105 кл/г. Решением являются предподготовка проб путем концентрации биомассы серией дифференциальных центрифугирований. Однако при этом возрастает объем необходимой пробы и трудоемкость анализа.

2. Как любой культивационный метод МСТ не может выявить все разнообразие микроорганизмов, обитающих в почве. Однако, выделяемая часть, в основном грамм-отрицательные микроорганизмы представляют значительную часть микробценоза. Являясь своеобразным суперорганизмом-биосенсором, анализируемая часть микробиоты все равно позволяет весьма адекватно отразить состояние исследуемой системы. В настоящий момент нами разрабатывается технология лазерного микро-сэмплинга, основанная на прямом переносе лазерным импульсом микропорций в ячейки, минуя водное суспендирование позволит значительно повысить долю некультивируемых организмов, повысив чувствительность метода.

3. Невозможность напрямую использовать метод в оценках экотоксичности. Однако это легко исправимо при наличии стандартного тест-объекта, например модельного стерильного почвогрунта, заселенного искусственным стандартизированным микробным сообществом. Разработка такого стандартного тест объекта открывает широкие перспективы технологии и на этом поприще.

## Литература

1. Горленко М.В., Кожевин П.А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ: учеб. пособие для студентов вузов, специализирующихся в области почв. биологии, микробиологии, почвоведения и экологии, обучающихся по спец. 013000 и направлению 510700 "Почвоведение". Москва; МАКС Пресс, 2005. - 88 с., ил.; 20
2. Горленко М.В., Кожевин П.А., Терехов А.С. Способ мультисубстратного тестирования микробных сообществ и его применение. Патент на изобретение №2335543 (Государственный реестр изобретений Российской Федерации 10.10.2008, бюллетень 28)

### **Capabilities and limitations of multisubstrate testing assay on ecological monitoring applications Gorlenko M.V.**

A new automated microbiological eco-monitoring system "Eco-Log" based on 'metabolically fingerprinting' technology has been developed. The software algorithms of multidimensional data, based on our new rank distribution allows to derive the unique system quality indices, allows to describe and compare the quality of different environs such a soils, water, slits sapropels etc. It helps to waste impact estimation, remediation and fertilizing control, ecological mapping and many other tasks. It helps to find the individual 'red line' for any impact to any system and estimate the capability of damaged system for self-recovering. The method has some limitation, due to microbiological origin, but it is correctable.

# ПОЛУЧЕНИЕ И БИОТЕСТИРОВАНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ КАРБОНИЗИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ ГЕТЕРОГЕННЫХ НАНОБИОКОМПЗИТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

А.А.Жубанова<sup>1</sup>, И.Э. Дигель<sup>2</sup>, Б.К.Заядан<sup>1</sup>, Н.Ш. Акимбеков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, Казахстан

<sup>2</sup>Аахенский Университет Прикладных Наук, Германия

На кафедре биотехнологии биологического факультета нашего университета в течение многих лет проводятся исследования биоразнообразия и свойств промышленно-ценных штаммов микроорганизмов с высоким биотехнологическим и генетическим потенциалом с целью получения новых биопрепаратов с высокой ремедирующей, металлсорбирующей, пробиотической, эфферентной и другими активностями для использования в медицине, ветеринарии, пищевой промышленности, экологической биотехнологии и др.

С бурным развитием в мире относительно нового направления в биотехнологии – инженерной энзимологии внимание исследователей привлекает использование нового класса сорбентов, имеющих наноструктурированную поверхность. Приставка нано- обозначает тот факт, что на поверхности этих материалов имеются наночастицы, у которых хотя бы 1 параметр не превышает размера в 1 миллиардную м. Установлено, что эти наночастицы характеризуются не только малыми размерами, но и особыми свойствами.

В исследования нашей кафедры, проводимых совместно с лабораторией гибридных технологий Института горения (директор – профессор З.А.Мансуров), изучается возможность создания новых высокоактивных нанобиокомплексов на основе нано-сорбентов, получаемых высокотемпературной карбонизацией вторичного растительного сырья (рисовой шелухи, скорлупы грецких и других видов орехов) и микробных клеток с целевой биохимической активностью.

Преимуществом этого сырья является то, что оно является вторичным продуктом переработки постоянно возобновляемого растительного сырья, географически распределенного на нашей планете достаточно равномерно по сравнению с залежами природных ископаемых, в частности, углей или нефти, что означает, что его стоимость достаточно низка.

Высокотемпературную карбонизацию подготовленных образцов рисовой шелухи проводили в изотермических условиях на специальной установке, модификацию полученного материала - во вращающемся реакторе, в инертной среде при различных температурах, при скорости подачи аргона 50 см<sup>3</sup>/мин, время контакта - 60 мин.

Для характеристики полученных образцов определяли их физико-химические свойства и проводили визуальную оценку поверхности исходных и карбонизованных сорбентов и изменений, происходящих, как в процессе их функционализации микробными клетками, так и в ходе экспериментальных исследований (сканирующий электронно-зондовый микроскоп JСХА– 7334).

Методами электронной микроскопии установлено, что на поверхности сорбентов, карбонизованных при различных температурах, наблюдается появление большого количества пор, углублений, желобков, определяющих увеличение количества активных сайтов связывания.

При температуре 600°C и времени карбонизации 30 мин. эти тонкие прозрачные пленки сворачиваются в углеродные одностеночные нанотрубки с толщиной ( $\mu$ ) 10 нм, диаметром ( $d$ ) 400-500 нм, длиной ( $l$ ) 1400 нм.

Впервые показано, что при температуре карбонизации 750°C волокнистый углеродный материал состоит из шаров, имеющих форму фуллеренов с очень развитой поверхностью, т.е. наблюдается образование фуллереноподобных соединений.

Известно, что по химическим критериям карбонизованный сорбент на основе рисовой шелухи (КРШ) - это материал нетоксичный, обладающий множеством полезных свойств. Но, поскольку нами КРШ изучается как материал для многоцелевого использования не только в биотехнологии, но и в медицине, ветеринарии и т. п., необходимо проведение экспертизы КРШ в отношении биологической токсичности, т.е. биотестирование. Эта процедура позволит определить интегральную токсичность, обусловленную совокупностью всех присутствующих в пробе опасных химических веществ и их метаболитов.

Нами проведена биологическая оценка токсичности КРШ с помощью микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*, а в качестве наиболее чувствительных процессов был выбран фотосинтез. Преимущества использования фотосинтеза в качестве тест-функции обусловлены высокой его чувствительностью к действию многих загрязнений и возможностью применения в биомониторинге методов измерения флуоресценции хлорофилла.

Важным преимуществом этого метода является его экспрессность и высокая чувствительность, что позволяет быстро диагностировать состояние клеток микроводорослей при действии токсикантов непосредственно в среде их обитания в режиме реального времени. Оперативность измерений показателей флуоресценции имеет особое значение для раннего обнаружения появления поллютантов в среде. Измерения флуоресцентных показателей микроводоросли проводили на импульсном флуорометре, любезно предоставленном нам проф. Д.Н. Маториным (кафедра биофизики биологического факультета МГУ) и предназначенном для измерения флуоресценции сильно разбавленных суспензий микроводорослей.

Проведенные исследования по изучению биобезопасности данного сорбента, выполненные с использованием биотестирования на основе *Chlamydomonas reinhardtii*, позволили заключить, что КРШ не обладает токсическими действиями.

Как известно, микроорганизмы обладают огромным биотехнологическим потенциалом и большой прикрепительной способностью, вследствие чего на их основе можно получать биопрепараты с различной функциональной активностью.

Конструирование биокомпозитов для их использования в экологической биотехнологии – для биоремедиации почв и водоемов, загрязненных нефтью и тяжелыми металлами.

Для Казахстана нефть и нефтеперерабатывающая промышленность имеют особенно важное стратегическое значение, так как вносят существенный вклад в развитие экономики республики. Вместе с тем, добыча нефти, ее транспортировка по железнодорожным и водным путям и последующая переработка сопровождаются значительными выбросами в окружающую среду высокотоксичных веществ. Так, в отношении водных организмов токсическое действие этих поллютантов наблюдается уже при концентрации нефти 0,01-0,3 мг/л, для почвенных – ПДК по нефти и нефтепродуктам – 0,1-0,3 мг/кг.

Существующие физико-химические методы очистки почв и водоемов от нефти и нефтепродуктов, характеризуются высокой стоимостью, сложностью исполнения, вторичным загрязнением токсичными продуктами и твердыми остатками.

Наиболее перспективными на сегодняшний день представляются методы биоремедиации (восстановления) загрязненных объектов внешней среды при помощи биопрепаратов на основе штаммов микроорганизмов, способных использовать органические загрязнители в качестве источника углерода в питании и сорбировать тяжелые металлы из различных сред.

Сложность биодеструкции нефтепродуктов микроорганизмами заключается в многокомпонентности и разнородности составляющих их веществ, поэтому создание биопрепаратов на основе консорциума микроорганизмов, способных окислять различные классы углеводородов, является предпочтительным и для очистки почв, и воды.

Работы последних десятилетий показали, что повышения эффективности работы биопрепаратов можно достигнуть использованием клеток микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на различных носителях минерального происхождения, обладающих высокой сорбционной активностью. Это связано с тем, что такое прикрепление создает следующие преимущества для микробных клеток: угли обладают способностью сорбировать нефтяные углеводороды, что облегчает доступ этих веществ к иммобилизованным клеткам, во-вторых, функционирование в сообществе, развивает «чувство кворума» у микробных клеток, сопровождающееся повышением эффективности деструкции углеводородов нефти, а, в-третьих, внесенный минеральный компонент может служить дополнительным источником питательных веществ для микроорганизмов.

Проведение такой операции обеспечивает высокую концентрацию микробных клеток в зоне их действия, предотвращает их вымывание, обеспечивает микробным клеткам защиту от действия высоких концентраций нефти и, вследствие того, что носитель сам сорбирует нефтяные углеводороды, повышается доступность их к ферментативным системам клеток микроорганизмов. Вследствие суммарного действия всех этих факторов, увеличивается удельная специфическая деструктивная активность биокомпозита.

Нами для создания биокомплекса в качестве сорбента использовалась рисовая шелуха, карбонизованная при 700 °С, а в качестве функциональных агентов использовались клетки 7-ми новых штаммов углеводородокисляющих бактерий, которые были выделены из образцов почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами месторождения Кумколь, в ходе экспедиции. Это – *Pseudomonas mendocina* H3, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* H7, *Pseudomonas stutzeri* H10, *Pseudomonas alcaligenes* H15, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* H16, *Pseudomonas mallei* 36K и *Micrococcus luteus* 37K и другие штаммы из кафедральной коллекции. Клетки этих микроорганизмов иммобилизовали на КРШ, полученной при температуре 700 °С.

Для оценки биокомплексов с высокой ремедирующей активностью проводили модельные эксперименты в лаборатории, в которых изучалась нефтеокисляющая активность различных концентраций свободных и иммобилизованных клеток нефтеокисляющих микроорганизмов.

Как свидетельствуют результаты изучения ИК-спектров культуральной среды, содержащей нефть в концентрации 2 г/л до и после роста на ней свободных и иммобилизованных клеток *P. mendocina* H3, *P. aeruginosa* 8, *P. stutzeri* H10, *P. mallei* 36K, *Micrococcus luteus* 37K в течение 2 суток, отмечается специфическая деструктивная активность углеводородокисляющих микроорганизмов.

Выявлено, что утилизация нефти иммобилизованными клетками микроорганизмов происходит интенсивнее и этот факт подтвердился визуальными наблюдениями, согласно которым нефтяная пленка в колбах в этих вариантах разрушалась полностью.

Полевые эксперименты с препаратами, полученными на основе свободных и иммобилизованных клеток микроорганизмов-нефтедеструкторов, проводились на территории нефтяной площадки ТОО «Химпромсервис» в 300-х км от г. Актобе и на одном из участков Алматинской железной дороги.

Результаты биоремедиации, полученные при использовании нанобиокомплекса, значительно выше. Это объясняется тем фактом, что их использование обеспечивает высокую концентрацию микробных клеток в зоне их действия, предотвращает их вымывание, обеспечивает микробным клеткам защиту от действия высоких концентраций нефти и, вследствие того, что носитель сам сорбирует нефтяные углеводороды, повышая этим доступность их к клеткам микроорганизмов. Немаловажную роль может иметь и возникающее в этих условиях у микроорганизмов, работающих вместе, «чувство кворума». Суммарность действия всех этих факторов, очевидно, способствует увеличению удельной деструктивной активности биокомплекса.

Не менее интересные возможности нанобиокомплексов связаны с возможностью их использования для повышения нефтеотдачи скважин. Основная задача при этом – разжижение нижних слоев, вполне достигаемое действием нефтеокисляющих ферментов, либо нативных, либо в составе нефтеокисляющих бактерий, а также веществ – эмульгаторов, либо синтетических, либо выделяемых некоторыми штаммами бактерий. В коллекции нашей кафедры такие культуры имеются. В настоящее время нами ведутся исследования по разработке способа повышения нефтеотдачи скважин при помощи микробного консорциума с высокой нефтеокисляющей и эмульгирующей активностями, иммобилизованного на сорбенте КРШ с наноструктурированной поверхностью. Они являются продолжением наших многолетних исследований по изучению биотехнологических возможностей карбонизованных сорбентов с наноструктурированной поверхностью.

Известно, что Казахстан по запасам углеводородов входит в десятку стран мира. Однако, эффективность извлечения нефти из нефтеносных пластов современными, промышленно освоенными методами разработки во всех нефтедобывающих странах на сегодняшний день невысока, вследствие чего средняя нефтеотдача пластов по различным странам и регионам составляет от 25 до 40%. В Казахстане эти цифры еще ниже, поскольку нефть большинства месторождений этого региона относится к высоковязкой, т.е. к трудноизвлекаемой.

В связи с этим, актуальной задачей сегодняшнего дня является разработка новых технологий для увеличения нефтеотдачи уже разрабатываемых пластов. Ее решение требует поиска эффективных путей разжижения нижних пластов нефтяных скважин. Одним из них является биотехнологический, в основе которого лежит использование специальных штаммов микроорганизмов, способных утилизировать тяжелые фракции нефтяных углеводородов, а также продуцировать биосурфактанты, снижающие поверхностное натяжение пластовых вод, обеспечивая таким образом увеличение доступа углеводородов в микробные клетки для их последующего окисления микробными ферментами. Установлено, что бактериальное окисление пластовых углеводородов сопровождается образованием летучих кислот, спиртов и газов, которые совместно с биосурфактантами, способствуют вытеснению пластовой нефти.



Нами проведен отбор нефтеокисляющих микроорганизмов и микроорганизмов-продуцентов биоэмульгаторов нефти среди микроорганизмов, выделенных из нефтешлама месторождений Западного Казахстана, и коллекционных культур. Для работы было отобрано 33 штамма-нефтедеструктора, из которых 14 продемонстрировали индекс эмульгирования нефти выше 50 %. Именно эти штаммы были использованы в экспериментах по разработке биотехнологического способа повышения нефтеотдачи скважин.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что углеводородокисляющие микроорганизмы, обладающие широким спектром действия, могут служить основой для разработки эффективных способов повышения нефтеотдачи нефтяных скважин.

## **НАУЧНО-ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ НОРМИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**А.С. Яковлев**

Факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы; yakovlev\_a\_s@mail.ru

На основе анализа действующей нормативно-законодательной базы в области земле- и природопользования, научных и земельно-правовых представлений о почвах и землях предложены методологические основы нормирования в области охраны окружающей среды, которые базируются на следующих принципах (одном или их совокупности), обеспечивающих устойчивое функционирование естественных экологических систем, рациональное использование и воспроизводство природных ресурсов, экологическую безопасность: благоприятности компонента как среды обитания для человека, растений, животных и других живых организмов (в отношении биотических компонентов природной среды), а также устойчивости функционирования экосистем в целом и выполнения отдельными компонентами экосистем специфических природно-экологических функций; безопасности компонента для сопредельных с нормируемым других компонентов природной среды; пригодности компонента природной среды в качестве природного ресурса для хозяйственного и (или) иного использования; обратимости восстановления качества отдельных компонентов природной среды при воздействии на окружающую среду.

Развитие научно-правовых основ экологического нормирования направлено на решение практических задач в области регулирования качества окружающей среды, определенных Федеральным законом от 10.01.2002 № 7-ФЗ «Об охране окружающей среды». В частности, решаются вопросы по разработке научно обоснованных подходов к установлению и пересмотру нормативов качества ОС с целью сохранения благоприятной окружающей среды и обеспечению экологической безопасности путем государственного регулирования воздействия хозяйственной и иной деятельности для предотвращения или снижения ее негативного воздействия на окружающую среду.

Основная научно-практическая задача при разработке нормативов качества окружающей среды заключается в установлении и фиксации количественных и качественных показателей состояния компонентов природной среды, при которых сохраняется благоприятная среда обитания для живых организмов и не наступает необратимых изменений состояния окружающей среды при всех известных видах природопользования.

Нормативы качества окружающей среды должны быть установлены в отношении химических, физических, биологических и иных показателей состояния отдельных компонентов природной среды, установленных Федеральным законом «Об охране окружающей среды», таких как: земля, почвы, поверхностные и подземные воды, атмосферный воздух, растительный, животный мир. Нормативными значениями показателей состояния окружающей среды являются те, при соблюдении которых должно быть обеспечено устойчивое функционирование естественных экологических систем – с одной стороны, и рациональное использование и воспроизводство природных ресурсов – с другой. Ключевым условием соблюдения устойчивого развития служит «обратимое восстановление» качества окружающей среды.

Таким образом, при нормировании качества окружающей среды в теоретическом и практическом плане главная задача заключается в установлении и фиксации количественных и качественных характеристик момента необратимых изменений природной системы.

Из положений Федерального закона от 10.01.2002 № 7-ФЗ «Об охране окружающей среды» следует, что объектом нормирования в области охраны окружающей среды должны быть компоненты природной среды на конкретных территориях (акваториях), имеющих замкнутые естественные или условные природно-географические границы, для которых и будут устанавливаться показатели состояния окружающей среды. Эти территории (акватории) должны удовлетворять требованию однородности, в частности, по принадлежности к таксону природно-географического, в том числе природно-климатического районирования и категории землепользования (водопользования).

Поэтому в основу разработки и установления нормативов качества окружающей среды должен быть положен принцип необходимости их обязательной дифференциации с учетом природно-климатических условий территорий (акваторий) Российской Федерации, целевого назначения земель и вида их разрешенного использования.

Потребность в дифференцированном подходе к нормированию качества окружающей среды возникает в связи с наличием на территории России различных природных и климатических зон и, соответственно, с различной реакцией компонентов природной среды, растительных и животных организмов на однотипные воздействия. Реализации этой меры настоятельно требует практика. Установление более жестких нормативов качества окружающей среды для особо охраняемых природных территорий служит одной из мер сохранения природных комплексов этих территорий и объектов. При этом, «степень жесткости» нормативов качества будет зависеть от уровня заповедания территории.

Разрабатываемым в области экологического нормирования документами должны быть определены сочетания природно-климатических и ландшафтных условий территории Российской Федерации, целевого назначения земель и вида их разрешенного использования, в отношении которых разрабатываются дифференцированные значения нормативов качества отдельных компонентов природной среды.

При разработке нормативов качества окружающей среды особое внимание необходимо уделить нормированию неоднородных «консервативных» природных сред (почв, земель), занимающих стабильное положение в пространстве, и во многом определяющих экологическое состояние однородных «динамичных» природных сред (атмосферный воздух, водные среды). Так консервативные среды, например почвы могут служить интегральным показателем качества окружающей среды в границах определенного объекта нормирования.

Все известные компоненты окружающей среды выполняют в природе свои, только им присущие экологические функции (Добровольский, Никитин, 1990). При этом, именно на основе характеристики экологических функций каждого из компо-

нентов основана официальная система их оценки и нормирования (Яковлев, Евдокимова, 2011). Согласно этому в обязательном порядке проводятся исследования как минимум в двух направлениях:

- оценка экологического состояния компонентов природной среды по его физическим, химическим и биологическим показателям – «внутренние» экологические функции;

- оценка прямой - обратной связи каждого компонента с сопредельными средами (например, атмосферный воздух – почва – растения) – «внешние» экологические функции.

Необходимо отметить, что в настоящее время имеются закрепленные нормативными правовыми актами подходы к нормированию качества атмосферного воздуха и воды водных объектов, однако для оценки состояния почв и земель такие документы отсутствуют.

Научный этап установления экологических нормативов предполагает в основном поиск и определение основных закономерностей в отношениях между состоянием природной среды и антропогенным воздействием на нее (зависимость «состояние – воздействие») (Гендугов, Глазунов, Евдокимова, 2010). Соответственно, на основании найденных закономерностей разрабатываются критерии и показатели норм качества окружающей среды и антропогенного воздействия с определением диапазона их допустимых значений. Установленные научным путем закономерности могут служить основой современного природоохранного законодательства и системы управления качеством окружающей среды.

Таким образом методологические основы нормирования в области охраны окружающей среды базируются на следующих принципах (одном или их совокупности), обеспечивающих устойчивое функционирование естественных экологических систем, рациональное использование и воспроизводство природных ресурсов, экологическую безопасность:

- благоприятности компонента как среды обитания для человека, растений, животных и других живых организмов (в отношении биотических компонентов природной среды), а также устойчивости функционирования экосистем в целом и выполнения отдельными компонентами экосистем специфических природно-экологических функций;

- безопасности компонента для сопредельных с нормируемым других компонентов природной среды;

- пригодности компонента природной среды в качестве природного ресурса для хозяйственного и (или) иного использования;

- обратимости восстановления качества отдельных компонентов природной среды при воздействии на окружающую среду.

### **ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА:**

1. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Функции почв в биосфере и экосистемах (экологическое значение почв). М.: Наука, 1990. - 261 с.
2. Яковлев А.С., Евдокимова М.В: Экологическое нормирование почв и управление их качеством // Почвоведение. 2011. №5. С. 582-596.
3. Гендугов В.М., Глазунов Г.П., Евдокимова М.В. Макрокинетика Микробных популяций в почве // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 17. Почвоведение. 2010, № 3. С. 35- 39.

# SCIENTIFIC AND LEGAL ASPECTS OF VALUATION OF ENVIRONMENTAL QUALITY

**Yakovlev A S**

Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Leninskie Gory; Yakovlev\_a\_s@mail.ru

Based on the analysis of current normative and legislative base in the field of land and nature management, scientific, and land and legal ideas about soils and land identified methodological bases of standardization in the field of environmental protection, which are based on the following principles (single or multiple), ensuring stable functioning of natural ecological systems, rational use and reproduction of natural resources, ecological safety: the ease component as a habitat for humans, plants, animals and other living organisms (in relation to biotic components of the environment), and sustainability of ecosystems in General and the performance of separate components of ecosystems specific to the natural ecological functions; a security component for adjacent regulated other components of the natural environment; the suitability component of the natural environment as a natural resource for business and (or) other use; the reversibility of the restoration of the quality of the individual components of the natural environment's impact on the environment.

## **ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ АНИОНОВ НА ФИТОЭФФЕКТЫ СОЛЕЙ СВИНЦА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СТАНДАРТНОЙ ПОЧВЫ**

**Учанов П.В., Асеева П.А., Гасанов М.Э., Лозанова Е.В.**

Институт проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;  
p.uchanov@gmail.com

Дискуссии о степени токсичности приоритетных загрязнителей природных сред, к которым относятся соли тяжелых металлов, ведутся во многих работах. Результаты оценок воздействия катионов тяжелых металлов на почвы весьма противоречивые (Барсукова, 1997). Неоднозначные выводы можно найти в литературе и о роли анионов разной природы в составе солей на модификацию негативных эффектов поллютантов (Ильин, 1991.). Одни авторы указывают на четкую взаимосвязь токсичности солей тяжелых металлов с анионами в составе их солей, другие указывают на недостоверные различия от присутствия анионов разной природы, например, на ростовые характеристики и цитотоксичности растений, отмечается лишь различия в мутагенности (Амосова, 2004., Janssen, 1995).

Многие авторы связывают основную причину разброса данных с тем, что в экспериментах не учитываются многие факторы среды, которые непосредственно воздействуют на исследуемые объекты. Токсичность металлов зависит от различных факторов, которые влияют на доступность металлов, их усвоение, воздействие на организм. Таким образом, при исследовании токсичности тяжелых металлов по отношению к различным живым организмам необходимо учитывать параметры окружающей среды, такие как температура, pH и другие.

Минимизировать влияние внешних факторов при оценке воздействия тяжелых металлов, в частности, на растения можно в контролируемых лабораторных условиях в экспериментах с использованием стандартной искусственной почвы.

Свинец – один из наиболее распространенных металлозагрязнителей окружающей среды. Отмечается, что он опасен не только для почвенной биоты, но легко ингаляционным путем может поступать в организм человека, поскольку в значительных количествах свинец содержится в воздухе. Малоизученным остается вопрос о том, насколько природа аниона влияет на токсичность соли свинца.

Цель данной работы – сопоставить влияние солей свинца, содержащих анионы разной природы, на ростовые характеристики растений в условиях лабораторного фитотестирования. Для этого предпринята попытка количественно охарактеризовать медианную эффективную концентрацию катионов свинца ( $Pb^{2+}$ ) при их воздействии в составе молекул разных солей – нитрата, хлорида и ацетата свинца.

В работе использовали три водорастворимые соли свинца:  $PbCl_2$ ,  $Pb(NO_3)_2$ ,  $Pb(CH_3COO)_2$ . В модельную почву вносили в растворенном виде ориентировочно допустимую концентрацию (ОДК) согласно ГН 2.1.7.2511-09 «Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве» для почв близких к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые) рН  $KCl > 5,5$  в количестве до 20 ОДК по  $Pb^{2+}$ . 1 ОДК по свинцу составляет 130 мг/кг почвы. Согласно методике выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв ФР.1.39.2006.02264 почву необходимо увлажнять до 60 % от полной влагоемкости. Для проведения анализа были использованы в соответствии с методикой измерения биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования «Фитоскан» ФР.1.31.2012.11560 одноразовые пластиковые планшеты компании MicroBio Test Inc., способные вмещать 90 см<sup>3</sup> (или 40 г.) модельной почвы. Необходимое количество дистиллированной воды для увлажнения – 30 см<sup>3</sup>. По пропорции вычисляли количество соли в пересчете на катионы свинца Pb, необходимое для добавления в 40 г почвы до уровня 1 ОДК – 5,2 мг, что в свою очередь соответствует концентрации 173,3 мг/л в 30 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Далее эту концентрацию пересчитали с учетом молекулярной массы соли и максимальным ОДК = 20 для серии опытов. Получили следующие концентрации солей:  $C_{20\text{ОДК}}(PbCl_2)=4,6528$  г/л;  $C_{20\text{ОДК}}(Pb(NO_3)_2) = 5,5420$  г/л;  $C_{20\text{ОДК}}(Pb(CH_3COO)_2)=5,4420$  г/л. Далее по точной навеске на аналитических весах готовили растворы солей объемом 500 мл и последовательно разбавляли до концентраций: от 0,5 до 20 ОДК.

В планшеты вносили модельную почву и приливали 30 см<sup>3</sup> раствора соли, шпателем перемешивали до образования однородной массы, аккуратно укладывали лист фильтровальной бумаги под размер нижней камеры планшета.

В качестве почвы использовали искусственную почву, приготовленную согласно международному стандарту ISO 11268-2012.

Испытание токсичности солей свинца проводилось по прорастанию и развитию проростков семян растений однодольных - овса посевного *Avena sativa* и двудольных - редиса *Raphanus sativus*.

Для оценки фитоэффектов применены аппликатный и элюатный способы. При аппликатном способе семена непосредственно находились в контакте с почвой, при элюатном способе на семена воздействовали водным экстрактом из почвенных образцов, в разной степени загрязненных солями свинца. Приготовление водных экстрактов проводили в соотношении 1:4. Взвешивали навески почвы и приливали дистиллированной воды в четырехкратном количестве по массе. Далее, на аппарате для встряхивания жидкости полученную смесь течение 2-х часов встряхивали, после чего отстаивали в течение 30 минут. Надосадочную жидкость сифонировали, а затем фильтровали через фильтр «белая лента». Полученный раствор каждой соли в

трех повторностях по концентрациям приливали по 10 мл на планшет, перед этим готовили фильтровальную бумагу «белая лента» в три слоя на нижнюю раму планшета.

Первая серия экспериментов проводилась с использованием всех обозначенных солей свинца, в результате эффект ингибирования наблюдался только при использовании ацетата и нитрата свинца, хлорид показал максимальное ингибирование в 30% только при концентрации 20 ОДК. Очевидно, свойства хлорида свинца, как слаборастворимой соли (растворяется при нагревании и выпадает в осадок при охлаждении) не позволяют использовать его в качестве модельного токсиканта в дальнейших опытах.

Отклики используемых растений также оказались разнонаправленными: при пониженных концентрациях до 2-5 ОДК наблюдался рост вегетативной части растений, когда как корневая система угнеталась уже при 5 ОДК. При этом зависимость развития проростков семян *Avena sativa* от концентрации токсиканта была выражена заметно меньше по сравнению с реакцией проростков *Raphanus sativus*.

Для дальнейших серий опытов мы выбрали как наиболее чувствительную тест-культуру *Raphanus sativus* и в качестве тест-функции длину корней для оценки влияния токсикантов: ацетата свинца и нитрата свинца. Сравнение проведено в параллельных вариантах элюатным и аппликатным методами.

Наибольшее подавление роста корней, как и в ходе предварительных экспериментов, при использовании ацетата свинца, обусловлено скорее понижением pH до 3-4, при этих значениях токсичность свинца резко возрастала до полного (100%) ингибирования при 20 ОДК, когда как максимальное значение подавления нитратом свинца при анализе почвенного экстракта, (элюатным способом) достигало лишь 60 %.

Таким образом, при фитотестировании токсичности солей свинца как элюатным, так и аппликатным способом показано, что степень подавления развития проростков семян растений зависит от природы аниона. В частности, нитрат свинца оказался менее токсичным по сравнению с ацетатом свинца.

*Работа выполняется при поддержке Программы «Биоразнообразие природных систем».*

### Литература

1. The toxicity of metal salts and the population growth of the ciliate *Colpoda cucullus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 54(4):597-605 · April 1995
2. ISO 11268-2012 Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms
3. Амосова А.А.. Эколого-генетическая оценка влияния солей тяжелых металлов на лук репчатый в условиях модифицирующего эффекта активного ила : Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 : Самара, 2004 149 с.
4. Барсукова В. С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам. Аналитический обзор. Новосибирск, 1997. 63 с.
5. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение.- Новосибирск: Наука, 1991

### TOXICITY OF THE LEAD ANIONS TO PLANT GROWTH IN MODEL SOIL CONDITIONS

Uchanov P.V., Aseeva P.A., Gasanov M.E., Losanova E.V.



**Биотестирование  
экологической безопасности продуктов  
и отходов современных технологий**

**Biotesting  
of environmental safety of products  
and waste of modern technologies**

**Материалы международной молодежной школы**



## Дорогие участники форума «Биодиагностика -2016»!

Активность, которую проявили молодые ученые, аспиранты и студенты, представившие тезисы своих докладов на международную молодежную школу «Биотестирование экологической безопасности продуктов и отходов современных технологий», не может не радовать.

Проведение школы спланировано в рамках научного форума «Биодиагностика-2016». Цель - выявление наиболее острых и дискуссионных вопросов в организации контроля биобезопасности нетрадиционных поллютантов, проблем в сфере нанотоксикологии, а также обсуждение возможностей применения стандартных биотестов для оценки экологического качества продуктов новых технологий.

В последние десятилетия развитие этого направления биодиагностики за рубежом все больше набирает обороты. При этом нет цели затормозить развитие новых технологий, а есть стремление объективно и всесторонне оценить экологические риски новых продуктов, найти способы получения надежной информации о степени безопасности продуктов гуминовой природы, наноматериалов и наногибридных композитов .

Анализируя присланный материал, мы намеренно не отказывали авторам 2/3 заявленных сообщений, тема которых мало или совсем не подходит к обозначенному в названии школы направлению. Большая часть докладов посвящена оценке опасности традиционных поллютантов, таких как тяжелые металлы, нефтепродукты и т.п. Такая ситуация - своего рода отражение пока еще слабой степени проработанности подходов и методических приемов в данном направлении на современном этапе. Остается надеяться, что результаты встречи не просто привлекут внимание, но будут способствовать прогрессу в поисках средств анализа экобезопасности нетрадиционных ксенобиотиков.

В этом кратком предисловии к сборнику тезисов работ молодых ученых хочется выразить искреннюю признательность всем аспирантам, студентам и молодым сотрудникам, которые проявили энтузиазм и заинтересованность в подготовке этой международной встречи и предшествующих. Особо следует отметить вклад, который внесли к.б.н. Пукальчик Мария, Учанов Павел, Панова Мария, к.б.н. Поромов Артем, Бортникова Радмила, к.б.н. Гершкович Дарья, к.б.н. Федосеева Елена, к.б.н. Попутникова Татьяна и другие.

За два года существования регионального отделения SETAC Russian Language Branch принять участие в разных форумах этого международного общества довелось уже многим нашим молодым специалистам и аспирантам. Были поддержаны Советом SETAC Eu поездки на встречи YES в Сербию, США, Краков , на регулярные face-to-face встречи членов Совета SETRAC Europe. Во многом трудности нового начинания удалось преодолеть с помощью организованности и целеустремленности молодых членов SETAC. Благодарности заслуживают Анастасия Харчева, Анна Юрищева, Елизавета Байгина, Олеся Калмацкая и другие.

К данному форуму приурочена конференция членов SETAC, на которой согласно Уставу SETAC RLB, необходимо обновить Совет регионального отделения, избрать нового президента и вице-президента научного общества на ближайшие два года. На территории нашей большой страны целесообразно создать несколько подразделений (sub-branch), руководители которых смогут эффективно взаимодействовать в интересах развития научного сотрудничества. При такой форме организации у молодежи будет еще больше возможностей для установления новых контактов и знакомств в среде профессионального сообщества, оценить значение обмена опытом с зарубежными коллегами в разных аспектах и активностях, которые характерны для SETAC.

*Терехова Вера А.,*  
доктор биологических наук,  
Президент SETAC RLB

## **About SETAC – The Society of Environmental Toxicology and Chemistry**

SETAC: Global and local The Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) is a not-for-profit, global professional organisation established in 1979 to provide a forum for individuals and institutions engaged in education, research and development, ecological risk assessment and life cycle assessment, chemical manufacture and distribution, management and regulation of natural resources, and the study, analysis and solution of environmental problems. SETAC is an open and democratic organisation that operates in a broad social context, reflecting the needs of the environment and people. Application of sound science plays a key role in this process. Membership worldwide comprises around 6000 professionals in the field of chemistry, toxicology, biology and ecology; atmospheric, health and earth sciences; and environmental engineering.

SETAC Europe SETAC Europe is one of the five Geographic Units (GU) of the global Society, established to promote and undertake activities of SETAC in Europe and to support the activities of SETAC in the Middle East and Russia. As a GU, we share the mission of SETAC: To support the development of principles and practices for protection, enhancement and management of sustainable environmental quality and ecosystem integrity. SETAC Europe is dedicated to the use of multidisciplinary approaches to examine the impacts of stressors, chemicals and technology on the environment. The Society also provides an open forum for scientists and institutions engaged in the study of environmental problems, management and regulation of natural resources, education, research and development, and manufacturing. SETAC Europe is incorporated in Belgium as a not-for-profit organisation. The Society is governed according to its articles of association and bylaws. SETAC Europe maintains its administrative office in Brussels, Belgium. SETAC Europe is governed by a volunteer council, elected by the general membership at the Annual General Assembly. The General Assembly convenes every year during the SETAC Europe Annual Meeting. For more information on SETAC and its activities, please visit [www.setac.org](http://www.setac.org)

**ПРИМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ  
В ДИАГНОСТИКЕ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ  
ПОД СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫМИ УГОДЬЯМИ  
Абдрахманова А.А., Даденко Е.В.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ so4n@bk.ru

**Application of enzymatic activity as a soil status indicators  
under the influence of long-term tillage  
Abdrahmanova A.A., Dadenko E.V.**

В условиях все возрастающей сельскохозяйственной нагрузки на почвенный покров актуальным является вопрос изучения их устойчивости почв и плодородия. Биологическая активность почв отражает способность почвы выполнять ее функции и имеет решающее значение в обеспечении ее устойчивости. Ферментативная активность почв является одним из объективных показателей биологической активности, отражающий интенсивность и направленность протекающих в ней биохимических процессов.

Основная цель работы – изучение влияния сельскохозяйственного освоения - распашки на ферментативную активность чернозема обыкновенного. Исследованы пахотные варианты чернозема обыкновенного в сравнении с почвами целинной и многолетне-залежной степи памятников природы «Персиановская степь», находящегося на территории учхоза «Донское» ДонГАУ Октябрьского района, Ростовской области и «Степь приазовская», находящегося на территории учхоза ЮФУ «Недвиговка» Мясниковского района, Ростовской области. Пахотные варианты черноземов находятся в непосредственной близости от их целинных аналогов. На пашнях применяется система основной обработки (отвальный вариант) со стандартным набором агроприемов.

Лабораторно-аналитические исследования выполнены с использованием общепринятых в почвоведении, экологии и биологии методов. Изучена активность ферментов двух классов: оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназа (ДГ), пероксидаза (ПО) и полифенолоксидаза (ПФО)) и гидролаз (b-фруктофуранозидаза, или инвертаза и фосфатаза).

Распашка и сельскохозяйственное использование почв оказывает серьезное влияние на физические параметры, такие как плотность, водоудерживающая способность, пористость, структурно-агрегатный состав. Физические характеристики почвы, в значительной степени контролируют ее биологическую активность, прежде всего, через звено поступления ферментов в почву и их иммобилизацию (Галстян, 1974).

Дополнительной характеристикой процессов синтеза и распада гумусовых веществ является изучение активности окислительных ферментов полифенолоксидазы и пероксидазы, участвующих в процессах гумусообразования. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы на пашне выше, чем на не распаханном участке на 21% и 34% соответственно. При этом содержание органического вещества наоборот выше на почвах под степной растительностью. Следовательно, процессы новообразования гумуса и его разложения в почвах пашни протекают намного интенсивнее, чем в почвах под естественными сообществами. Что может приводить к еще большим потерям органического вещества.

В наших исследованиях корреляционный анализ показал достоверную отрицательную зависимость активности пероксидазы и полифенолоксидазы от влажности (коэффициенты корреляции соответственно равны - 0,64 и - 0,62). Зависимость от содержания гумуса составила - 0,55 и - 0,60.

Если сравнивать между собой степной и залежный участок, то можно сказать, что целинный чернозем по изученным показателям опережает чернозем залежи.

Активность пероксидазы и полифенолоксидазы выше в почвах пашни, но только в верхних горизонтах, подвергающихся непосредственному воздействию. На глубине 40-50 см активность этих ферментов в черноземе пахотного и целинного участка, а также пахотного и залежного практически не отличается. Хотя различия в содержании гумуса на этой глубине еще значительны.

Активность каталазы при сельскохозяйственном использовании меняется незначительно. При профильном рассмотрении биологических свойств черноземов обыкновенных активность каталазы также является малоинформативным показателем. Ее активность в нижележащих горизонтах, как и в верхних горизонтах, несколько ниже в пахотных вариантах, чем в целинном и многолетнезалежном черноземе. Различия в активности ферментов между целинным и пахотным, залежным и пахотным вариантами чернозема на глубине 40-50 см не отмечены.

Активность дегидрогеназы при сельскохозяйственном использовании снижается значительно (28% и 52%). Что связано в первую очередь со снижением содержания гумуса. Максимальные отличия в пахотных, целинных и залежных вариантах отмечены в верхних, подвергающихся наибольшему воздействию горизонтах. Причем уже на глубине 20 см активность дегидрогеназы ниже более чем на 30%, по сравнению с верхним горизонтом. Различия в активности ферментов между целинным, залежным и пахотным вариантом чернозема сохраняются вплоть до глубины 30-40 см. Ниже достоверно значимых отличий не отмечено.

Активность инвертазы снижается при распашке почв. Снижение активности фермента составляет 38 и 58%. Для изученных черноземов коэффициент корреляции активности инвертазы и содержания гумуса равен 0,89. Также показана отрицательная зависимость между инвертазной активностью и активностью пероксидазы и полифенолоксидазы.

Характер снижения активности фермента вниз по почвенному профилю довольно резкий. Разница в активности фермента на глубине 20 см, по сравнению с верхним горизонтом составляет 30% и более. На глубине 40-50 см пашня целина и залежь по инвертазной активности друг от друга практически не отличаются.

В наших исследованиях активность фосфатазы на пашне превышает таковую на целинном и залежном участке. Степень отличий составила 44 и 17% соответственно. Таким образом, уровень активности фермента не зависел от содержания гумуса, значительно снижающегося при распашке.

Сельскохозяйственное использование черноземов приводит к изменению показателей ферментативной активности. Максимальные отличия отмечены в верхних, подвергающихся наибольшему воздействию горизонтах. Изменение биологических показателей вниз по профилю более резкое в целинных и залежных вариантах по сравнению с пашней.

Изученные биологические показатели значительно различаются по степени устойчивости к сельскохозяйственному использованию, что позволяет выделить более чувствительные и информативные диагностические показатели и, следовательно, наиболее приемлемые для диагностики состояния агропочв.

При распашке в наибольшей степени изменяется активность инвертазы и дегидрогеназы. Активность каталазы снижается незначительно. Активность пероксидазы, полифенолоксидазы и фосфатазы, наоборот, увеличиваются. Что также может слу-

жить диагностическим показателем для изучения последствий распашки на черно-земы.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

## **ВАЛИДНОСТЬ МЕТОДОВ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ КОНТРОЛЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ**

**Андреева О.А., Кожевин П.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, elvi.23@mail.ru

### **Phytotesting methods validity for the control of microbial preparations derived from natural microbial communities**

**Andreeva O.A., Kozhevin P. A.**

Существенным компонентом устойчивого земледелия являются биоудобрения и биопрепараты, содержащие живые клетки или споры полезных микроорганизмов, которые в различных формах влияют на плодородие почв и урожайность культур. Однако, применение биопрепаратов имеет ряд ограничений. Во-первых, проблемы, связанные с самими препаратами: отсутствие региональных штаммов, конкурентоспособность штаммов, отсутствие подходящего носителя и часто возникающие мутации. Во-вторых, экологические факторы, влияющие на сохранение и жизнеспособность штаммов в природе: температура, влажность, рН, высокие концентрации нитратов, дефицит микроэлементов или наличие токсичных соединений. В связи с этим перспективным может оказаться подход, в ходе которого естественное микробное сообщество изменяется таким образом, чтобы оказывать положительные эффекты для роста растений.

В нашей работе микробные препараты были получены в ходе сукцессии естественного микробного сообщества чернозема, инициированной внесением легкодоступных источников углерода и азота (глюкоза и нитрит натрия) и простым увлажнением (контрольная сукцессия). В ходе эксперимента оценивалась активность экспериментальных микробных препаратов двумя методиками фитотестирования: в лабораторных условиях в чашках Петри и в мелкоделяночном опыте. Эффективность микробных препаратов оценивалась в лабораторных условиях. В качестве тест-объектов для фитотестирования выбрали два растения разных классов в соответствии со стандартом ISO 11269-2. Использовались семена пшеницы (р. *Triticum*) из хозяйства Федоровского района Саратовской области (торговое объединение «Продукты здорового питания») и семена кресс-салата (*Lepidium sativum*) фирмы «Белая дача». Для оценки действия микробных препаратов использовали следующие показатели: длина побега, длина корня, энергия прорастания, а также индекс роста  $I$  с расчетом по формуле:  $I=(R+P)*D$ , где  $R$  и  $P$  – суммарные значения длин корней и проростков соответственно, см;  $D$  – доля проросших семян. Корреляционный анализ показал, что все тест-функции значимо коррелируют между собой (при уровне значимости  $p=0,05$ ). Поэтому для сравнения результатов, полученных в различных условиях и на разных растениях имеет смысл использовать интегральный показатель индекса  $I$ , относительно контроля. Мелкоделяночный эксперимент проводили в Волгоградской области в открытом грунте.

Полевые испытания проводили на экспериментальных полях лаборатории по изучению систем земледелия ФГБОУ ВПО «БелГСХА им. В.Я.Горина» на яровом ячмене летом 2013г. Действие препаратов рассматривалось на различных фонах удобрений ( $N_{10}P_{10}K_{10}$ ,  $N_{30}P_{30}K_{30}$ ,  $N_{50}P_{50}K_{50}$ ,  $N_{70}P_{70}K_{70}$ ) в сравнении с контролем (без обработки) и с обработкой фунгицидом. Эффективность микробных препаратов оценивали по изменению урожайности в ц/га ( $НСР_{05}=1,5$ ).

Сравнение результатов тестов, полученных в разных условиях (в чашках Петри и в мелкоделяночном опыте), показало, что в натуральных условиях регистрируются результаты несколько отличные от лабораторных. Так в лабораторном опыте было показано, что наиболее эффективной концентрацией экспериментального препарата является разведение 1:10, в то время как в условиях открытого грунта это значение сдвинулось в сторону более разбавленных концентраций (1:100). Также важно отметить, что различия между препаратами, отмечаемые в лабораторном опыте как значимые, в мелкоделяночном эксперименте потеряли свою значимость. Таким образом, можно сделать вывод, что почва сильно сглаживает как положительные, так отрицательные эффекты исследуемых препаратов.

В полевых условиях испытывались два препарата, показавшие наибольшую эффективность в лабораторных и мелкоделяночных экспериментах. В лабораторных условиях на ранних сроках роста растений препарата проявились как активаторы роста растений. Однако в полевых экспериментах препарат 1 значимо не отличался от контроля. В то время как препарат 2 показал высокую активность на разных фонах удобрений (от 10% до 20% прибавки урожая по сравнению с контролем), а также значимо превысил урожайность по сравнению с обработкой фунгицидом на высоких фонах удобрений (35,1 и 33,1 ц/га соответственно  $НСР_{05}=1,5$ ).

Результаты исследования показали эффективность использования такой тест-функции как индекс I для контроля микробных препаратов. А также показали недостаточность лабораторного метода в чашках Петри для изучения микробных препаратов и необходимость проведения опытов в условиях, приближенных к натурным.

## **ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

**Асанова А.А., Григорьев Ю.С., Полонский В.И., Вишняков А.Н.**

Красноярский государственный аграрный университет, Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, [nastasia.asanova@gmail.com](mailto:nastasia.asanova@gmail.com)

**The toxicity assessment of engineered nanoparticles in algal bioassays**  
**Asanova A.A., Yuriy S. Grigoriev,; Vadim I. Polonskiy, Alexey N. Vishnyakov**  
Krasnoyarsk State Agricultural University, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia;

Производство и использование наночастиц в потребительских товарах с каждым годом возрастает [1]. Проникновение высокоактивных наночастиц в окружающую среду возможно на любом этапе их существования: от производства до утилизации в составе конечного продукта [2]. В связи с этим актуальным является оценка возможных рисков известных и новых наноматериалов для различных объектов окружающей среды.

В настоящей работе методами биотестирования исследованы токсические свойства трех видов наночастиц: Ag размером 15 – 25 нм,  $TiO_2$  размером 100 - 190 нм и  $SiO_2$  размером 10-15 нм и 100-120 нм. Для получения более высокой дисперсности

наночастиц проводили сонификацию суспензии частотой 35 кГц в ультразвуковой ванне в течение 30 минут. В качестве тест-организма использовали водоросль *Chlorella vulgaris* Beijer. Культуру микроводоросли выращивали на 50% среде Тамия при температуре 36°C в культиваторе КВ-05. Оценку токсичности наночастиц проводили по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) [3] на приборе Фотон 10 [4]. Данный показатель характеризует фотосинтетическую активность растительного тест-организма и, в силу его относительности, мало зависит от окрашенности и мутности тестируемой пробы. Воздействие наночастиц на рост тест-культуры определяли посредством регистрации оптической плотности (ОП) суспензии клеток после 22 часов выращивания в многокуветном культиваторе КВМ-05 [5]. В качестве критерия острой токсичности наночастиц использовали показатель  $EC_{50}$ , соответствующий их концентрации, при которой оба показателя состояния клеток снижались по отношению к контролю на 50 %.

Было установлено, что наиболее значительное воздействие на культуру хлореллы оказывали наночастицы серебра. Величины  $EC_{50}$  составили 0,05 и 0,11 мг/л по показателям ОП и ОПЗФ соответственно. В экспериментах с использованием наночастиц серебра и его ионной формы удалось выявить факт большей токсичности последней по сравнению с наночастицами на 2 порядка по показателю ОП и ОПЗФ.

Применение наночастиц диоксида титана незначительно снижало скорость роста культуры микроводоросли. Показатель ОПЗФ, отражающий работу фотосинтетического аппарата клеток, также изменялся незначительно после 1-часовой экспозиции в условиях светового облучения. По этой причине для данного вида наночастиц не удалось определить величину  $EC_{50}$ .

Крупные частицы диоксида кремния оказали большее токсическое воздействие, чем частицы меньшего размера. Так, величина  $EC_{50}$  по показателю ОП для наночастиц размером 100-120 нм составила 8 мг/л, а для частиц размером 10-15 нм токсического воздействия на рост культуры водоросли выявлено не было до концентрации 100 мг/л. По параметру ОПЗФ крупные частицы диоксида кремния также оказались существенно более токсичными, чем мелкие.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии токсических свойств у исследуемых наночастиц, которые зависят от природы вещества, его концентрации, а также (для оксида кремния) размера самих частиц.

1 - Kessler R. Engineered nanoparticles in consumer products: Understanding a new ingredient // *Environmental Health Perspectives*. – 2011. – Vol. 119. – No 3. – P. A120-A125.

2 - Sun T.Y. et al. Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials // *Environmental Pollution*. – 2014. – Vol. 185. – P. 69-76.

3 - Григорьев Ю.С., Андреев А.А., Кравчук И.С., Гекк П.И. Способ биотестирования токсичности вод и водных растворов // Патент РФ на изобретение № 2482474, опубл. 20.05.2013. Бюл. № 14.

4 - ПНД Ф Т 14.1:2.4.16-09 / Т 16.1:2.3:3.14-09. Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, Москва, 2014.

5 - ПНД Ф Т 14.1:2.3:4.10-04 / Т 16.1:2.2:3.7-04. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, Москва, 2014.



# ГИГИЕНИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ ПЕСТИЦИДОВ В ПОЧВЕ: КРИТИКА И ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Астайкина А.А., Тихонов В.В., Горбатов В.С.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, ФГБНУ ВНИИФ,  
р.п. Большие Вяземы, РФ, astaikina-anzhel@mail.ru

## The setting of environmental standards of pesticides in soils: the disapproval and the recommendation

Astaykina A., Tikhonov V., Gorbатов V.

Основное отличие пестицидов от других загрязняющих веществ, применительно к их нормированию в почве – это то, что обычно известно – где, когда и сколько поступает пестицида в этот природный объект. Это отражено в регламенте применения пестицида, который включает перечень обрабатываемых сельскохозяйственных культур, а также нормы, время, способы и ограничения применения пестицида [1]. Исследования, проведенные при разработке пестицида, и его дополнительная оценка при национальной регистрации позволяют установить регламенты применения пестицида, которые обеспечивают, как его эффективность в борьбе с вредными организмами, так и безопасность применения для человека и окружающей среды. Норма применения пестицида в почве по смыслу соответствует понятию «предельно-допустимый выброс (ПДВ)», применяемому для нормирования поступления химикатов в почву (например, тяжелых металлов). ПДВ таких химикатов рассчитывают на основании экспериментально определенной предельно-допустимой концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в почве, а для пестицида такой предельно-допустимой концентрацией будет его концентрация в почве, соответствующая его максимальной норме применения.

В США, ЕС и других развитых странах при обосновании нормы применения пестицидов используют оценку риска [2], которая применяется и в экологической оценке пестицидов в РФ [3,4]. В РФ для гигиенического нормирования пестицидов в почве рекомендуются те же подходы, что и для остальных химикатов, поступление которых в почву обычно не ограничено какими-либо нормами. Гигиеническое обоснование ПДК для химического загрязнителя базируется на четырех основных показателях вредности, определяемых экспериментально: транслокационном (способность переходить в растения), миграционном водном (способность мигрировать в воду), миграционном воздушном (способность мигрировать в атмосферный воздух) и общесанитарном (способность влиять на процессы самоочищения почвы и ее биологическую активность) [5]. ПДК определяется по лимитирующему показателю, вне зависимости от свойств почв и климатических условий региона.

Мы провели сравнение содержания д.в. в почве сразу после применения пестицидов с утвержденными в России значениями ПДК/ОДК [6]. Расчет содержания д.в. в почве проводили, используя формулу пересчета: , где

$C$  – содержание д.в. в почве, мг/кг;  $НП$  – норма применения препарата, кг/га;

$C_{д.в.}$  - концентрация д.в. в препарате, кг/л;  $1000000$  – коэффициент пересчета кг в мг;  $1200$  – плотность почвы, кг/м<sup>3</sup>;  $10000$  – площадь одного га, м<sup>2</sup>;

$0,2$  – глубина слоя почвы, м.

Выяснилось, что из 213 д.в. для 69 % содержание д.в. в 20 см слое почвы не превышало ПДК/ОДК (рис. 1).

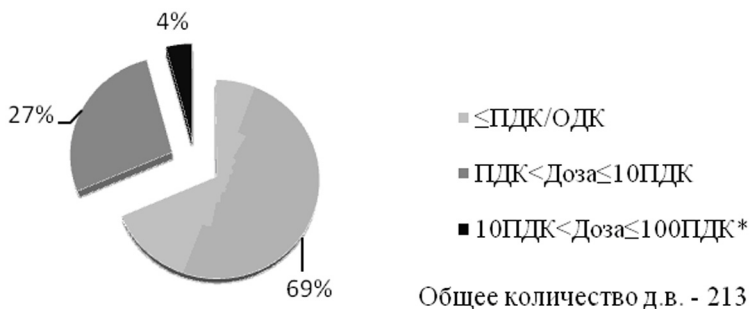


Рис. 1. Сравнение ПДК/ОДК в почве с нормами применения пестицидов

Одна из основных причин частого превышения ПДК при соблюдении рекомендуемых норм применения пестицидов - методические ошибки в выполнении экспериментов по обоснованию величины ПДК. Они связаны, прежде всего, с игнорированием реальных свойств почв. Яркий пример - недавно опубликованная работа [7] по обоснованию ПДК гербицида МЦПА, где в качестве тестовой почвы использовался так называемый «модельный почвенный эталон» (МПЭ), основу которого составлял физический песок (содержание этой фракции более 88%), а органическое вещество полностью отсутствовало. В результате данной работы было установлено, что лимитирующим фактором, определяющим вредность МЦПА, является его миграция в грунтовые воды, а значение разработанного норматива ПДК на порядок превысило концентрацию пестицида в почве, соответствующую рекомендуемой норме его применения. Таким образом, если использовать данный норматив ПДК, то окажется, что уже сразу после применения МЦПА почва будет существенно загрязнена и по формальным признакам данный гербицид не может быть зарегистрирован в России и рекомендован для применения. На самом же деле МЦПА – давно известный и досконально изученный пестицид. Действительно, он довольно подвижен в почве, но риск его миграции в грунтовые воды уже оценен и признан низким в процессе разработки и регистрации пестицида. Для этого использованы лабораторные колоночные и полевые лизиметрические опыты, проведенные по международно-принятым методикам (ГОСТ 330430-2014 «Вымывание из почвенных колонок» [8]) на 3-4 типах почвах с широким диапазоном свойств и максимально-рекомендованной нормой применения. Не совсем понятно, зачем для гигиенического нормирования фактически дублировать уже проведенные исследования, использовать экзотичную модельную почву и, в результате, получать норматив, не пригодный для контроля и мониторинга пестицидов в почве?

При регистрации пестицида в РФ, как правило, д.в. уже хорошо изучены: известны показатели его сорбции и деградации в почве, летучесть, токсичность для различных видов нецелевых организмов и, конечно, норма применения препарата. На основании этой совокупности данных о пестициде и норме его применения оценивают риск пестицидного препарата (рис. 2).

Исходя из вышеизложенного, предлагаем в качестве норматива для контроля пестицидов в почвах Российской Федерации использовать норму применения пестицида, пересчитанную в мг д.в./кг почвы (см. выше приведенный расчет). Данный норматив обоснован экспериментальными исследованиями по оценке риска применения пестицидов, проведенными при их разработке и регистрации, и не требует проведения дублирующих и дорогостоящих экспериментов.

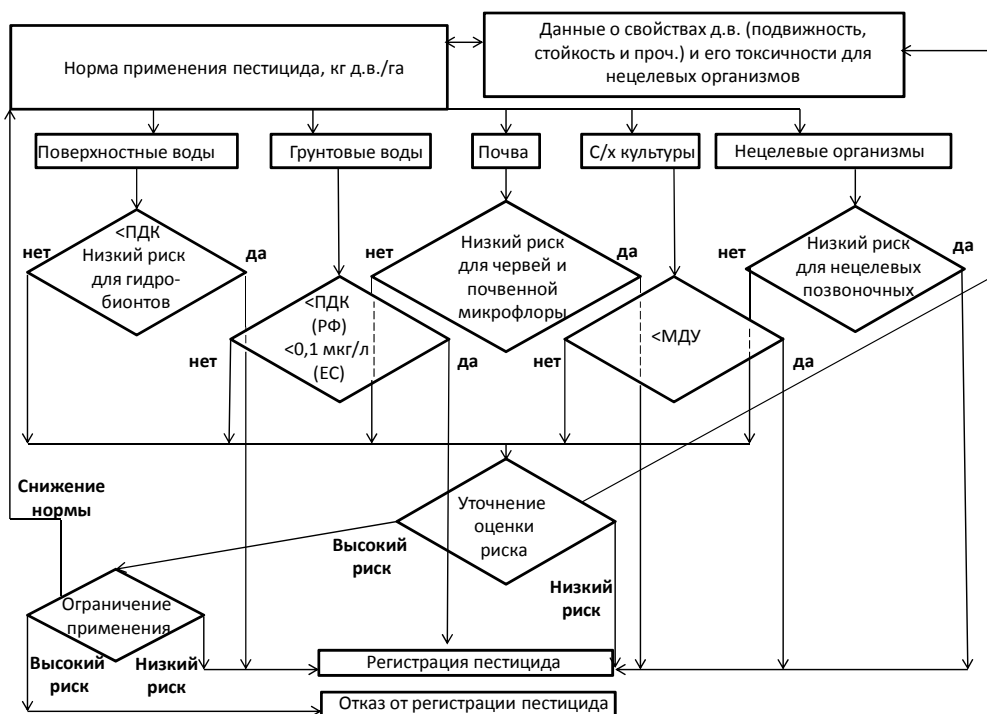


Рис. 2. Обобщенная схема оценки риска применения пестицидов

1. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов. Минсельхоз России. 2016. Москва. с. 932.
2. Data requirements for pesticide Registration in OECD Member Countries: Survey Results. OECD Environment Monographs N 77. OECD, Paris, 1994, p.145.
3. Горбатов В.С., Кононова Т.В. Структура экологических данных о пестицидах. Нива Поволжья, 2011 г. с.17-20.
4. Кокорева А.А., Горбатов В.С. Использование математических моделей прогноза концентраций пестицидов в поверхностных водах с целью оценки риска применения пестицидов для водных организмов//Агрохимический вестник. 2010. № 1. С. 27–30.
5. Методические рекомендации по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве, МЗ СССР, М., 1982 г. с.24.
6. ГН 1.2.3111-13. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (с изменениями на 13 июля 2016 года). Москва. 2016. с.161.
7. Ракитский В.Н, Сеницкая Т.А., Громова И.П., Плетенев П.А., Климова Н.Н. О гигиеническом нормировании пестицидов на основе МЦПА в почве. Тезисы VII съезда Общества почвоведов им. В.В. Докучаева и Всероссийской с международным участием научной конференции «Почвоведение – продовольственная и экологическая безопасность страны». Белгород. 2016. с.90-92.
8. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33043-2014 «Методы испытания химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Вымывание из почвенных колонок» Москва. 2015. с.12.

# **ДИАГНОСТИКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ФУНГИЦИДАМИ БАСТИОН И СТРЕКАР ПО ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЫ**

**Бахарева Л.В., Казеев К.Ш.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, liliabach@mail.ru

## **Diagnosis of pollution chernozem fungicides Strekar and Bastion for soil toxicity Bakhareva L.V., Kazeev K.Sh**

В последние десятилетия почвы подвергаются загрязнению пестицидами. Несмотря на то, что последние поколения применяемых современных препаратов пестицидов становятся все более селективными и слабоустойчивыми в окружающей среде, проблема их воздействия на биологические объекты остается актуальной.

Фунгицид «Бастيون» применяется для протравливания семян. Действующее вещество и его состав: дифеноконазол и ципроконазол. Применяется против гельминтоспориозной корневой гнили, заплесневения семян, фузариозной корневой гнили. Фунгицид «Стрекар» является комбинированной формой, созданной на основе фитолавина. «Стрекар» включает в себя действующие вещества, высокоэффективные против возбудителей фузариозов и бактериозов. Особенностью «Стрекар» является обеспечение одновременно защиты растений от возбудителей как грибковой, так и бактериальной природы. Отмечено, что препарат легко проникает в ткани растения. Данные препараты только внедряются в использование в сельском хозяйстве и еще достаточно мало изучены. В связи с этим, особенно актуально изучить влияние этих фунгицидов на биологические свойства почв.

Целью работы было определение фитотоксичности современных фунгицидов «Бастيون» и «Стрекар» на чернозёме обыкновенном.

Объект исследования - чернозем обыкновенный карбонатный среднемощный тяжелосуглинистый обладает слабощелочной реакцией среды (рН), низким содержанием гумуса (около 4%). Почва для опытов отбирали из пахотного горизонта чернозема в Ботаническом саду Южного федерального университета (Ростов-на-Дону).

Исследования влияния пестицидного воздействия проводили на 7 сутки после загрязнения. Контролем служила незагрязненная почва. Дозы вносимых препаратов составили 10, 100, 1000 мг/кг почвы. Диагностику последствий загрязнения почвы пестицидами определяли по показателям фитотоксичности. Вегетационный опыт проводили согласно традиционной методике (Казеев, Колесников, 2012).

В результате исследования установлено, что длина корней уменьшается на дозе Бастiona 100 мг/кг на 40% относительно контроля. Для варианта доз 1000 и 10 мг/кг получены похожие тенденции: отличие от контрольных значений составляет 20%. Длина побегов редиса также изменялась при загрязнении, но результаты по показателю длины корней более информативны, вследствие непосредственного соприкосновения с загрязняющими веществами.

При исследовании воздействия фунгицида «Стрекар» установлено, что длина корней уменьшается с ростом дозы линейно: при дозе 10, 100 и 1000 мг/кг - на 7, 35 и 43% относительно контроля, соответственно.

В исследовании выявлено, что из двух фунгицидов более токсичным является «Стрекар», так как при высоких дозах его внесения длина корней редиса снижается. При загрязнении фунгицидом «Бастيون» не выявлено прямой зависимости длины корней от дозы загрязнителя. Фитотоксичность фунгицида "Стрекар" более выражена, чем препарата «Бастيون». Показатели фитотоксичности почв могут быть использованы в диагностике загрязнения высокими дозами исследуемых фунгицидов.

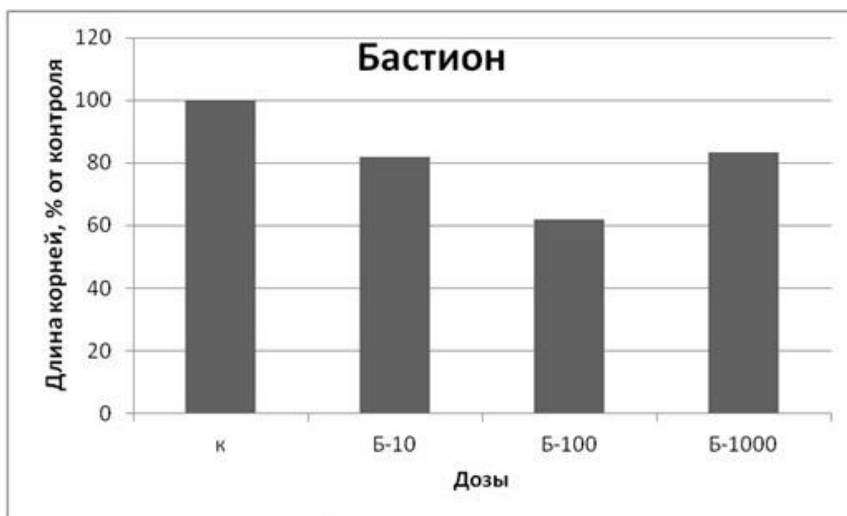


Рис. 1. Влияние фунгицида «Бастион» на длину корней редиса

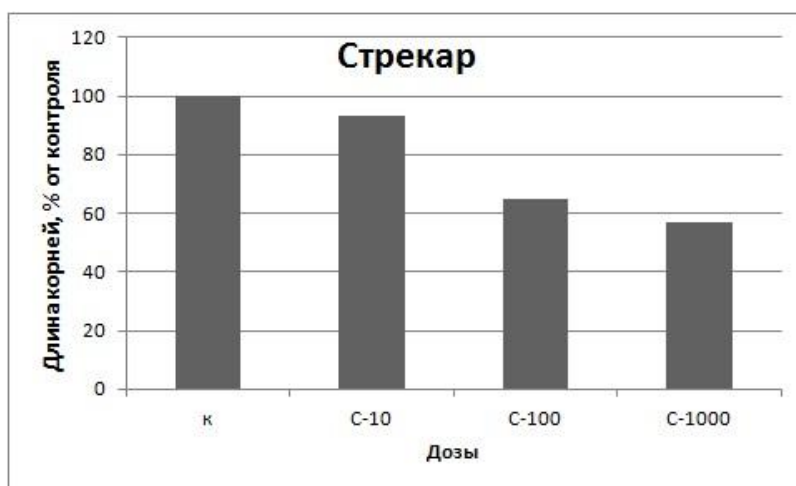


Рис. 2. Влияние фунгицида «Стрекар» на длину корней редиса

### Благодарности

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

1. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. / Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2012. 260 с.
2. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. 204 с.
3. Казеев К.Ш. Токсичность пестицидов по отношению к сапротитной микрофлоре чернозема // Экология и биология почв. Мат-лы Междунар. научной конф. Ростов н/Д: Изд-во Росиздат, 2005. С. 209-210.
4. Казеев К.Ш., Даденко Е.В., Везденева Л.С., Денисова Т.В., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биогеография и биодиагностика почв Юга России. Ростов н/Д: Изд-во «Ростиздат», 2007. 226 с.
5. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биология почв Юга России. Ростов-на-Дону: Изд-во ЦВВР, 2004. 350 с.

## **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ЮЖНОГО МАКРОСКЛОНА ГОР КРЫМА**

**Безус Е.И., Казеев К.Ш.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, bezus.finik@yandex.ru

### **Enzymatic activity of soils of the southern macroslope of mountains of Crimea Bezus E.I., Kazeev K.Sh.**

Использование ферментов для диагностики экологического состояния почвы успешно применяют как российские, так и зарубежные ученые. При этом было установлено, что активность ферментов может быть диагностическим показателем ее генезиса, плодородия и экологического. По активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов можно определить влияние антропогенной нагрузки, приводящей к деградации почв. Эти ферменты являются информативными биоиндикаторами при определении устойчивости почв к распашке, загрязнению, переувлажнению, вторичному засолению.

Почвенный покров Крыма во многом уникален для России. В литературе описаны генезис, география и свойства почв Крыма. Наиболее распространенными почвами крымских гор являются бурые лесные почвы (буроземы). На субтропическом побережье южных склонов гор распространены коричневые почвы, обычно каменистые и маломощные. Ведущим фактором, влияющим на распределение этих почв в горах Крыма, является высота местности, определяющая климатические условия. Буроземы отмечены в Крыму на высотах более 200 метров над уровнем моря. Коричневые почвы встречаются ниже до побережья моря. Кроме того, коричневые почвы были исследованы на значительном расстоянии от моря в Белогорском районе на глинистых продуктах выветривания известняков. Оба этих типа почв были объектами настоящих исследований.

Полевые исследования на территории черноморского побережья Крыма были проведены в ноябре 2015 года. Для исследования почв был заложен ряд полнопрофильных разрезов и прикопок от поселка Никита до Севастополя.

В высушенных образцах было определено pH, содержание гумуса и легкорастворимых солей, активность каталазы и дегидрогеназы. Исследования проводили в 3-9-кратной повторности. Каталаза – один из наиболее исследованных ферментов, который катализирует разложение образующегося в процессе биологического окисления пероксид водорода на воду и молекулярный кислород. Фермент широко распространён в клетках животных, растений и микроорганизмов. Функция каталазы сводится к разрушению токсичного пероксида водорода, образующегося в ходе различных окислительных процессов в организме. Дегидрогеназы — группа ферментов из класса оксидоредуктаз, состоящие из простетической группы и специфического белка, катализирующих перенос протонов от субстрата (органических веществ) и пары электронов — к акцептору.

Реакция среды в исследуемых почвах определялась генезисом почв. Влажные буроземы обладали меньшим pH, по сравнению с коричневыми почвами. В свою очередь буроземы различались по реакции среды, в слабокислотных почвах pH составил 6,8, в кислой буроземе - 5,6 единиц. Коричневые почвы также различались по pH вследствие разной степени выщелоченности от карбонатов (pH составил 7,2 в выщелоченном, 8,3 - в карбонатном подтипе).

Проведенные исследования показали значительное различие значений активности гумуса и ферментов в разных почвах Крыма и, даже, в почвах одного типа. Содержание гумуса в почвах колебалось в очень широких пределах, от 16,8 %

в грубогумусовом горизонте кислого бурозема, до 0,7% в агрокоричневой почве плантажированного виноградника.

Различия касаются не только поверхностных горизонтов почв, но и их профильного распределения. Диапазон значений чрезвычайно широк, по шкале Д.Г. Звягинцева (1978) от очень бедной, до очень богатой. Низкая активность каталазы выявлена в кислом буроземе с явными признаками проявления подзолистого процесса, который приводит к кислотному разрушению почвенных минералов. Даже поверхностный маломощный горизонт этой почвы с обилием слаборазложившихся растительных остатков обладает средней активностью исследуемого фермента. А в элювиальном горизонте активность каталазы минимальна из всех исследуемых почв. Вниз по профилю значения активности убывают вплоть до почвообразующей породы, включающей обломки известняка. Здесь активность несколько повышается вследствие присутствия карбонатов кальция. Типичный бурозем, близкий по морфологическому строению и свойствам к коричневой выщелоченной почве, обладает на 40% более высокой активностью каталазы в верхнем горизонте, чем в аналогичном горизонте бурозема кислого. В средней и нижней части профиля активность каталазы значительно повышена до высокого уровня обогащения.

Наибольшие различия для почв одного типа продемонстрировали коричневые почвы. В зависимости от степени карбонатности, характера растительности и степени антропогенного преобразования эти почвы значительно изменяются по уровню активности оксидоредуктаз, особенно каталазы. Большая часть образцов этих почв обладает высокой и очень высокой активностью каталазы. Однако какой-либо одной закономерности распределения активности каталазы не было обнаружено. Для разных разрезов отмечены и инверсии активности внутри почвенного профиля и повышенная активность в почвах, нарушенных деятельностью человека, а также относительно низкая активность в почвах природных слаборазрушенных экосистем.

Активность дегидрогеназы в коричневых почвах, в целом была более высокой по сравнению с буроземами. Различия составили от 2 до 5 раз для разных почв. При этом в разных вариантах коричневых почв, исследованных в Крыму на значительном расстоянии друг от друга, активность дегидрогеназы различалась незначительно для сильно варьирующих биологических показателей. Сельскохозяйственное использование коричневых почв под виноградниками в разы понижает содержание в них гумуса, но на активности ферментов сказывается не столь радикально. Отмечено понижение активности каталазы и некоторое увеличение активности дегидрогеназы.

Корреляционный анализ не показал связи между исследуемыми показателями. Только для содержания гумуса отмечена тесная обратная связь с рН ( $r = -0,74$ ). Активность исследуемых окислительно-восстановительных ферментов не определялась ни реакцией среды, ни содержанием гумуса. Это соответствует литературным данным, которые находят связь гидролаз с содержанием гумуса.

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о значительном различии активности оксидоредуктаз в почвах Крыма разного генезиса и сельскохозяйственного использования. Выявлена более высокая активность оксидоредуктаз, прежде всего дегидрогеназы, коричневых почв по сравнению с буроземами.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

# ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА Г. КИМРЫ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Белова А.Н., Савватеева О.А.

Государственный университет "Дубна", г. Дубна, РФ, alexandra.bel-1@yandex.ru

## Ecological condition assessment of Kimry city soil, Tver region Belova A.N., Savvateeva O.A.

Почва является одним из основных компонентов окружающей среды, трудно возобновимым природным ресурсом, обладает свойством плодородия, служит средой обитания и основным источником жизнеобеспечения и жизнедеятельности человека на Земле.

Актуальность работы определяется тем, что в городах техногенная нагрузка на почвенный покров возрастает с каждым годом. Исследования проведены в 2015-2016 гг. для территории г. Кимры Тверской области с общей площадью территории 44 км<sup>2</sup> и численностью населения на 1 января 2016 года 46101 человек. В Кимрах работает около 50 предприятий различных видов деятельности: станкостроение, машиностроение, деревообработка, строительное производство, металлообработка, производство обуви и швейная промышленность, производство средств индивидуальной защиты человека и т. д. Однако, производства отличаются небольшими объемами выпускаемой продукции и не оказывают значительного воздействия на окружающую среду. [2, 3]

Пробоотбор почвенного покрова происходил в 66 точках, расположенных по равномерной сети, охватывающей все функциональные зоны города: селитебную, промышленную, придорожные полосы, сельскохозяйственные участки.

Были выполнены следующие исследования:

- определение содержания углерода органических соединений по методу И.В. Тюрина;
- определение актуальной кислотности почвы;
- определение содержания кислорастворимых форм соединений тяжелых металлов в почве на спектрометре атомно-абсорбционным методом с пламенной атомизацией «Квант 2АТ».

По результатам исследований, уровни содержания гумуса в точках пробоотбора изменяются в пределах 1–4.8 %. Почвы основной части городской территории характеризуется низким содержанием гумуса 1.8–3 %. В северо-западной и восточной частях города выявляются небольшие участки территории в основном частный сектор, на которой содержание гумуса имеет средний уровень от 4 %.

По результатам анализа рН изучаемой почвы колеблется в интервале 6.4–8.6. Основная часть территории исследуемого объекта характеризуется уровнями рН 7–7.7. Для фоновых зональных (дерново-подзолистых) почв характерен большой разброс показателя кислотной реакции почвенного раствора (рН<sub>водн.</sub> 4.9–6.5). То есть для городских почв характерен сдвиг реакции среды в сторону щелочных значений.

Концентрации свинца варьируют в пределах 1.6–90 мг/кг при ОДК 32 мг/кг [4], то есть превышения наблюдаются до 3 раз. Наибольшие значения концентрации наблюдаются на северо-западе в центральном районе города, что связано с большим количеством выбросов автотранспорта. Согласно исследованиям интенсивности движения автотранспорта в 2015 году, данный район являются наиболее загруженным. [1]



Концентрации цинка варьируют в пределах 0.8 – 65 мг/кг при ОДК 55 мг/кг [4]. Почвенный покров большей части территории города характеризуется отсутствием превышений ОДК. Наибольшие значения концентрации наблюдаются в центральном районе города, это можно связать с большим количеством выбросов автотранспорта [1] и влиянием предприятия ООО «Премьера», которое занимается гальваническим цинкованием металлических предметов.

Концентрации меди варьируют в пределах 0.8 – 57 мг/кг при ОДК 33 мг/кг [4]. Почвенный покров большей части территории города характеризуется отсутствием превышений ОДК. Наибольшее значение концентрации наблюдается на востоке исследуемой территории, в районе промышленной зоны машиностроительного завода.

Концентрации кадмия варьируют в пределах 0.001 – 0.5 мг/кг при ОДК 0,5 мг/кг [4], то есть на исследуемой территории превышения концентрации не наблюдаются.

На основании исследования почвенного покрова на территории г. Кимры Тверской области выявлены превышения ОДК по свинцу (до 3 раз), цинку и меди (незначительные). Среди факторов воздействия можно назвать автотранспорт и предприятие ООО «Премьера». В целом состояние почвенного покрова на территории города Кимры Тверской области можно охарактеризовать как благоприятное для проживания населения, растительного и животного мира.

1. Белова А. Н., Савватеева О. А. Исследование автотранспорта в г. Кимры Тверской области. // Успехи современного естествознания. – М.: Академия естествознания, 2016. - С. 510-512
2. Деградация и охрана почв/ Отв. ред. Добровольский Г.В. - М.: Изд-во МГУ, 2002.- 651 с.
3. <http://www.bankgorodov.ru/place/inform.php?id=2606> – BankGorodov.ru. Кимры. Дата обращения: 11.09.16. Режим доступа: свободный.
4. <http://www.opengost.ru/iso/4515-gn-2.1.7.2511-09-orientirovochno-dopustimye-koncentracii-odk-himicheskikh-veschestv-v-pochve.html> – ГН 2.1.7.2511-09 Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. Дата обращения: 10.09.16. Режим доступа: свободный.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ БЫСТРОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ХРОМАТА НА МИКРОВОДОРОСЛИ**

**Габбасова Д.Т., Протопопов Ф.Ф., Тимофеев Н.П., Маторин Д.Н.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, РФ, dilara.gt@yandex.ru

### **Use of parameters of fast chlorophyll fluorescence to evaluate the effect of chromium ions on microalgae**

**Gabbasova D.T., Protopopov F.F., Timofeev N.P., Matorin D.N.**

#### **Использование параметров быстрой флуоресценции хлорофилла для оценки влияния ионов хромата на микроводоросли**

Соединения хрома, особенно хромат-ионы, которые находят в составе сточных вод многих предприятий, являются токсичными для водных экосистем. Они также рекомендованы как эталонный токсикант для проверки чувствительности культуры водорослей в стандартных методах биотестирования (1).

Ранее показано, что при действии этого токсиканта на микроводоросли наблюдается нарушение механизмов согласования процессов метаболизма клеток, подавление

ние двигательной активности микроводорослей, снижение их численности (5), снижение концентрации хлорофилла и нарушение фотосинтеза (7). Показано, что при ингибировании фотосинтеза ионами хромата нарушения затрагивают реакции второй фотосистемы (ФС II) (2, 3, 4, 6).

Изучено действие ионов хромата на культуру морской диатомовой микроводоросли — *Phaeodactylum tricornutum* с использованием флуориметра М-РЕА-2, позволяющий одновременно измерять в миллисекундном интервале индукционные кривые флуоресценции и окислительно-восстановительные превращения пигмента  $P_{700}$ .

Для детальной оценки изменений фотосинтетической активности в клетках *P. tricornutum* измерены индукционные параметры быстрой и замедленной флуоресценции, а также редокс-состояния  $P_{700}$ . Флуоресцентные методы дают подробную информацию о начальных нарушениях активности фотосинтетического аппарата.

Для проведения количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза на основе параметров кинетической кривой О-Ј-I-Р использовали «ЈР-тест». ЈР-тест использует следующие параметры кривой индукции флуоресценции: интенсивность при 20 мкс ( $F_O$ ), 2 мс ( $F_J$ ), 30 мс ( $F_I$ ), 6 с ( $F_{6s}$ ), а также  $F_P$  ( $F_M$ ), максимальная интенсивность флуоресценции) и  $M_O$  (площадь над кинетической кривой ОЈР ниже уровня  $F_M$ ). Эти измеряемые величины использовали для расчета следующих параметров:

$F_V = F_M - F_O$  – Максимальная переменная флуоресценция;

$F_V/F_M$  – Максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в открытых реакционных центрах ФС II:  $F_V/F_M = \phi_{P_O}$ ;

$\phi_{E_O}$  – Квантовый выход электронного транспорта (при  $t=0$ ):  $\phi_{E_O} = 1 - (F_O/F_M) \cdot (1 - V_J)$  где  $V_J = (F_J - F_O)/F_V$ ;

$DI_O/RC = (ABS/RC) - M_O(1/V_J)$  – общее количество энергии, рассеиваемой одним реакционным центром (RC) в виде тепла, флуоресценции или переноса к другой фотосистеме, при  $t = 0$ ;

$ABS/RC$  – Поток энергии, поглощаемый одним активным реакционным центром (РЦ), характеризует относительный размер антенны (ABS):  $ABS/RC = M_O/V_J(1/\phi_{P_O}) = (M_O/V_J) / [(F_M - F_O)/F_M]$ ;

$PI_{ABS}$  – Индекс производительности – показатель функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии:  $PI_{ABS} = [1 - (F_O/F_M)] / (M_O/V_J) \cdot [(F_M - F_O)/F_O] \cdot [(1 - V_J)/V_J]$ ;

$q_E$  – Способность к рН-индуцированному нефотохимическому тушению флуоресценции:  $q_E = (F_M - F_{6s})/F_V$ .

Полученные данные показали, что хромат-ионы могут сильно ингибировать скорость роста морских микроводорослей *P. tricornutum*. Обнаруженная корреляция между измерениями численности клеток микроводорослей по параметру флуоресценции  $F_O$  и прямым измерением количества клеток подтверждает перспективность использования метода флуоресценции при биотестировании вместо длительного и трудоемкого процесса подсчета клеток под микроскопом.

Одновременная регистрация индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции, а также редокс-состояния  $P_{700}$  на приборе М-РЕА-2 позволили вы-

явить первичные стадии воздействия хромат-ионов на реакции фотосинтеза у морских водорослей. Анализ индукционных кривых показал, что одно из первых мест воздействия соединений шестивалентного хрома локализовано на акцепторной части ФС II между  $Q_A$  и  $Q_B$ . Уменьшение квантового выхода электронного транспорта в ФСII, приводит к ингибированию значения индекса производительности ( $PI_{ABS}$ ). Этот параметр оказался более чувствительный по сравнению с  $F_V/F_M$  и может быть рекомендован для биотестирования.

Уменьшение количества активных РЦ и изменение электронного транспорта естественно приводят к нарастанию нефотохимических потерь, связанных увеличением квантовой эффективности рассеивания энергии ( $DI_0/RC$ ) и  $\Delta pH$ -зависимого нефотохимического тушения ( $q_E$ ).

В тоже время при анализе редокс-состояния  $P_{700}$  (ФСI) обнаружено, что реакции окисления  $P_{700}$  у морских водорослей менее чувствительны к соединениям шестивалентного хрома. При этом анализ кинетики темнового восстановления  $P_{700}$  показал, что ингибируется быстрая фаза донирования электронов от пластоцианина и ФС II. В тоже время увеличивается медленная фаза, связанная с циклическим транспортом электронов и стромальных акцепторов. Отмечено влияние на донорную часть ФСII при высоких концентрациях, также указывает на возможность воздействия соединений шестивалентного хрома на этом участке КВК.

Таким образом, данные настоящей работы показывают, что изменение индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции является одним из первых быстро регистрируемых параметров клеток микроводоросли после действия соединений шестивалентного хрома. Эти параметры могут быть весьма эффективно применены для диагностики состояния исследуемых объектов. Параметры могут быть полезными для использования флуоресценции хлорофилла микроводорослей в биотестировании качества воды в естественных и искусственных водоемах.

1. Заядан Б.К., Маторин Д.Н. Биомониторинг водных экосистем на основе микроводорослей // М.: Изд-во "Альтекс". 2015. С. 252.
2. Ali A.N., Dewez D., Didur O., Popovic R. Inhibition of photosystem II photochemistry by Cr is caused by the alteration of both D1 protein and oxygen evolving complex // *Photosynthesis research*. 2006. Т. 89. №. 2-3. P. 81-87.
3. Appenroth K.J., Stöckel J., Srivastava A., Strasser R.J. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements // *Environmental Pollution*. 2001. V. 115. №. 1. С. 49-64.
4. Didur O., Dewez D., Popovic R. Alteration of chromium effect on photosystem II activity in *Chlamydomonas reinhardtii* cultures under different synchronized state of the cell cycle // *Environmental Science and Pollution Research*. 2013. V. 20. №. 3. P. 1870-1875.
5. Giloni-Lima P.C., Delello D., Cremonese M.L., Éler M.N., Lima V.A., Espindola E.L. A study of the effects of chromium exposure on the growth of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) hindak evaluated by central composite design and response surface methodology // *Ecotoxicology*. 2010. V. 19. №. 6. P. 1095-1101.
6. Hörcsik Z.T., Kovács L., Láposi R., Mészáros I., Lakatos G., Garab G. Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa* // *Photosynthetica*. 2007. V. 45. №. 1. P. 65-69.
7. Rai V., Vajpayee P., Singh S.N., Mehrotra S. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L // *Plant science*. 2004. V. 167. №. 5. P. 1159-1169.

# **THE ASSESSING OF THE RIVER MALINOVKA'S ENVIRONMENTAL STATUS ON MACROZOOBENTHOS ORGANISMS AND HEAVY METALS IN THE SEDIMENTS IN IZHEVSK**

**Gabdullina R.I., Kargapoltseva I.A.**

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Udmurt State University, Izhevsk, Russia, Rushana-Gab@yandex.ru

## **Оценка экологического состояния р. Малиновка г. Ижевска по организмам макрозообентоса и содержанию тяжелых металлов в донных отложениях**

**Габдуллина Р.И., Каргапольцева И.А.**

The Izhevsk pond is one of the source of drinking water of the city. Since 2003 citizens of Izhevsk feel the unpleasant smell of water from the Izhevsk pond. The reason of this smell is the mass reproduction of cyanobacterium in the pond. So now the environmental statement of the Izhevsk pond is an ecological and social problem. To evaluate and track the dynamics of change of water quality in Izhevsk pond, it is important to know the state of the catchment area and the rivers flowing into the pond. Malinovka River is the right tributary of the Izhevsk reservoir river.

The purpose of the work is to assess the environmental state of the river on organisms of macrozoobenthos and the content of heavy metals in bottom sediments.

The objectives of the research are:

- to assess the content of heavy metals in bottom sediments of the river Malinovka and to compare them with Belgian standards
- to assess the percentage of organic matter in bottom sediments
- to identify the samples of macrozoobenthos and to define the dominant species of benthos
- to define the number and the biomass of benthos
- to implement the bioindication of the river Malinovka with the index of Woodiwiss and the saprobic index
- to assess the environmental state of the river using the results of chemical analysis of bottom sediments and bioindication.

The studies were conducted in June and in August 2015 with standard methods of hydrobiological studies. 5 research stations were founded where 20 samples of macrozoobenthos were selected - 10 qualitative and 10 quantitative and 8 samples of bottom sediments. In the sampling points the following characteristics were measured: flow rate, water temperature, transparency, depth, type of soil. The biomass of individual species of macrozoobenthos was determined by weighing on torsion balance of BT-500. The content of organic matter in the sediments was determined by incineration in a muffle furnace in the laboratory of experimental and theoretical chemistry UdSU. Determination of heavy metals was carried out in the laboratory of "Izhstal". We determined 4 metals: Mn, Cu, Zn, Ni. In assessing the state of the river bottom communities Malinovka we used Woodiwiss biotic index, and the index Mayer saprobity by Pantle and Buku in Sladecheka modification. In identifying indicator type saprobic index we used atlas of saprobic organisms (1977) and G.H.Scherbina's articles (2010). We calculated Spearman rank correlation (rs) in the program Statistica 6.0 ® for Windows to analyze the data rates. Pre-processing of the data and descriptive statistics were calculated in Microsoft EXCEL 2010 spreadsheet application.

Conclusions:

1. The results of chemical analysis showed that Belgian standards of copper and nickel are exceeded.
2. In august the percentage of organic matter in bottom sediments was less than in June. The content of organic matter increased from springhead to estuary
3. During the research we found there 88 species and taxons of macrozoobenthos from 44 families, 14 orders, 6 classes, 3 types.
4. The dominant groups of benthos were diptera and gastropods.
5. The number of species, the total number and the average biomass of benthos increase from springhead to estuary.
6. The biotic index of Woodiwiss showed that the river Malinovka is moderately polluted. According to the saprobic index the river belonged to the third class of water, it is b-mezosaprobic zone.
7. Chemical analysis and biotic indexes showed that Malinovka is moderately polluted and belonged to the third class of water, it is  $\beta$ -mezosaprobic zone. This class of water can be used for drinking supply after the purification and for fishfarming and irrigation.

## **ВЛИЯНИЕ БЕНЗ(А)ПИРЕНА НА МОРФОБИОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯЧМЕНЯ ЯРОВОГО В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ**

**Гимп А.В., Сушкова С.Н; Минкина Т.М; Нефедова А.А.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, gimp1994@mail.ru

### **The effect of benzo(a)pyrene on morphobiological characteristics of spring barley in conditions of modelling of soil contamination**

**Gimp A.V., Sushkova S.N; Minkina T.M; Nefedova A.A.**

Впервые изучены особенности морфобиометрических характеристик ячменя ярового в условиях загрязнения почвы бенз(а)пиреном (БаП). Исследования проводили в условиях вегетационного опыта, заложенного в 2012г. Почву просеивали через сито диаметром 1 мм и помещали по 2 кг в вегетационные сосуды емкостью 4 л. На поверхность почвы вносили раствор БаП в ацетонитриле из расчета создания концентрации загрязнителя в почве 20,100, 200, 400 и 800 нг/г, что соответствует 1, 5, 10, 20 и 40 ПДК. ПДК БаП в почве составляет 20 нг/г. В качестве контроля использовали исходную почву, а также почву, в которую вносили чистый ацетонитрил. Повторность в опыте – трехкратная.

Почву в сосудах инкубировали в условиях, близких к естественным, под навесом на экспериментальной площадке ЮФУ, в течение 26 мес., поливая ее дистиллированной водой по мере необходимости для поддержания оптимальной влажности. Сосуды засевали тест-культурой через 1 и 2 года после начала инкубирования. В качестве тест-культуры использовали ячмень яровой сорта «Одесский-100». Высев растений производился в 2013 и 2014гг. в первой половине апреля на глубину 5 см в количестве 30 зерен на сосуд. Полив осуществлялся дистиллированной водой по рассчитанной норме полива на заданный объем почвы. В образцах почв и растений определяли содержание БаП методом субкритической водной экстракции.

Для БАП фоновый уровень в почве заповедника несколько превышает его ПДК (20 нг/г), что можно объяснить близостью заповедника к зоне влияния НчГРЭС – источника эмиссии ПАУ. В исходно загрязненных почвах обнаруживали от 84% (доза внесения 1 ПДК) до 99% (доза внесения 10 ПДК) от внесенного БАП. Через 1 год концентрация БАП в почве снизилась на 8-33%. Внесение одного растворителя (контроль с ацетонитрилом) лишь незначительно повлияло на исходное содержание загрязнителя в почве и степень трансформации БАП. Влияние растворителя на содержание БАП в растениях было недостоверным.

Исследования влияния содержания БАП на морфобиометрические характеристики ячменя ярового показали, что в первый год исследований в варианте с внесением 1 ПДК БАП общая длина растений снизилась на 5-10%, загрязнение почв дозами БАП 10ПДК повлияло на снижение длины растений на 15-20%, в вариантах с дозой 20 ПДК длина растений снизилась на 20% по сравнению с контролем. Максимальное влияние на задержку роста растений оказала доза 40ПДК БАП, при внесении которой в почву общая длина растений уменьшилась на 73% по сравнению с контрольными образцами.

Таким образом выявилось негативное влияние на морфобиометрические характеристики ячменя ярового. В первый год исследований, когда деструкция бенз(а)пирена составляла до 33% от изначальной концентрации, наблюдается тенденция снижения общей длины ячменя ярового до отметки 73% от контроля. При повышении фонового уровня БАП в два раза негативные последствия наиболее выражены. При внесении БАП в почву свыше 5ПДК увеличивается биомасса корней ячменя ярового. На морфобиметрии побеговой части растения БАП оказал противоположное влияние от влияния на корневую биомассу – наблюдается снижение высоты побеговой части до отметки 80% от контроля.

#### **Благодарности**

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ № МК-6827.2015.4, РФФИ № 16-35-00347 мол\_а, 15-35-21134.

## **ВЛИЯНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ АГРОТЕХНОЛОГИЙ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ЧЕРНОЗЕМОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Гриднева М.Н., Казеев К.Ш.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, masha.gridneva2011@yandex.ru

### **The influence of alternative agrotechnology on activity catalase of chernosems in Rostov area**

**Gridneva M.N., Kazeev K.Z.,**

ООО «Донская нива» - основным видом деятельности является «Выращивание зерновых, технических и прочих сельскохозяйственных культур, не включенных в другие группировки»

Почвы полей ООО «Донская Нива» согласно Почвенной карте Ростовской области (1985) относятся к черноземам южным и обыкновенным среднетяжелым слабогумусированным.

Опытные поля были заняты различными сельскохозяйственными культурами, возделываемые по технологии прямого посева No till. При этой агротехнологии минимизируется воздействие машин на почву. Традиционная технология с отвальной

вспашкой, боронованием, культивациями применяется на контрольных полях, расположенных в непосредственной близости от опытных полей на расстоянии от 30 до 200 м. Это облегчает сравнение применяемых агротехнологий.

Цель настоящих исследований- оценка влияния альтернативных агротехнологий на активность каталазы черноземов Ростовской области.

Было проведено профильное исследование четырех участков, которые использовались под посев кориандра, озимого ячменя, озимой пшеницы и подсолнечника. Лабораторно-аналитические исследования были выполнены на кафедре экологии и природопользования ЮФУ с использованием общепринятых в экологии, биологии и почвоведении методов (Галстян, 1978; Казеев, Колесников, 2012). Активность каталазы определяли газометрическим способом в августе 2016 года. Исследования проводили в 3-кратной повторности. Данные по уровню ферментативной активности каталазы представлены в таблице.

Таблица. Влияние альтернативных агротехнологий на активность каталазы черноземов Ростовской области.

№	Горизонт	1 повт.	2 повт.	3 повт.	M	Дисп	m	ошибка
1	1D Апах	8,9	12,0	9,7	10,2	2,6	0,9	9
	1D АВ	10,2	9,9	10,2	10,1	0,0	0,1	1
	1D А	12,8	13,7	12,1	12,9	0,6	0,5	4
	1D ВС	9,8	10,2	10,5	10,2	0,1	0,2	2
	1D В	5,6	11,1	10,9	9,2	9,7	1,8	20
	1(контроль)	12,0	13,5	14,0	13,2	1,1	0,6	5
2	2D А пах	9,5	9,5	8,6	9,2	0,3	0,3	3
	2D АВ	9,1	9,4	10,1	9,5	0,3	0,3	3
	2D А	9,8	10,1	9,4	9,8	0,1	0,2	2
	2D В	10,5	7,9	7,9	8,8	2,3	0,9	10
	2(контроль)	18,5	21,0	21,3	20,3	2,4	0,9	4
	3	3D Апах	7,1	7,0	6,9	7,0	0,0	0,1
3D АВ		9,3	8,7	8,5	8,8	0,2	0,2	3
3D ВС		9,5	9,1	9,5	9,4	0,1	0,1	1
3D В		8,8	8,1	8,9	8,6	0,2	0,3	3
3(контроль)		20,5	16,5	16,0	17,7	6,1	1,4	8
4		4D Апах	11,8	11,4	11,8	11,7	0,1	0,1
	4D АВ	12,2	12,3	12,0	12,2	0,0	0,1	1
	4D ВС	6,2	6,1	6,5	6,3	0,0	0,1	2
	4D В	9,4	8,6	9,8	9,3	0,4	0,4	4
	4(контроль)	18,5	16,0	20,5	18,3	5,1	1,3	7

Уровень активности каталазы характеризуется невысокими абсолютными величинами, резкого снижения активности не наблюдается. В целом, по всему профилю отмечается средний уровень активности фермента. По профилю контрольных почв активность плавно снижалась, сохраняясь на высоком уровне до почвообразующей породы. Технология прямого посева No till приводит к незначительному снижению значений активности фермента.

# **НОРМИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ВОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ И СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ**

**Дмитриева Е.С., Тригуб А.Г.**

ФГБНУ "ВНИРО", г. Москва, РФ, katklm18@gmail.com

## **Pollutants rationing for protection of water biological resources and it's enviroment**

**Dmitrieva E.S., Trigub A.G.**

Вода является важнейшим природным ресурсом, без которой не может существовать жизнь на земле и функционировать ни одна отрасль экономики. Происходит не только количественное истощение, но и качественная деградация, как водных ресурсов, так и водных биоресурсов. С 60-х годов началась разработка показателей качества среды для отдельных загрязняющих веществ. Превышение этих показателей является загрязнением окружающей среды, негативно влияющим на человека, растительный и животный мир, включая гидробионтов.

Целью данной работы является обзор законодательных и нормативно-правовых актов, регулирующего отношения в области сохранения водных биологических ресурсов и среды их обитания. Анализ имеющихся нормативов веществ для воды водных объектов рыбохозяйственного значения, лимитирующих звеньев, определяющих значение предельно допустимых концентраций веществ. Проведено сравнение показателей рыбохозяйственных нормативов с санитарно-гигиеническими нормативами.

Важнейшим процессом в сохранении водных биологических ресурсов и среды их обитания является выработка требований к качеству воды водных объектов, как показателю состояния экосистемы, в том числе - разработка нормативов для отдельных загрязняющих веществ и их компонентов.

В Российской Федерации требования, направленные на обеспечение качества воды водных объектов, и сохранение водных биологических ресурсов устанавливаются Федеральными Законами от 03.06.2006 № 74-ФЗ «Водный кодекс РФ»; от 07.12.2011 г. № 416-ФЗ «О водоотведении и водоснабжении»; от 20.12.2004 г. № 166-ФЗ «О рыболовстве и сохранении водных биологических ресурсов»; от 10.01.2002 г. № 7-ФЗ «Об охране окружающей среды».

Следует учитывать, что санитарно-гигиенические нормативы предельно допустимых концентраций (ПДКсан) загрязняющих веществ в воде хозяйственно-бытового и питьевого водопользования ориентированы на сохранение жизни и здоровья человека. Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (ПДКр/х) ориентированы на сохранение водных биологических ресурсов (от 20.12.2004 г. № 166-ФЗ, гл. 6, ст. 47). Под водными биологическими ресурсами подразумеваются рыбы, водные беспозвоночные, водные млекопитающие, водоросли, другие животные и растения, находящиеся в состоянии естественной свободы (от 20.12.2004 г. № 166-ФЗ, гл.1, ст. 1, п.1). В соответствии с ФЗ-№7 от 10.01.2002 г. «Об охране окружающей среды (ст.21, п.2)», ПДКр/х следует относить к нормативу качества окружающей среды.

Нормативы качества воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение, разрабатываются с целью сохранения условий существования гидробионтов, для которых вода является средой обитания.

К водным объектам рыбохозяйственного значения относятся водные объекты, которые используются или могут быть использованы для добычи (вылова) водных



биологических ресурсов, согласно ст. 17 Федерального закона от 20.12. 2004 г. № 166-ФЗ. Категории водных объектов рыбохозяйственного значения и особенности добычи (вылова) водных биологических ресурсов, обитающих в них, устанавливаются федеральным органом исполнительной власти в области рыболовства.

Экспериментальное обоснование ПДКр/х веществ представляет систему комплексных исследований для представителей всех трофических групп гидро-бионтов от бактерий до рыб (значение токсичности вещества). Влияния вещества на водную среду (изменение гидрохимических параметров, органолептики), а также оценку генотоксичности вещества. Полученные экспериментальным путем значения нормативов веществ показывают их концентрации в водной среде, которые соответствуют качеству воды до наступления антропогенного воздействия.

При попадании загрязняющего вещества в водную среду оно способно оказывать прямое токсическое воздействие на организмы различных трофических уровней. Организм, который выдерживает наименьшую концентрацию вещества в воде, является лимитирующим, такая концентрация является максимальной недействующей для водных гидробионтов и определяется как ПДКр/х. Кроме того, загрязняющее вещество в воде способно оказывать воздействие и на качество водной среды - гидрохимические показатели (рН, O<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>), показатели самоочищения (БПК<sub>5</sub>, численность сапрофитной микрофлоры), органолептические свойства (цвет, запах, мутность, и т.д.).

Анализ практики разработки нормативов ПДКр/х показал, что в большинстве случаев лимитирующим звеном оказываются рыбы на разных стадиях развития 47,5%. Далее по чувствительности следует зоопланктон 32,5% и на последнем месте по чувствительности оказались простейшие 0,3%.

Проведя сравнение Перечней ПДКр/х и ПДКсан, установлено, что из 1038 ПДКр/х и 1383 ПДКсан лишь 243 названия совпадают в обоих Перечнях. Из них для 20 веществ ПДКр/х равно 0,00001 мг/л (отсутствие). Из остальных 223 веществ, 24 норматива ПДКр/х и ПДКсан приблизительно равны, разница не более чем в 1,7 раза. 150 санитарно-гигиенических нормативов превышают рыбохозяйственный норматив от 2 до 33 000 раз. Для 49 веществ ПДКсан ниже ПДКр/х, разница между ними от 1,5 до 3500 раз.

Сравнение имеющихся в настоящий момент нормативов веществ в воде показало, что для различных веществ более жесткими могут быть как санитарные, так и рыбохозяйственные нормативы. Поэтому они не могут быть взаимозаменяемыми и должны определяться экспериментально для своей области применения и соблюдаться в зависимости от назначения водного объекта.

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ СРЕДИ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ**

**Долженко М.В. Ажогина Т.Н., Илюшкина Л.Н.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, konspirator10@mail.ru

### **The spread of antibiotic-resistant forms among soil bacteria**

**Dolzhenko M.V., Azhogina T.N., Ilyushkina L.N.**

В настоящее время огромные количества антибиотиков используются человеком в медицине и сельском хозяйстве и приводят к развитию антибиотико-резистентности у микроорганизмов [1], Антибиотики попадают в экосистемы в не-

изменном виде, либо в виде метаболитов, остающихся в основном биологически активными [2]. В связи с тем, что антибиотические препараты попадают в почву в большом количестве, они могут способствовать появлению антибиотикорезистентности у бактерий, что может представлять угрозу человечеству. Поэтому оценка распространения устойчивости бактерий к антибиотикам приобретает все более важное значение [3].

Целью исследования явилось изучение распространения антибиотикорезистентных форм среди представителей доминирующих родов бактерий в почвах рекреационных зон Ростовской области. В связи с этим было произведено определение и интерпретация чувствительности исследуемых родов бактерий к различным антибиотикам. Объектами исследования были доминирующие роды бактерий, выделенные из почв следующих парков: им. Максима Горького (Г) и им. Николая Островского (О) в городе Ростове-на-Дону; Жемчужина Азова (ЖА) и сквер Азова (СА) в городе Азове; Культуры и отдыха (КО) и в Мухиной балке (МБ) в городе Аксае. Поверхностный посев бактерий производился на среду МПА, антибиотикочувствительность бактерий определялась диско-диффузионным методом.

Выбор антибиотиков был обусловлен их распространенностью в клинической практике, а также разными механизмами их разрушающего действия на бактерии: линкозамиды (клиндамицин, линкомицин), тетрациклины (доксициклин) и гликопептидные (ванкомицин) ингибируют синтез белка рибосомами микроорганизмов; цефалоспорины (цефалексин, цефуроксим, цефтазидим) и пенициллины (амоксциллин) подавляют синтез бактериальной клеточной стенки; фторхинолоны (пемфлоксацин) и ансамицины (рифамицин) подавляют синтез или функции ДНК.

По результатам проведенного исследования, было установлено, что цефтазидим не оказал никакого воздействия на 86% бактерий всех исследуемых родов (Табл. 1). Абсолютная резистентность *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp., вероятно, обусловлена тем, что цефтазидим – один из основных АМП, используемых для лечения инфекций, вызванных бактериями этих родов. Он показал эффективность в отношении некоторых штаммов бактерий рода *Bacillus*, но и среди них у 50% наблюдалась умеренная резистентность к нему. Действие препаратов, влияющих на наследственный аппарат клетки (пемфлоксацин и рифамицин), было выражено в наибольшей степени: в 100% случаев. Точно такой же результат показал доксициклин. По отношению к клиндамицину, бактерии показали высокую чувствительность, за исключением бактерий рода *Acinetobacter*, на которые этот антибиотик не оказывал никакого воздействия или обладал бактериостатическим действием. Цефуроксим также не оказал никакого воздействия на представителей этого рода, а 22% бактерий рода *Bacillus* были умеренно резистентны к нему. Линкомицин никаким образом не влиял на рост бактерий рода *Acinetobacter*; он оказывал бактериостатическое действие на все бактерии рода *Agrobacterium* и на 39% бактерий рода *Bacillus*. Отсутствие антибактериального эффекта амоксициллина было обнаружено в отношении бактерий рода *Acinetobacter*; умеренная резистентность к нему наблюдалась у некоторых представителей рода *Acinetobacter* и у 28% бактерий рода *Bacillus*. На ванкомицин, также как и на цефалексин у бактерий рода *Acinetobacter* реакция отсутствовала. К ванкомицину были умеренно резистентны все бактерии рода *Agrobacterium* и 33% представителей рода *Bacillus*, а к цефалексину 44% бактерий рода *Bacillus*.

Таким образом, наиболее высокий уровень антибиотикорезистентности был характерен для бактерий рода *Acinetobacter* – большинство исследуемых антибиотиков (клиндамицин, цефуроксим, цефтазидим, линкомицин, амоксициллин, ванкомицин,

Таблица 1 - Антибиотическая активность различных препаратов (в мм) по отношению к доминирующим родам бактерий в различных парках

Парки	Г		О			МБ	
	<i>Bac.</i>	<i>Bac.</i>	<i>Bac.</i>	<i>Pseud.</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Bac.</i>
Клиндамицин	31±2,2	32,5±2,2	27±2,5	15±0,01	23±0,01	-	34±2
Доксициклин	26,5±2,3	29±2,4	27,3±1,2	24±0,01	-	20±0,01	29±2
Рифамицин	24±3,6	19±3,5	23,3±2,2	33±0,01	18±0,01	24±0,01	25,5±4,5
Цефуросим	14±3	9,5±3	23±2	15±0,01	13±0,01	-	9,5±1,5
Цефтазидим	-	-	7±3,6	-	-	-	11,5±3,5
Линкомицин	18,5±1,2	21±1,2	22±1,5	16±0,01	-	-	12±12
Амоксициллин	23,3±4,2	20,7±4,2	25,6±7,6	19±0,01	12±0,01	27±0,01	30,5±4,5
Ванкомицин	23,8±1,4	23±1,4	23,6±2,2	23±0,01	-	-	20,5±4,5
Цефалексин	14±3,8	10±3,8	9,3±1,3	9±0,01	-	-	10,5±1,5
Пефлоксацин	27±1,5	26,7±1,5	26,7±1,8	23±0,01	28±0,01	32±0,01	27,5±2,5

Парки	ЖА			СА		
	<i>Acinetobacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Bac.</i>	<i>Bac.</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Pseud.</i>
Клиндамицин	11±11	20±0,01	3,3±3	30,7±0,7	26±0,01	37±0,01
Доксициклин	13,5±3,5	18±0,01	28±1	25,7±2,2	25±0,01	33±0,01
Рифамицин	13,5±6,5	18±0,01	19,5±2,5	17,7±2,4	20±0,01	31±0,01
Цефуросим	-	15±0,01	-	7,7±4,3	10±0,01	8±0,01
Цефтазидим	-	-	-	-	-	-
Линкомицин	-	20±0,01	25±1	22,3±3,7	18±0,01	26±0,01
Амоксициллин	-	28±0,01	31,5±10,5	20,3±3,4	27±0,01	40±0,01
Ванкомицин	-	9±0,01	22±1	22,3±0,7	23±0,01	32±0,01
Цефалексин	-	10±0,01	17±1	11,3±0,3	13±0,01	22±0,01
Пефлоксацин	23,5±3,5	12±0,01	27,5±0,5	25,6±0,3	28±0,01	32±0,01

цефалексин) не оказывали на них никакого воздействия. Способность противостоять антибактериальному действию такого множества препаратов объясняется не только приобретенной резистентностью ввиду их широкой распространенности среди возбудителей инфекционных заболеваний, но и природной устойчивостью. Бактерии рода *Agrobacterium* также показали абсолютную резистентность к цефтазидиму и цефалексину. Представители рода *Pseudomonas* проявили полную устойчивость только к цефтазидиму. Наибольшую чувствительность к антибиотикам показали бактерии рода *Bacillus*, т.к. они являются типичными представителями почвенной микрофлоры, не обладая при этом большой патогенностью для млекопитающих, за исключением *Bacillus anthracis*. Ввиду этого, антибиотики по отношению к бактериям данного рода применяются реже, чем по отношению к вышеназванным родам, поэтому бактерии еще не успели выработать защитные механизмы к ним.

1. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш. и др. Экологические последствия загрязнения почв антибиотиками. // Известия Самарского научного центра РАН, 2013. Т. 15, №3 (4). С. 1196-1199.
2. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Динамика ферментативной активности чернозе-

ма обыкновенного при загрязнении антибиотиками // Научный журнал КубГАУ, 2013. № 01 (85). С. 578-587.

3. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. Мук 4.2.1890-04 (утв. Главным государственным санитарным врачом рф 04.03.2004).

## **ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАТУРАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ НА МИКРОБНУЮ БИОМАССУ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ**

**Дударева Д.М., Квиткина А.Н., Севостьянов С.М., Демин Д.В.**

Пушкинский государственный естественно-научный институт, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Институт фундаментальных проблем биологии, г. Пушкино, РФ, [darya\\_dudareva@mail.ru](mailto:darya_dudareva@mail.ru)

### **Estimation of physiologically active concentrations of natural plant growth regulator on microbial biomass gray forest soils**

**Dudareva D.M., Kvitkina A.K., Sevostyanov S.M., Demin D.V.**

Биологическая активность почвы - один из показателей почвенного "здоровья". Микроорганизмы быстро реагируют на стрессовые факторы, изменяя активность, биомассу и структуру сообщества. Их развитие и активность находятся в прямой связи с составом органических и неорганических веществ в среде, так как микроорганизмы способны разрушать соединения естественного и антропогенного происхождения. На этом основаны принципы биоиндикации с использованием микроорганизмов. Необходимо иметь сведения о составе, количестве и функциональной активности последних. В связи с этим целью нашей работы стала оценка влияния натурального регулятора роста растений на микробную биомассу серой лесной почвы и определение физиологически активных концентраций, стимулирующих развитие почвенных микроорганизмов.

В данной работе исследовали ростостимулирующую активность растительного экстракта, приготовленного из картофеля сорта «Импала» в ювенильный период. Известно, что в период прорастания глазков картофеля и начала их интенсивного роста клубни становятся источником питательных веществ, в том числе и фитогормонов, для развивающихся проростков. Экстракт растительного фиторегулятора изготовлен путем ультрафильтрационного фракционирования продуктов механохимической активации растительного сырья (клубней картофеля сорта «Импала») и представляет собой сбалансированный белково-углеводный комплекс, гликозидов, свободных оксикарбоновых и аминокислот, микро- и макроэлементов и фитогормонов.

Серая лесная почва (верхний слой 0-20 см) в воздушно-сухом состоянии была просеяна через сито 2 мм и очищена от растительных остатков. Почву увлажнили до 60% от ППВ и преинкубировали при 22°C. После преинкубации к почве приливали водный раствор растительного экстракта в трех концентрациях – 1 г/л, 0,5 г/л и 0,1 г/л. На 20 г воздушно-сухой почвы приливали 1 мл водного раствора растительного экстракта. Флаконы с почвой, закрытые резиновыми пробками, преинкубировали неделю после увлажнения, и периодически проветривали после измерения базального дыхания. Для определения активности микробной биомассы к каждой пробе до-

бавляли 1,7 мл раствора глюкозы (т.о. довели почву до влажности 80% от ППВ) из расчета 10 мг глюкозы на 1 г почвы.

Базальное дыхание (БД) и субстрат-индуцированное дыхание (СИД) измеряли в лабораторных условиях. Концентрацию  $\text{CO}_2$  определяли на газовом хроматографе “Кристаллюкс-4000” с детектором по теплопроводности. Анализы проводились в шести повторностях. Приведены средние значения и их стандартные отклонения.

Для оценки размера микробной биомассы определяли дыхательный отклик микробного сообщества на внесение легкодоступного субстрата, продолжающийся в течение первых 3-4 часов (Anderson, Domsch, 1978). Суть метода субстрат-индуцированного дыхания заключается в добавлении глюкозы до максимального газовыделения в процессе окисления и соокисления глюкозы микроорганизмами (до начала фазы увеличения численности). По уровню выделения углекислого газа можно оценить количество активной биомассы. Авторы (Anderson, Domsch, 1978) в основу метода заложили три принципа: 1) дыхательный отклик постоянен в течение всего периода измерения; 2) дыхательный отклик прямо пропорционален размеру общей микробной биомассы в почве; 3) отсутствует рост микробной биомассы в почве в течение первых нескольких часов после внесения.

Расчет скорости дыхания производился по формуле:

$$V = (\text{CO}_2 \text{ final} - \text{CO}_2 \text{ start}) * 12 * 60 * 1000 / 100 / 22.4 / t / m,$$

где  $V$  – скорость выделения углекислого газа, мкл  $\text{C}/\text{г}$  почвы в час, 12 – атомная масса углерода, 60 – пересчет из минут в часы, 1000 – пересчет в микрограммы, 100 – пересчет из объемных процентов, 22,4 – молярный объем газа,  $t$  – время накопления углекислого газа в мин,  $m$  – масса навески в г.

Размеры микробной биомассы рассчитывали по формуле:

$$X = 40,04 * R + 0,37,$$

где  $X$  – концентрация микробного углерода почвы, мкг  $\text{C}/\text{г}$  почвы,  $R$  – скорость продуцирования углекислого газа, мкл  $\text{CO}_2/\text{г}$  почвы в час, 40,04 – коэффициент, определенный при  $22^\circ\text{C}$ , для конвертации объема выделившегося углекислого газа в микробную биомассу.

По результатам анализов внесение водного раствора растительного экстракта приготовленного из картофеля сорта «Импала» в ювенильный период стимулирует развитие почвенной биомассы во всех концентрациях. Микробная биомасса в контрольной серой лесной почве составила  $685,15 \pm 28,88$  мкг  $\text{C}/\text{г}$  почвы. При внесении водного раствора растительного экстракта, микробная биомасса увеличилась и составила: при минимальной концентрации  $746,84 \pm 19,43$ , при средней концентрации  $780,13 \pm 34,97$ , при максимальной концентрации  $824,90 \pm 70,83$  мкг  $\text{C}/\text{г}$  почвы. В результате проведенных экспериментов можно говорить о том, что использование данного стимулятора при различных концентрациях не вызвало токсического эффекта, а наоборот стимулировало развитие почвенных микроорганизмов.

# **БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВ РАЗНОГО ГЕНЕЗИСА И РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ДОРОЖНОЙ ПЫЛЬЮ НА ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ**

**Дунаева А.А., Садыков А.Н., Сергиенко О.М., Сусленкова М.М**

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ,  
ana-dun@yandex.ru

## **The biotesting of soils with different genesis and degree of contamination with road dust on plant sprouts**

**Dunaeva A.A., Sadykov A.N., Sergienko O.M., Suslenkova M.M.**

Почвенный покров придорожных территорий загрязняется тяжелыми металлами, нефтепродуктами, поступающими на поверхность почвы, дорожной пылью. Это ведет к токсическому воздействию на растительный покров. Одновременно, сложный состав дорожной пыли влияет на сорбционные характеристики почв и, соответственно, на их водоудерживающую способность и доступность почвенной влаги для растений.

Целью нашей работы явилось исследовать воздействие почв с различным содержанием дорожной пыли на проростки разных видов растений и определить влажность образцов при их устойчивом завядании. Были поставлены следующие задачи: 1) провести биотестирование почвенных образцов разного генезиса и разной степени загрязненности дорожной пылью путем проращивания растений; 2) оценить динамику состояния организмов; 3) определить влажность почвы, при которой происходит устойчивое завядание исследуемых растений. Был использован метод вегетационных миниатюр, исследования проводились на проростках следующих растений: пшеница, овес, горчица и подсолнечник. Для тестирования были выбраны наиболее часто встречающиеся варианты почвенных горизонтов, используемых в городском озеленении в качестве привозных грунтов: (1) гор. А<sub>пах</sub> урбанозема, отобранный на территории Почвенного стационара МГУ, (2) торф низинный обогащенный (ООО "Селигер"), (3) песок карьерный и (4) смесь этих горизонтов. Дорожная пыль была собрана на Минской улице города Москвы в июле 2015 года. Ее внесение в почвенные образцы имитировало 10-летнее поступление при среднем уровне загрязнения. Ежедневно проводился контроль влажности почв, измерение размеров проростков, анализ их внешнего вида, в конце эксперимента измерялась конечная биомасса растений.

Полученные экспериментальные данные показали, что дорожная пыль угнетает рост и развитие растений, причем наименее устойчива к ее токсическому воздействию горчица, в меньшей степени злаковые, а у подсолнечника происходит задержка роста и дальнейшего развития. Определение влажности завядания растений показало закономерно низкие величины, характерные для песка, и высокие - для торфа. Наиболее чувствительными к недостатку влаги являются проростки овса, а наиболее засухоустойчивыми – подсолнечника.

### **Благодарности**

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-04-01851.

## **ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ Cr, Cu, Ni, Pb И НЕФТЬЮ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЕРНОВО-КАРБОНАТНЫХ ВЫЩЕЛОЧЕННЫХ ПОЧВ ПРИЧЕРНОМОРЬЯ**

**Евстегнеева Н.А., Колесников С.И.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, Natalja.evstegneewa@yandex.ru

### **Impact of Cr, Cu, Ni, Pb and oil pollution to the biological properties of the sod-calcareous Soil of the Black Sea coast**

**Evstegneeva N.A., Kolesnikov S.I.**

Дерново-карбонатные почвы составляют значительную часть почвенного покрова Черноморского побережья Кавказа. При этом влияние загрязнения тяжелыми металлами и нефтью ранее подробно было исследовано только на дерново-карбонатные почвы северного склона Кавказа.

Цель работы — влияние загрязнения Cr, Cu, Ni, Pb и нефтью на биологические свойства дерново-карбонатной выщелоченной почвы Причерноморья (Краснодарский край, г. Сочи, Хостинский р-н, мкр. Хоста). Моделировали загрязнение почвы тяжелыми металлами (ТМ) — 100, 1000 и 10000 мг/кг, нефтью — 1, 5, 10 % от массы почвы. ТМ вносили в почву в форме CrO<sub>3</sub>, CuO, NiO, PbO. Состояние почвы было определяно через 30 суток после загрязнения. Определяли общую численность бактерий методом прямой люминесцентной микроскопии, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитическую активность, фитотоксичность почв.

В результате исследований установили, что загрязнение дерново-карбонатной выщелоченной почвы Причерноморья ТМ и нефтью приводит к снижению биологических показателей. Для большинства исследованных ТМ зарегистрирована прямая зависимость между содержанием в почве загрязняющего вещества и степенью снижения биологических показателей. Наиболее значительное негативное воздействие оказал оксид хрома. Оксиды меди, свинца и никеля проявили меньшее токсическое воздействие.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

## **MEDICINAL HERB BIOCHEMICAL ADAPTATION TO THERMAL REGIMES AS A BIOLOGICAL INDICATOR OF STRESS LEVELS**

**Zhivetev M.A., Graskova I.A.**

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry Siberian Branch of RAS, Irkutsk, Russia

### **Биохимическая адаптация лекарственных растений к температурному режиму как биологический индикатор уровня стресса**

**Живетьев М.А., Граскова И.А.**

Our objects of research were leaves from three species medicinal herbs, *Achillea asiatica* (Serg.), *Taraxacum officinale* (Wigg.), and *Pantago major* (L.). Each species grow in the city of Irkutsk and the southeastern shore of Lake Baikal. In leaves of each species, we sought to identify activity of peroxidase, fatty acid content, sugar accumulation, and

stress-induced protein production. In autumn, sugar accumulation, stress-induced protein production, and unsaturated fatty acid content were registered higher in Lake Baikal plants than their Irkutsk counterparts, suggesting an adaptation complex of Baikal herbs. These mechanisms can be used as a biological indicator of stress levels for Baikal plants in their native habitat.

Keywords: medicinal herbs, *Achillea asiatica*, *Taraxacum officinale*, *Plantago major*, adaptation, natural conditions, peroxidase activity, stress-induced proteins

The research sought to assess the stats of both Lake Baikal and the surrounding area as an indirect means to analyze climatic influences. In this attempt, we measured the effect of low temperatures on protein, lipid, and carbohydrate metabolisms by measuring certain signal molecules, including active oxygen forms and peroxidase activity.

For this research, our main objects were three,medicinally herbal species, *Achillea asiatica* (Serg.), *Taraxacum officinale* (Wigg.), and *Plantago major* (L.), that occur naturally within Irkutsk and the southeastern shore of Lake Baikal. In leaves of each species, we measured peroxidase activity, fatty acid content, sugar accumulation, and stress-induced protein production.

Variation in cell wall associated peroxidase as well as soluble peroxidase was identified as dependent upon both the reigning thermal regime and location of growth [1].

With impending negative temperatures, peroxidase activity within Irkutsk-dwelling plants decreased in October. Inversely, for plants located at Lake Baikal, peroxidase activity increased.

The described phenomena can be described as an adaptive mechanism for plants in Irkutsk and the Baikal shore in response to environmental stimuli.

Thermostability and optimal pH of cell wall associated and soluble peroxidases were shown to change in relation to natural habitat location and

season of the year [2]. Additionally, peroxidase activity was variable throughout the vegetation period.

When in a condition of increased hydrogen peroxide presence, a logical increase in peroxidase was observed, preceded by dehydrine expression [3].

An increase in sugar content, functioning as a cryoprotective mechanism, was observed towards the end of the vegetative season [4]. Sugar accumulation in plants on the shores of Lake Baikal was observed to contain lower concentrations than Irkutsk counterparts.

In conclusion, sugar accumulation, stress-induced protein production [5], and unsaturated fatty acid content [6], existing within the leaves of Baikal flora, were noticed higher at Lake Baikal than in Irkutsk. By regularly measuring these biochemical characteristics, the system can be used as system of ecological standing for Baikal plants.

1. Zhivetyev M.A., Graskova I.A., Voinikov V.K. Activity of guaiacol-dependent peroxidase in *Plantago major* L. leaves // *Journal of Stress Physiol.& Biochemistry*. 2013. Vol. 9. I. 3. P. 326-332.
2. Zhivetyev M.A., Graskova I.A., Voinikov V.K. Dependence of guaiacol peroxidase activity on pH in officinal plant leaves // *Journal of Stress Physiol.& Biochemistry*. 2013. Vol. 9. I. 1. P. 283–288.
3. Zhivet'ev M.A., Rachenco E.I., Putilina T.E., Krasnobaev V.A., Graskova I.A., Voinikov V.K. Activity and isoenzyme spectrum of peroxidases and degydrins of some plant species, growing on the shores of Lake Baikal, under abiotic stress // *Journal of Stress Physiol.& Biochemistry*, 2010. Vol. 6. I. 4. P. 42-50.
4. Zhivetev M.A., Graskova I.A., Pomortsev A.V., Voinikov V.K. Water and carbohydrate content at leaf of plants used in medicine during vegetation // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2011. Vol. 7. I. 4. P. 69-79.
5. Zhiveteiev M.A., Kolesnichenko A.V., Graskova I.A., Voinikov V.K. Seasonal Dynamics of stress proteins in leaves of medicinal plants in a natural environment of Irkutsk and on the shores of the Lake Baikal // *Journal of Stress Physiol.& Biochemistry*. 2014. Vol. 10. I. 4. P. 42-50.



6. Zhivet'ev M.A., Graskova I.A., Dudareva L.V., Stolbikova A.V., Voinikov V.K. Change of fatty-acid composition in plants during adaptation to hypothermia // Journal of Stress Physiol. & Biochemistry. 2010. Vol. 6. I. 4. P. 51-65.

## **СПЕКТРАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК И В ПРИРОДНОЙ ВОДЕ ОСТРОВА-ВУЛКАНА АЛАИД**

**Жильцова А.А., Харчева А.В., Лунина О.Н., Рашидов В.А., Пацаева С.В.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, г. Москва, Институт вулканологии и сейсмологии ДВО РАН, г. Владивосток, РФ, a.a.zhiltsova@gmail.com

### **Spectral research of the purple bacterium in cell cultures and in the natural water of the Alaid island-volcano**

**Zhiltsova A.A., Kharcheva A.V., Lunina O.N., Rashidov V.A., Patsaeva S.V.**

Пурпурные бактерии относятся к реликтовым организмам, дошедшим до нас из времен начальной эволюции фотосинтеза. В клетках пурпурных бактерий происходит аноксигенный фотосинтез, в результате которого не выделяется кислород. Местами обитания фотосинтезирующих бактерий в настоящее время являются богатые сульфидами морские лагуны, озера и горячие источники, имеющие анаэробную зону, доступную солнечному свету. Отличительными фотосинтетическими пигментами пурпурных бактерий являются бактериохло-рофилл *a* (Бхл *a*) и каротиноиды; для некоторых видов возможно присутствие Бхл *b*. Летом 2015 и 2016 гг. сотрудниками института вулканологии и сейсмологии ДВО РАН проводились комплексные геолого-географические исследования вулкана Алаид, расположенного на о. Атласова Большой Курильской гряды. В омываемом Охотским морем лавовом потоке в одной из заплесковых ванн была обнаружена уникальная «красная вода», исследования которой показали, что такой цвет не может быть обусловлен составом пород, а вероятнее всего вызван фототрофными микроорганизмами бактериями. Для привезенных из экспедиции образцов природной воды в лаборатории МГУ имени М.В. Ломоносова проведены спектральные исследования как для исходных образцов воды, так и для метанольно-ацетоновых экстрактов. Спектры поглощения измерены в спектральном диапазоне 200-1100 нм на спектрофотометре Unico. Спектры флуоресценции регистрировали в диапазоне длин волн до 820 нм на флуориметре Solar CM2203. Аналогичные спектральные измерения сделаны для нескольких чистых культур пурпурных серных и несерных бактерий, выращенных в Институте микробиологии РАН, а также для их экстрактов.

В спектрах поглощения, как для чистой культуры, так и отобранной пробы природной воды, наблюдались ярко выраженные пики поглощения Бхл *a* с максимумами при длинах волн 375, 600, 810 и 860-870 нм. Небольшие полосы в спектральном диапазоне около 500 нм соответствовали поглощению света каротиноидами. В спектре флуоресценции пробы природной воды наблюдали полосы свечения с максимумами при Полоса испускания Бхл *a* живых клеток пурпурных бактерий находится в спектральном диапазоне 907-915 нм что превышает возможности регистрации использованного прибора.

Анализ полученных данных позволил определить тип присутствующих в пробе природной воды микроорганизмов, придающих воде красный оттенок. Ими оказа-

лись пурпурные несерные бактерии – аноксигенные фототрофные бактерии богатых сульфидами морских водоемов - лагун или заплесковых ванн морского побережья.

**РАЗРАБОТКА БАТАРЕИ КРАТКОСРОЧНЫХ БИОТЕСТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННЫХ И ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ *IN SITU* И В ПРОЦЕССЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ КАЗАХСТАНА**

**Жубанова А.А., Кайырманова Г.К., Акимбеков Н.Ш., Ернazarова А.К., Баубекова А.С., Абдиева Г.Ж., Уалиева П.С., Тастамбек К.Т.**

Казахский Национальный Университет имени аль-Фараби г. Алматы, Казахстан,  
azhar\_1941@mail.ru

**Development of short-term bioassay battery to assess the ecological status of soil and water ecosystems *in situ* and in the process of bioremediation of oil-contaminated sites of Kazakhstan**

**Zhubanova A.A., Kayirmanova G.K., Akimbekov N.Sh., Yernazarova A.K., Baubekova A.S., Abdyieva G.Zh., Ualyieva P.S., Tastambek K.T.**

В современных условиях, при постоянно растущем воздействии техногенных факторов на природную среду, становится необходимым наличие современных биотестов для оценки состояния почв и воды *in situ* и при воздействии различных поллютантов. Главным требованием к ним является их чувствительность к микроколичествам токсикантов.

Подбор биообъектов осуществляется на основе установления их чувствительности к большому спектру химических компонентов, фиксации изменений в качестве и количестве тестовых объектов, а также на основе реакции живого организма на воздействие поллютантов *in situ* и при проведении ремедиационных мероприятий.

Пробы морской и речной воды отбирались стандартным батометром. в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85 «Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод» в весенний период.

Отбор почвенных проб велся по методике, соответствующей условиям ГОСТ 14.4.4.02.-84., ГОСТ-29269-91.

Для микробиологического анализа 1 г почвенного образца увлажняли до состояния пасты, растирали в ступке в течение 3 мин. и в 100 мл стерильной воды готовили суспензию. Высев проводили на плотные питательные селективные среды.

Морфологию клеток микроорганизмов изучали методами световой микроскопии при помощи стериоскопическо-тринокулярного микроскопа MicroOptix MX-1150. Колонии бактерий учитывали на 2-3 сутки, дрожжей и грибов – 5-7 сутки. При посевах использовали разведение  $1:10^2$  и  $1:10^4$ .

Для оценки интегральной токсичности почв и воды проводились модельные эксперименты с использованием в качестве тест-объектов:

1. Клеток бактерий *Pseudomonas putida* AK2, выделенных из почвы.
2. Культуру ракообразных - *Daphnia magna* Straus - представителя ветвистых рачков. Дафнии выделялись нами из трех непроточных водоемов. Для получения накопительных культур в лабораторных условиях дафний из воды перемещали с

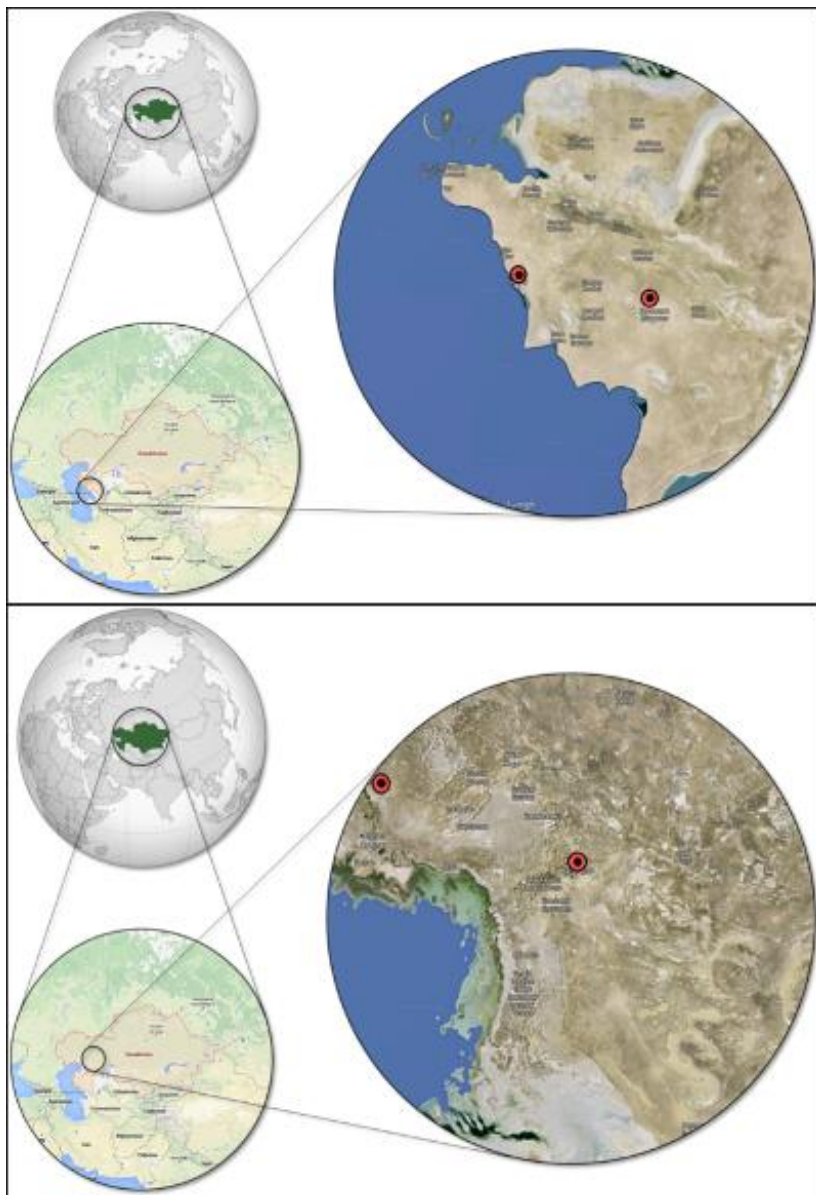


Рисунок 1- Место нахождения точек отбора проб для анализа: сверху - по Актаускому региону, внизу - по Атыраускому региону.

помощью стеклянных трубок в стеклянную емкость с отстоянной водой. Начальная плотность посадки была – 6-10 особей на литр воды.

Видовая принадлежность дафний определялась доц. Б.К.Минсариновой по видовому признаку: постадомен с выемкой.

3. Культура красного калифорнийского червя *Eisenia fetida* (дождевые черви), относящегося к семейству крупных почвенных олигохет, проявляющих высокую чувствительность к действию различных концентраций нефти. Культура была любезно предоставлена профессором Богусаевым К.К. Для определения интегральной ток-

сичности нефти спользовался обыкновенный чернозем, в который вносились различные концентрации нефти. Результаты исследований свидетельствуют, что во всех исследуемых пробах в достоверном количестве были обнаружены жизнеспособные микроорганизмы: в больших количествах обнаружены бактерии на средах MIA и TSA, в меньшем - на других средах, при этом их численность в разных пробах воды колебалась в пределах от  $10^2$  до  $10^5$  КОЕ/г.

Известно, что в биосфере экологическое значение имеют только те микроорганизмы, которые многочисленны и проявляют бурную жизнедеятельность. Однако, в исследуемых нами почвах бактериальный пейзаж в изучаемом регионе относительно беден по своему количественному и качественному составу. Результаты гидробиологических исследований подтвердили высокую техногенную нагрузку и на биоценозы водных экосистем Актау и бедность бактериального пейзажа в изучаемом регионе. Изучение выживаемости дафний свидетельствует о том, что для этих объектов максимально нетоксичной следует считать концентрацию нефти - 0,5 мл/кг, поскольку при концентрации в среде нефти - 0,5 % все дафнии поднимались на поверхность и позднее погибали. Поэтому их переход на границу раздела, где находится пленка нефтепродуктов, можно рассматривать как тест-реакцию, характерную для стадии, предшествующей их гибели. Таким образом, о токсичности нефти и нефтепродуктов можно судить уже через час после начала экспозиции тест-объектов в растворе, т.е. этот метод отличается экспрессностью и высокой чувствительностью. Для установления границ токсичности нефти эксперименты проводились с использованием калифорнийских червей при помощи следующих тестов: кратковременное биотестирование (screening test), тест на поведенческие реакции дождевых червей (avoidance test) и длительное биотестирование (prolonged test). При кратковременном биотестировании определяли *острое токсическое действие* почвы, содержащей нефть в концентрациях 0,02; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 мл /100 г почвы на дождевых червей по их выживаемости и поведенческим реакциям. Показателем выживаемости служило среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой почве или в контроле за определенное время. Критерием токсичности являлась гибель 50 и более процентов дождевых червей за 2 суток в тестируемой почве по сравнению с контролем. Согласно результатам проведенных экспериментов, в концентрации от 0,2 мл и выше на 100 г почвы оказывает негативное воздействие на дождевых червей. Острая токсичность нефти на них наблюдалась при концентрации нефти - 0,4 мл на 100 г почвы. Показателем поведенческих реакций тест-объектов является скорость зарывания в субстрат, а критерием токсичности являлось отсутствие зарывания дождевых червей в тестируемую почву, активное ползание по поверхности земли и попытки к выползанию из ящика (avoidance test). При проведении этого теста, токсическое влияние нефти наблюдалось уже при 0,1 %. При этом отмечалось агрессивное поведение червей и замедление их зарывания в почву. Кроме того, были отмечены и изменения в скорости зарывания червей и их внешнего вида: нарушалась кутикула и эпидермис поверхности тела червей, вплоть до нарушения мышечного покрова. Длительное биотестирование – до 30 суток позволяло определить хроническое токсическое действие почвы на дождевых червей по снижению их выживаемости и плодовитости. Таким образом, *установлено, что дождевые черви могут быть включены в батарею тест-объектов для определения интегральной токсичности почв, загрязненных нефть.*

Разработанная нами батарея биотестов может широко использоваться в различных экологических исследованиях и при проведении ремедиационных мероприятий.

# **ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ДЕГИДРОГЕНАЗЫ СОЛОНЧАКА ГИДРОМОРФНОГО МАРШЕВОГО КАРБОНАТНОГО ПЕСЧАНОГО ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ**

**Залозных С.А., Колесников С.И., Фесенко В.И.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, serg1kzaloznykh@gmail.com

## **A change of the enzyme dehydrogenase of saline hydromorphic cruise carbonate sand**

**Zaloznykh S.A., Kolesnikov S.I., Fesenko V. I.**

Почвы типа солончак характерны для почвенного покрова степей, полупустынь и пустынь. В России такие почвы можно встретить на территории Таманского полуострова. Исследованием солончака гидроморфного маршевого на момент изучения до нас никто не занимался, так как они не играют первоочередной роли для человека.

Цель данной работы - исследовать влияние химического загрязнения тяжелыми металлами и нефтью на активность дегидрогеназы солончака гидроморфного маршевого карбонатного песчаного.

Для модельных экспериментов был использован солончак гидроморфный маршевый карбонатный песчаный (Краснодарский край, Темрюкский район, п. Сенной, 45°19.460' N 37°00.222' E). Почва была отобрана из верхнего слоя (0-10 см), где накапливается основное количество загрязняющих почву веществ.

В почву вносились разные количества загрязняющих веществ тяжелые металлы (ТМ) - 1, 10, 100 ПДК (100, 1000 и 10000 мг/кг соответственно), нефть - 1, 5, 10 % от массы почвы.

ТМ вносили в почву в форме оксидов: PbO, CuO, CrO<sub>3</sub>, NiO, так как значительная доля ТМ поступает в почву именно в форме оксидов (Пендиас, 1989).

Почву инкубировали в вегетационных сосудах при комнатной температуре (20-22 °С) и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости) в трехкратной повторности.

Установлено, что при оценке химического воздействия на почву, ее состояние необходимо определять через 30 суток после загрязнения, для получения наиболее точных данных (Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И., 2008).

Лабораторно-аналитические исследования проводили с использованием общепринятых в почвоведение, экологии, биологии (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991; Казеев, Колесников, 2012).

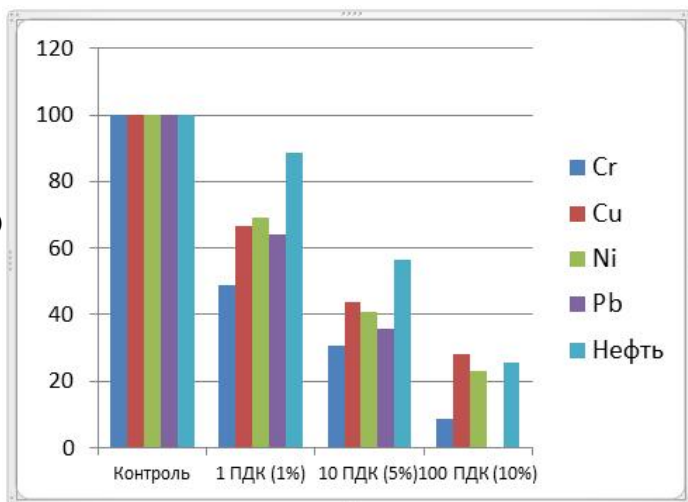
По результатам исследования было выявлено достоверное снижение активности дегидрогеназы солончака гидроморфного маршевого карбонатного песчаного.

Наши исследования показали, что наиболее негативно влияет на активность дегидрогеназы медь, никель, свинец, затем хром. То есть, по степени отрицательного воздействия на активность фермента, выявлен следующий ряд ТМ: Cu ≥ Ni ≥ Pb ≥ Cr.

Негативное воздействие ТМ вызвано их способностью связываться с сульфидрильными группами белков, что нарушает синтез и работу ферментов (Торшин, 1990).

Нефть также оказывала негативное действие на почву, что связано с обволакиванием нефтяными углеводородами почвенных частиц и нарушением водно-воздуш-

(рис.1)



ного режима почвы, содержанием в нефти токсичных веществ (тяжелых металлов, ароматических углеводородов, фенолов и др.), накоплением в почве токсичных продуктов окисления углеводородов (гексадецилового спирта, пальмитиновой, бензойной, салициловой кислот и др.), значительным увеличением соотношения C:N и т.д. (Киреева и др., 1998).

Достоверно сравнить действие нефти и ТМ на активность данного фермента мы не можем, так как невозможно корректно сопоставить их концентрации в почве.

По результатам работы можно сделать вывод: существует прямая зависимость между концентрацией в почве загрязняющего вещества и снижением активности изучаемого элемента почвы (дегидрогеназа).

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

1. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические функции почв и влияние на них загрязнения тяжелыми металлами // Почвоведение. 2002. № 12. С. 1509- 1514.
2. Колесников С.И., Спивакова Н.А., Везденеева Л.С., Кузнецова Ю.С., Казеев К.Ш. Влияния модельного загрязнения нефтью на биологические свойства почв сухих степей и полупустынь юга России // Аридные экосистемы. 2013. Vol. 19. No. 2(55). С. 70-76.
3. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета. 2012.60 с.
4. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. 1989. М.: Мир. 439 с.
5. Торшин С.П., Удельнова Т.М., Ягодин Б.А. Микроэлементы, экология и здоровье человека // Успехи современной биологии. Т. 109. Вып. 2. 1990. С. 279-292.
6. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Хазиев Ф.Х. Активность карбогидраз в нефтезагрязненных почвах // Почвоведение. № 12. 1998. С. 1444-1448.

# ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА СНЕГОВЫХ ПРОБ В РАМКАХ ИЗУЧЕНИЯ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДА ЯРОСЛАВЛЯ

Иовчева А.Д., Учанов П.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н. Северцева, г. Москва, РФ, y\_nastia@mail.ru

## Applying the bioassay method for the analysis of snow samples in the study of technogenic pollution of the Yaroslavl city

Iovcheva A.D., Uchanov P.V.

Метод биотестирования используется для определения токсичности проб воды и почвы. Но можно применять его и для косвенного определения загрязнения атмосферы в отдельном районе, используя в качестве исследуемой среды (тест-объекта) пробы снега (в виде талой воды комнатной температуры) с изучаемой территории.

Снег обладает высокой сорбционной способностью и осаждает из атмосферы на земную поверхность значительную часть поллютантов: сажу и пыль, соединения кислот и тяжелых металлов из аэрозолей, органические соединения. В связи с этим снежный покров является косвенным показателем состояния атмосферы, химические и физико-химические показатели талой снеговой воды позволяют судить о степени антропогенной нагрузки.

В рамках зимней студенческой экспедиции кафедры геохимии ландшафтов и географии почв географического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова проводился мониторинг снежного покрова в Ярославле. Его целью было оценить степень антропогенного воздействия на атмосферу в районе города. Кроме химического анализа талой снеговой воды на некоторые ТМ, бензапирен и нефтепродукты, были проведены два вида биодиагностики: фитотест с использованием культуры «*Raphanus sativus*» (редис посевной) и биотестирование с использованием ракообразных - «*Daphnia magna*». Фитотест проводился пробах № 5, 6, 18, 8, 9, 1, 7, 13 по методике, описанной в пособии «Фитотестирование в экологическом контроле» (Воронина Л.П., Терехова В.А., 2014). Биотестирование с использованием дафний в пробах №5, 6, 18, 19, 9, 14, 1, 7, 13, 12 по - «Биотестирование качества среды с использованием гидробионтов» (Филенко О.Ф., 2015). Выбор проб определялся их приуроченностью к различным функциональным зонам города (промышленная, транспортная) или фоновым положением.

При анализе нефтепродуктов и бензапирена в качестве анализируемого объекта использовался осадок с фильтра, образующийся при фильтрации талой снеговой воды. При анализе ТМ определялось их валовое содержание: твердая фаза (в осадке с фильтра) и водорастворимая (в фильтрате). Для обнаружения ТМ использовался атомно-абсорбционный метод, твердофазный компонент предварительно экстрагировался с фильтра однонормальной  $\text{HNO}_3$ . Концентрации бенз(а)пирена и нефтепродуктов в гексановой вытяжке с фильтров определялись на флюорате методом низкотемпературной спектроскопии высокого разрешения. Полученные концентрации использовались для расчета поступления поллютантов на единицу площади за месячный период залегания снежного покрова. Данные о поступлении нефтепродуктов представлены на рисунках 1 и 2 (Белик А.Д., 2016).

Из табл. 1 видно, что повышенные значения бенз(а)пирена наблюдаются в пробе №8, 18, 19. А в 9 пробе превышен культурно-бытовой ПДК. При этом анализ талой снежной воды на ТМ показывает, что повышенные по сравнению с фоновыми значения ТМ наблюдаются в точках 1, 5, 6 (рис. 2).

Табл. 1. Поступление бенз(а)пирена и нефтепродуктов на единицу площади, содержание нефтепродуктов в снеговой воде, мг/л. Желтым показано – превышение ПДК рыбохозяйственного (0,05 мг/л), красным – превышение ПДК культурно-бытового (0,3 мг/л).

Номер пробы	Поступление бенз(а)пирена, нг на м <sup>2</sup> в мес	Поступление нефтепродуктов, мг на м <sup>2</sup> в мес	Содержание нефтепродуктов снеговой воде, мг/л
Яр16-01-ПАУ	6,3	5,8	0,14
Яр16-05-ПАУ	1,7	2,1	0,04
Яр16-06-ПАУ	2,2	5,0	0,1
Яр16-07-ПАУ	1,1	1,7	0,04
Яр16-08-ПАУ	292,1	3,3	0,06
Яр16-09-ПАУ	0,3	38,4	0,87
Яр16-12-ПАУ	0,7	1,1	0,02
Яр16-18-ПАУ	55,3	6,95	0,16
Яр16-19-ПАУ	49,0	3,1	0,05

Табл. 2. Суммарное поступление твердых и водорастворимых форм ТМ по отношению к фоновым (проба №7 – фон).

поставки ТМ кг/км <sup>2</sup> номер пробы	Pb	Cu	Cd	Cr	Zn
	Яр16-01-ПАУ	1,5	4,5	2,9	10
Яр16-05-ПАУ	1,2	1,1	3,9	1	12
Яр16-06-ПАУ	1,2	1,8	4	1,9	6,5
Яр16-07-ПАУ	1	1	1	1	1
Яр16-08-ПАУ	0,9	0,6	0,9	0,1	0,1
Яр16-09-ПАУ	0,7	1,3	0,7	0	0,7
Яр16-12-ПАУ	0,5	0,5	0,5	1	0
Яр16-18-ПАУ	0,5	0,7	0,7	0	0
Яр16-19-ПАУ	1	1,5	1	0,1	0,2

Биотестирование проводилось с целью получения дополнительной информации о степени токсичности проб и определения организмов, наиболее чувствительных к анализируемым поллютантам. По результатам проведенного биотестирования выяснено, что тест-культура редис посевной мало чувствительна к поллютантам. Заметный токсический фитозффект наблюдался только в пробе №18, где повышена доля бенз(а)пирена. Однако в пробе №8 с максимальной концентрацией бенз(а)пирена наблюдается эффект стимуляции, а не угнетения рис. 1). Так же пробе №9, в которой ПДК по превышен почти в 3 раза, отмечается небольшой эффект стимуляции, а не угнетения. В пробах №1,6,5 содержание ТМ было повышено по сравнению с фоновыми; при этом в пробах №1 и 6 угнетение не наблюдалось, а в №5 наблюдался эффект стимуляции.



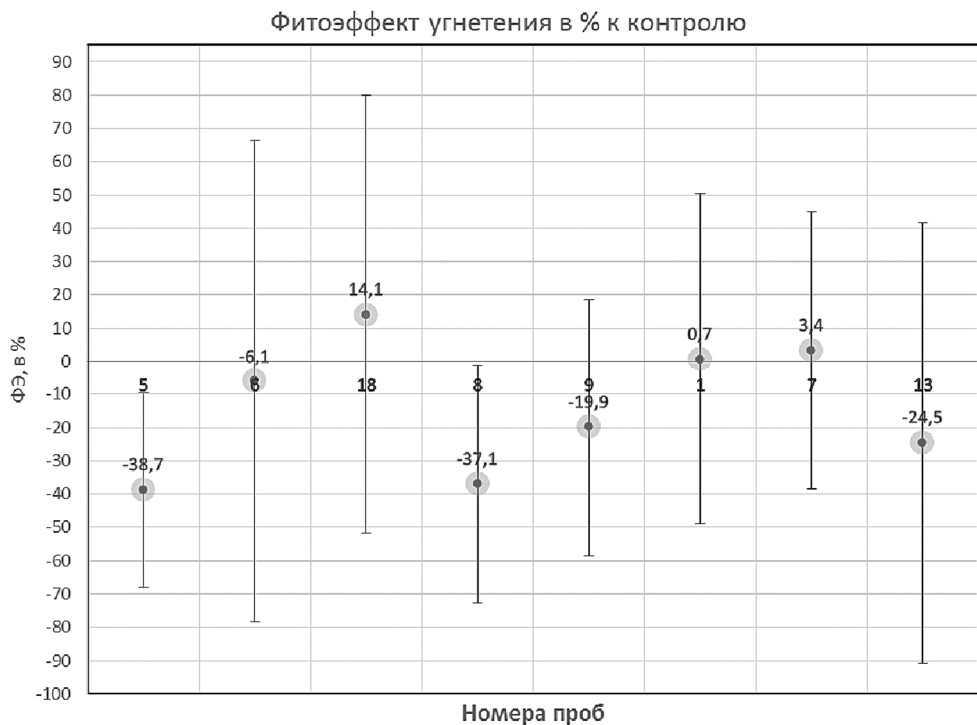


Рис. 1. Фитозффект угнетения в % от контроля.

Биотестирование с использованием дафний в качестве тест-культуры показало большую чувствительность живых организмов к загрязнителям, содержащимся в снеговой воде.

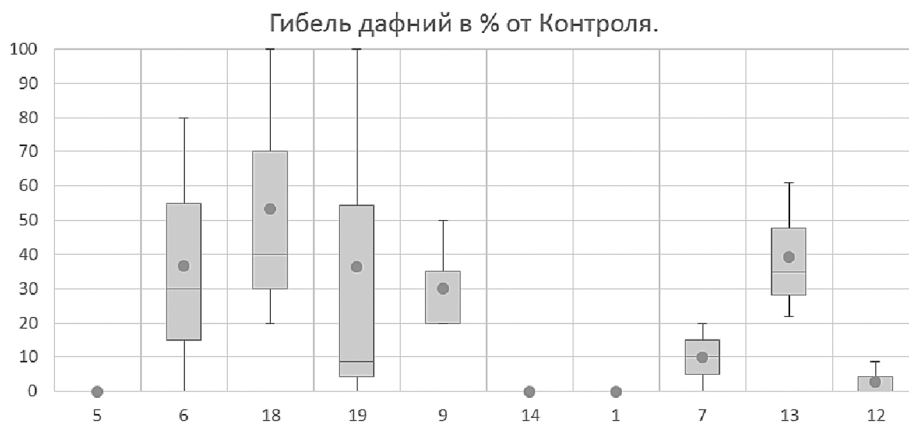


Рис. 2. Гибель дафний в % от Контроля.

Наибольшие значения гибели и, одновременно, наибольший разброс наблюдался в пробах № 6, 18, 19.

В пробах № 18 и 19 обнаружено повышенное содержание бенз(а)пирена и нефтепродуктов, а в пробе №19 также превышение фоновых значений по меди. В пробе №6 обнаружены повышенные, по сравнению с фоновыми, концентрации тяжелых металлов (кадмия и цинка), а высокое содержание углеводов не наблюдалось. Повышенное содержание нефтепродуктов и гибель дафний характерны и для пробы №9.

Гибель дафний и повышенные значения поллютантов характерны для проб, отобранных в определенных функциональных зонах города Ярославля. Повышенное значение бенз(а)пирена наблюдается либо вблизи Ярославского НПЗ (пробы №18, 19), либо вблизи автомагистралей в городе (проба №9). Повышенные поступления тяжелых металлов также тяготеют к транспортным зонам города (к примеру проба №6). В основном гибель дафний происходит в пробах, отобранных с территорий, подвергающихся высокой техногенной нагрузке (Белик А.Д., 2016).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что биотестирование с использованием ракообразных позволяет достаточно эффективно установить токсичность анализируемой снеговой пробы. Однако биотестирование необходимо проводить параллельно с химическими анализами проб, так как живые организмы – это очень сложные системы, чье существование зависит от огромного количества факторов. Иногда они проявляют большую чувствительность не к содержащимся в пробе поллютантам, а к каким-то иным условиям, и результат получается недостоверный. Подробное исследование условий, которые могут мешать достоверности результатов биотестирования, в том числе снеговых проб, – это одна из приоритетных задач экологии.

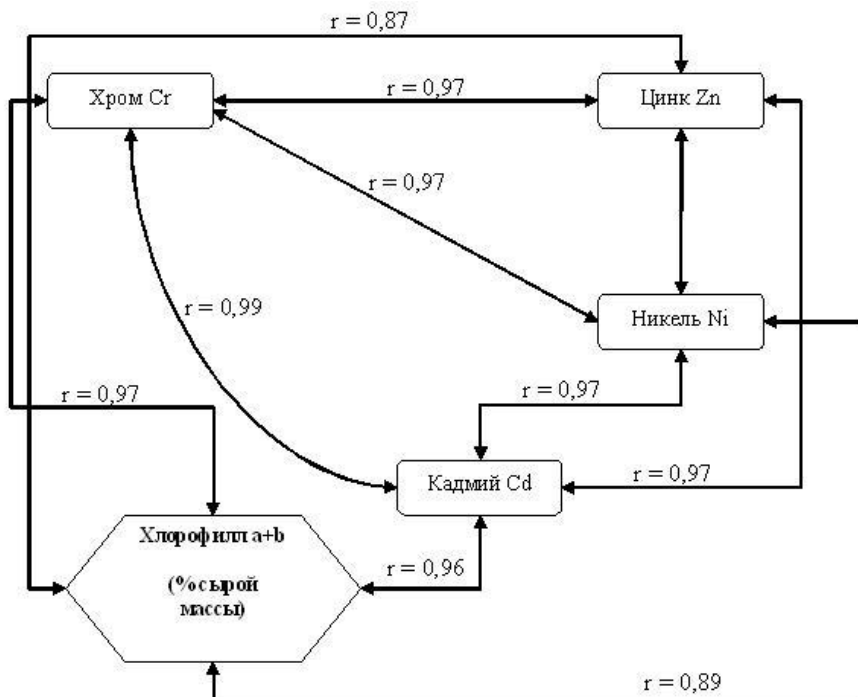
1. Воронина Л.П., Терехова В.А. «Фитотестирование в экологическом контроле». Учебно-методическое пособие к практическим занятиям. – М.: «Доброе слово», 2014. – 32 с.
2. Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф., Гершкович Д.М., Ипатова В.И., Дмитриева А.Г. Биотестирование качества среды с использованием гидробионтов. Учебно-методическое пособие. – М.: МГУ, 2015. – 44 с.
3. Белик А.Д., Волобаев А.А., Иовчева А.Д., Капустина И.С., Михайлова Д.В., Фомичева Д.В. "Эколого-геохимическая оценка снежного покрова г. Ярославль как региональной геохимической аномалии". Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2016». Секция "География". — М.: МАКС Пресс, 2016.

## **ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ МОРСКОЙ ТРАВЫ СЕМЕЙСТВА ZOSTERACEAE (DUMORT) ВОДНОЙ ТЕХНОГЕННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ** **Карapun М.Ю., Айтимова А.М.**

Астраханский государственный технический университет, г. Астрахань, РФ,  
aktay\_misha@yahoo.com

## **Influence of some heavy metals on chlorophyll content in the leaves of the sea grass Zosteraceae family (Dumort) man-made aquatic ecosystems** **Karapun M.Y., Aytimova A.M.**

Как известно, одним из наиболее сильных антропогенных прессингов приводящих к нарушению нормального функционирования экосистем и нарушению жизненно необходимых функций у большинства организмов – является избыточное поступление тяжелых металлов.



Наиболее опасными для растений среди тяжелых металлов считаются Zn, Cd, Ni, главным образом потому, что их техногенное накопление в окружающей среде идет высокими темпами. Многими исследователями уже давно показана четкая зависимость между накоплением тела в тканях растений и его концентрации в среде. Значительно меньшему вниманию уделяется изучение состояния физиолого-биохимических процессов в клетке (Стародубцева, 2010; Богдан, 2012; Казнина, 2016), например, фотосинтезу и дыханию.

В последние годы сильно возрос интерес ученых к морским травам семейства *Zosteraceae* (Dumort) в результате ее гибели, а так же участия в биоценологических связях водоемов. В различной литературе приводятся данные об использовании данного организма в качестве индикатора состояния водоема. По утверждению Carty S.E. (2003) показатели пигментного аппарата являются превосходным сигнализатором ухудшения ситуации в экосистеме. Но пока до сегодняшнего времени нет конкретных количественных данных различных водоемов мира, где встречается данное цветковое растение.

Целью данной работы являлось изучение влияния некоторых тяжелых металлов на содержание хлорофилла в листьях морской травы.

Объектом исследования послужила морская трава – *Zostera noltii* Hornem., являющаяся основной формацией макрофитобентоса экологических зон техногенной экосистемы – озера Караколь (восточное побережье Среднего Каспия). Сбор осуществлялся в различных частях озера в периоды 2011 г. Содержание микроэлементов в пробах растительности определяли атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре «Hitachi» модель 180-50 в пламени пропан-воздух (Андрианов, 2012).

Содержание с апреля по декабрь микроэлементов в морской траве *Z. noltii* Hornem из озера Караколь составило  $54,46 \pm 0,3$  мг/кг для цинка,  $3,12 \pm 0,5$  мг/кг для никеля и  $0,122 \pm 0,8$  мг/кг для кадмия. Содержание цинка в сравнении с показателя-

ми МДУ для кормов в озере Караколь имело незначительное превышение по установленной норме (МДУ = 50,0 мг/кг).

Среднее содержание хлорофилла a+b за исследуемое время составило 0,1794 ± 0,3 мг/50мл.

При статистической обработке полученных результатов был выявлен высокий положительный парный коэффициент ( $r = 0,87-0,97$ ) корреляционной зависимости между концентрациями хлорофилла a+b и Cr-Zn, Cr-Cd, Cr-Ni и др. в траве, собранной в оз. Караколь.

Этот факт может объясняться тем, что погруженные макрофиты (особенно весной и осенью) являются накопителями хром, кадмий, никель и цинк и могут проявлять взаимозамещения друг друга в организме растения.

1. Стародубцева А.А. Экология, физиология и продуктивность zostеры морской *Zostera marina* L. на Белом море. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (03.02.08 - «Экология») (по отраслям). Петрозаводск, 2010. – 180 с.

2. Богдан М.М. Взгляд на проблему: исследование роли макро- и микроэлементов в метаболизме растительных организмов // Исследования в области естественных наук. 2012. № 8. [Электронный ресурс]. URL: <http://science.snauka.ru/2012/08/1020>.

3. Казнина Н.М. Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства роосеае к тяжелым металлам. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук (03.01.05 - «Физиология и биохимия растений»). Петрозаводск, 2016. – 358 с.

4. Carty S.E. *Zostera marina* and *Neotrypaea californiensis* as indicators of ecosystem integrity in Grice Bay, British Columbia : thesis of MSc Botany / S.E. Carty. Vancouver. : University of British Columbia, 2003. - 183p.

5. Андрианов В.А. Оценка качественного состояния ландшафтов Северного Прикаспия с использованием спектральных методов анализа: монография / В.А. Андрианов, Е.Г. Булаткина, Г.И. Сакирко, В.А. Плакитин. Астрахань: изд. Сорокин Р.В., 2012. – 240 с.

## **СОПРЯЖЕННАЯ ФЕРМЕНТАТИВНАЯ СИСТЕМА СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ ДЛЯ АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

**Кириллова М.А., Есимбекова Е.Н., Кратасюк В.А.**

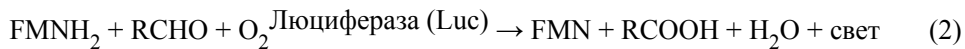
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, [kirillva@mail.ru](mailto:kirillva@mail.ru)

### **Coupled enzyme system of luminous bacteria for analysis of bacterial contamination**

**Kirillova M.A., Esimbekova E.N., Kratasyuk V.A.**

В настоящее время для анализов химических или биологических загрязнений применяются биосенсоры на основе ферментов биолюминесцентных организмов. Так для определения токсических свойств тестируемых веществ используют биосенсор, биомодулем которого выступает ферментативная система светящихся бактерий NADH:FMN-оксидоредуктаза (Red) и люцифераза (Luc) (1,2) [1-2]. Использование выделенных ферментов в качестве тест-объектов позволяет увеличить чувствительность к токсическим веществам и упростить процедуру проведения анализа. Более того, ферментативная система Red + Luc может быть использована для анализа бактериального загрязнения [3]. В этом случае количественный контроль микроорганизмов основан на определении содержания флавиномононуклеотида (FMN) или никотинадениндинуклеотида (NADH) в образце. Действительно, FMN и NADH яв-

ляются коферментами во многих метаболических путях и в то же время субстратами сопряженной ферментативной системы светящихся бактерий Red + Luc.



Целью данной работы было создать новый метод количественного анализа бактериальных клеток в образце, основанный на биолюминесцентной ферментативной системе светящихся бактерий Red + Luc. Были подобраны условия проведения анализа и определена чувствительность анализа к NADH и FMN.

Сопряженная ферментативная система Red + Luc оказалась более чувствительна к NADH, чем к FMN. Пределы обнаружения составили 1,2 нМ FMN и 0,1 пМ NADH. Линейный отклик системы находился в диапазоне от 0,1 пМ до 1 нМ и от 1,2 нМ до 10 мкМ NADH и FMN соответственно.

В качестве модели бактериального загрязнения были использованы клетки *Escherichia coli* штамм BL21 codon Plus (DE3) RIPL. Для проведения анализа содержания NADH или FMN бактериальные клетки первоначально были разрушены ультразвуковым дезинтегратором. Полученную суспензию разбавляли в 2, 3, 4, 5, 8, 10, 16 раз и добавляли в реакционную смесь вместо раствора NADH или FMN, при этом интенсивность свечения биолюминесцентной системы зависела от количества бактериальных клеток в реакционной смеси. Предел чувствительности определяли, как количество клеток, при котором интенсивность свечения биферментной системы в присутствии образца в 3 раза превышала интенсивность фонового свечения. Чувствительность биолюминесцентной системы Red + Luc составила 3,9 млн кл/мл и 800 тысяч кл/мл при использовании в качестве маркера FMN и NADH соответственно.

Из литературы известен метод определения бактериального загрязнения с использованием люциферин-люциферазной системы светляков, при этом анализ основан на определении в образце аденозинтрифосфата (АТФ). Ранее было показано, что чувствительность мутантной люциферазы светляков к бактериальным клеткам может достигать 1 кл/мл [4-5], что на 6 порядков ниже предела обнаружения бактериальных клеток биолюминесцентной системы Red + Luc, представленной в работе.

Таким образом, следует сказать, что сопряженная ферментативная система светящихся бактерий Red + Luc может быть использована только для количественного контроля бактериальных клеток в образцах, в которых количество клеток превышает 800 тысяч кл/мл, в других случаях следует использовать люциферин-люциферазную систему светляков.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 16-14-10115.

[1] Esimbekova E, Lonshakova Mukina V, Bezrukikh A, Kratasyuk V (2015) Design of Multicomponent Reagents for Enzymatic Assays *Doklady Akademii Nauk* 4: 472–475.

[2] Kratasyuk V, Esimbekova E (2015) Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 18: 952-959.

[3] Mei C, Wang J, Lin H, Wang J (2008) Quantitative detection of NADH by in vitro bacterial luciferase bioluminescent *Acta microbiologica Sinica* 49(9):1223-8.

[4] Frundzhyan V, Ugarova N (2007) Bioluminescent assay of total bacterial contamination of drinking water. *Luminescence* 22: 241-244.

[5] Noda K, Matsuno T, Fujii H, Kogure T, Urata M, Asami Y, Kuroda A (2008) Single bacterial cell detection using a mutant luciferase. *Biotechnol Lett* **30**: 1051–1054.

## **ИНДИКАЦИЯ ЭФФЕКТА СЕЛЕНИТА НАТРИЯ ПО НАКОПЛЕНИЮ БИОМАССЫ И АККУМУЛЯТИВНЫМ ПАРАМЕТРАМ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ**

**Кiryushina A.П.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
Emildelfin@mail.ru

### **Indication of the effect of sodium selenite on biomass accumulation and accumulative parameters of spring barley**

**Kiryushina A.P.**

Прогноз изменения состояния дерново-подзолистых почв свидетельствует об усилении дефицита микроэлементов в связи с особенностями почвообразующих пород, влажным климатом и отсутствием источника возобновления [1]. Однако через растения человек и животные из почвы, атмосферы и гидросферы восполняют свои ресурсы для жизнедеятельности. Одним из таких ресурсов является микроэлемент селен (Se). В связи с его недостатком в среде необходимо обогащение им зерновых культур как повседневного продукта в рационе питания. При этом важно понимать воздействие селеновых удобрений на такие показатели, как биомасса, аккумуляция селена и макроэлементов в «зеленых» организмах. Для растений селен не является необходимым, но это, как показывают многочисленные исследования, не исключает его возможности положительно влиять на их рост и развитие при оптимальных концентрациях [3,4].

Цель исследования - оценить влияние нетоксичных для растения концентраций селенита натрия на растительную биомассу и аккумуляцию селена, азота, калия и фосфора в зерне ярового ячменя.

Эксперимент проводился на опытном поле Московской области УОПЕЦ «Чашниково» Солнечногорского района. Использовался метод фолиарной обработки растений в фазу кущения раствором селенита натрия с концентрациями селена 0,01% и 0,05%. Расход рабочей жидкости – 20 мл на 1 м<sup>2</sup>. Контролем служили необработанные растения. Почва дерново-подзолистая: pH – 6,8; содержание гумуса – 3,5%; подвижный фосфор – 31 мг/кг (обеспеченность низкая) обменный калий – 108 мг/кг почвы (обеспеченность средняя). Размер делянок 1 м<sup>2</sup>, в каждом варианте обрабатывали по 4 делянки. Погодные условия соответствовали климатической норме.

Накопление селена в зерне на контрольных площадках было невысоким – 205 мкг/кг. Как известно, это самый нижний порог оптимального содержания, которое позволяет с помощью зерна восполнить суточную потребность организма животных и человека селеном (70-100 мкг в сутки по данным ВОЗ [5]). К оптимальному уровню содержания селена в зерне (508 мкг/кг) привела обработка раствором селенита натрия с концентрацией селена 0,01%. На площадках, обработанных раствором с 0,05 %-ным содержанием селена, зафиксировано превышение максимально допустимого уровня (МДУ) накопления селена в зерне - 1098 мкг/кг. По данным литературных источников для зерновых культур МДУ селена составляет 800 мкг/кг [2].

При обработке раствором селенита натрия с концентрацией селена 0,05% досто-

верно увеличивалась масса зерна в 1,4 раз и масса соломы в 1,4 раз относительно контроля, общая биомасса возросла в 1,5 раза. Увеличилось количество колосьев и зерен в 1,4 и 1,6 раз, соответственно. Однако при этом уменьшалась масса 1000 зерен (с 47 до 41 г), что свидетельствует о мелкости зерна в варианте с обработкой 0,05 % Se в сравнении с контролем. Содержание общего азота при 0,01 % Se не менялось, а при 0,05 % Se возрастало на 7%. Количество белкового азота увеличивалось при обеих концентрациях селена на 10% (при 0,01% Se) и на 11% (при 0,05% Se). Возможно это было вызвано тем, что зерно было мелким. Доля белкового азота значительно увеличилась только при обработке 0,01%Se (с 83 до 97%). Содержание фосфора было в пределах 0,9% во всех трех вариантах, а содержание калия в пределах 0,6%. Вынос азота, калия и фосфора с зерном возрастал пропорционально росту массы зерна.

Таким образом, сравнивая эффект селена по показателям накопления растительной биомассы и аккумуляции элементов, следует заключить, что воздействие на прирост биомассы и накопление селена в зерне выражено в большей степени, чем на аккумуляцию азота в зерне. Изменений по содержанию фосфора и калия под влиянием селена не было. При этом важно отметить, что селен способствовал возрастанию числа зерновок в колосе, но индуцировал мелкозернистость (масса 1000 зерен в опытных вариантах ниже, чем в контроле). Увеличение азота в зерне под действием селена свидетельствует о росте коэффициента использования азота из почвы.

1. Ermakov V.V. Problems of extremal geochemical ecology and biogeochemical study of the biosphere// Biogeochemistry and Geochemical Ecology. M.: Publ. GUN NPC TMG MZ RF. 2001. P. 98-144.
2. Golubkina N. A. Selenium Accumulation by Cereals in Russia // Russian agricultural sciences. 2007. Vol. 33, No. 5. P. 288–291.
3. Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., & Khan, S. Z. Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. // Ecotoxicology and environmental safety. 2015. № 113, P.191-200.
4. Вихрева В.А., Блинохватов А.А., Клейменова Т.В. Селен в жизни растений: монография. Пенза: РИО ПГСХА, 2012. 222 с.
5. Третьяк Л.Н., Герасимов Е.М. Специфика влияния селена на организм человека и животных (применительно к проблеме создания селеносодержащих продуктов питания) // Вестник ОГУ. 2007. №12. С. 136-146.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛАБИЛЬНЫХ ФОРМ ИОНОВ ЦИНКА В ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ**

**Козлов М.А., Волкова Ю.А., Злобин И.Е., Карташов А.В.**

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, г. Москва, РФ, kozlov.mikhail.a@gmail.com

### **Determination of labile forms of zinc ions in plant tissues by fluorescent probes**

**Kozlov M.A., Volkova Y.A, Zlobin I.E., Kartashov A.V.,**

Тяжелые металлы (ТМ) являются одними из самых опасных загрязнителей городских почв. Обладая высокой химической токсичностью и характеризуюсь длительным периодом полужизни, они представляют опасность не только для человека, но и для растительных организмов.[1] В частности, цинк способен вызывать у растений ингибирование фотосинтеза, нарушение транспорта ассимилятов и мине-

рального питания, изменение водного и гормонального статусов организма и торможение роста.[2] Степень токсического действия цинка на растение определяется той фракцией металла, которая находится в цитоплазме в лабильной и реакционноспособной форме, т.е. либо в виде свободных ионов, либо в виде относительно непрочных растворимых комплексов с низкомолекулярными органическими соединениями, такими как органические кислоты, глутатион и т.д.[3] В связи с этим, при проведении экологического мониторинга зеленых насаждений мегаполиса актуально оценивать не только суммарное содержание цинка в растительных тканях, но и наличие в растениях свободных («подвижных») или непрочно связанных с органическими соединениями ионов  $Zn^{2+}$ . Настоящая работа была направлена на разработку эффективного метода оценки степени техногенного загрязнения растений ионами цинка.

На сегодняшний день единственным известным инструментом для определения временной и пространственной динамики лабильных форм ТМ в живых клетках являются флуоресцентные маркеры – соединения, для которых характерно значительное изменение уровня флуоресценции в результате связывания с ионами металлов.[4] Из числа современных флуоресцентных систем как наиболее подходящие для реализации поставленной цели по своим физико-химическим характеристикам были выбраны красители 4,4-дифтор-4-бор-3а,4а-диазо-*s*-индаценового ряда (далее - сокращённо BODIPY). Выбор был обусловлен тем фактом, что BODIPY характеризуются высокими значениями коэффициентов поглощения в УФ-диапазоне, острой формой линий в спектрах флуоресценции, относительно высокими значениями квантовых выходов, устойчивостью при физиологических значениях pH, химической инертностью и хорошо предсказуемыми на основании структуры флуоресцентными свойствами [5]. При разработке оригинальной флуоресцентной пробы для определения лабильных форм цинка в тканях растений, были использованы общие приемы органического синтеза, ЯМР-спектроскопия, МАСС-спектрометрия, флуориметрия, световая и флуоресцентная микроскопия.

На первом этапе выполнения работы была осуществлена сборка 2,6-диэтил-1,3,5,7-тетраметил-4,4-дифтор-4-бор-3а,4а-дизаинденцевого каркаса, содержащего в *мезо*-положении хлорметильный заместитель **3**. Синтез был реализован в две стадии путем конденсации 2,4-диметил-3-этилпиррола **1** с хлорацетилхорилом **2** и последующим комплексообразованием с  $BF_3 \cdot Et_2O$  (Схема 1). Для детектирования ионов цинка в молекулу BODIPY **3** по *мезо*-положению была введена хелатирующая группа - бис(2-пиридилметил)амин, известная как селективный лиганд на ионы цинка,[6] что впервые позволило получить сенсор на цинк ZS-1.

Для соединения ZS-1 были изучены основные фотохимические, как в свободном состоянии, так и в виде комплексов с ионами различных металлов ( $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ); показана его селективность по отношению к ионам  $Zn^{2+}$ .

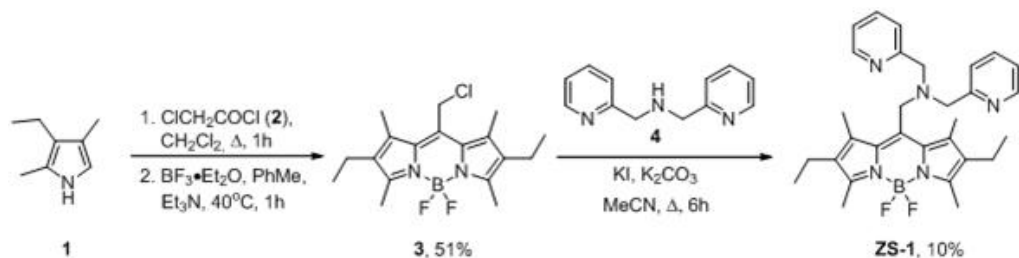


Схема 1. Синтез соединения ZS-1.



Взаимодействие красителя с ионами цинка было исследовано *in vitro* методом флуориметрического титрования раствора красителя в 100%-м ацетонитриле с использованием раствора трифлата цинка. Обнаружено, что молекулы красителя взаимодействовали с ионами цинка в соотношении 1:1, а уровень флуоресценции молекул красителя при связывании с ионами металла возрастал примерно в 3.2 раза.

После этого краситель был использован для детектирования изменения уровня лабильного цинка в корнях растений, произраставших в условиях избытка цинка. Было обнаружено, что в условиях избыточного содержания цинка в питательной среде значительно возросло содержание лабильного цинка в клетках ризодермы корня по сравнению с корнями контрольных растений (Рис.1А). Одновременно с этим в условиях избытка цинка отмечалось нарушение целостности мембран клеток ризодермы корня (рис.1Б) и снижение активности внутриклеточных эстераз (рис. 1В), свидетельствующее о снижении уровня жизнеспособности клеток корня.

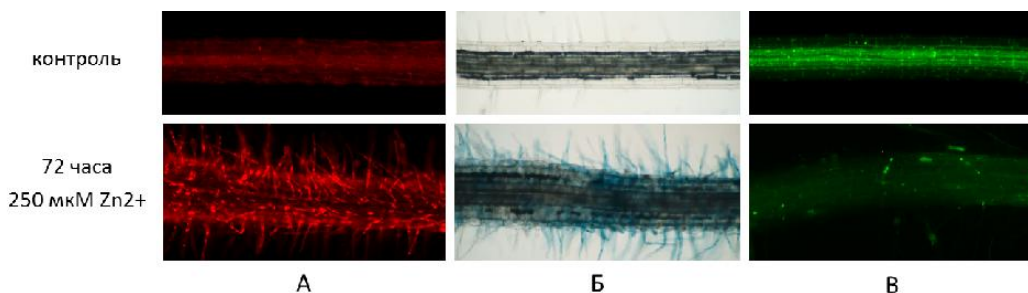


Рис.1. Степень повреждения мембран (А), уровень жизнеспособности (Б) и содержание лабильного цинка (В) в клетках корня рапса

Таким образом, возрастание содержания лабильных форм цинка в тканях приводило к развитию в них повреждающих эффектов избытка цинка.

Таким образом, нами был разработан селективный флуоресцентный сенсор для индикации лабильных форм цинка в тканях растений. Его достоинствами являются, высокое пространственное разрешение, чувствительность и стабильность при физиологических рН, что делает его перспективным инструментом для оценки уровня накопления цинка различными компартментами органов растений и определения роли отдельных тканей в накоплении ионов цинка.

1. Limura R., Ito H., Chino M. Proc. Inst. Sem. Tokyo. 1977. p. 357-364.
2. Ricachenevsky F.K., Menguer P.K., Sperotto R.A., Fett J.P. Plant Sci. 2015, 236, 1-17.
3. А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен. Институт биологии КарНЦ РАН. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 172 с.
4. JinfuZhao, BryanA. Bertoglio, MichaelJ. DevinneyJr, KirkE. Dineley, andAlanR. Kay. Anal Biochem.2009, 384, 34–41.
5. H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P.L. Choyke, Y. Urano. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging. Chem. Rev.2010, 110, 2620–2640.
6. (a) Hancock, R. D. J. Chem. Educ.1992, 69, 615–621. Steed, J. W., Atwood, J. L. Supromolecular Chemistry; A John Wiley and Sons, Ltd., Publication: New York, 2009; pp 17–22 and 129–140. (b) Mizukami, Sh.; Okada, S.; Kimura, S.; Kikuchi, K. Inorg. Chem.2009, 48, 7630–7638. (c) Goldsmith, Ch. R.; Lippard, S. J. Inorg. Chem.2006, 45, 555–561 (d) Xu, Zh.; Yoon, J.; Spring, D. R. Chem. Soc. Rev.2010, 39, 1996–2006.

## **ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИИ NO-TILL НА ПОЧВЕННУЮ МЕЗОФАУНУ**

**Колесников В.Ю. Якимова А.С., Полторацкая Т.А.,  
Мокриков Г.В., Казеев К.Ш.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, 3trigun3@bk.ru  
Effect of No-Till technology on soil mesofauna

**Kolesnikov V.Y, Yakimova A.S. Poltoratskaya T.A., Mokrikov G.V., Kazeev K.Sh.**

В современном мире, в условиях санкций очень важное место занимает решение вопроса продовольственной безопасности. Технология No-Till повышает урожайность, при этом экономя большое количество ресурсов, что положительно сказывается на экологическом состоянии окружающей среды. Также, применение технологии восстанавливает плодородный пласт грунта и практически полностью предотвращает его эрозию, способствуя восстановлению и защите плодородия почвы. В климатических условиях юга России лимитирующим фактором в растениеводстве является засуха, в связи с этим южный федеральный округ даже относят к зонам рискованного земледелия, при использовании альтернативной агротехнологии снижается зависимость урожая от погодных условий.

Традиционная сельскохозяйственная технология, широко распространенная в России связана с постоянным перемешиванием пахотного слоя почвы в процессе вспашки, культиваций, боронований и др. Эта агротехника, наряду с высокими энергозатратами, приводит к деградации почвы: снижению содержания гумуса, переуплотнению, увеличению эмиссии углекислого газа и количества сорняков, эрозии, иссушению почвы, разрушению почвенной структуры. В настоящее время темпы развития современных ресурсосберегающих технологий в России значительно отстают от общемировых, например, по технологиям сберегающего земледелия обрабатывается менее 2% сельскохозяйственных угодий.

Цель исследования – изучить влияние альтернативных агротехнологий No-Till на численность и биологическое разнообразие беспозвоночных животных герпетобионтов почв ООО «Донская нива» в Ростовской области.

Для выполнения работы в июле-августе 2016 на полях ООО «Донская нива» были заложены ловушки Барбера в 10-кратной повторности на 4-6 суток с использованием в качестве фиксирующей жидкости разбавленного уксуса. Определение и учет беспозвоночных проводили в лабораториях кафедры экологии и природопользования Академии биологии и биотехнологии им Д.И. Ивановского Южного федерального университета с использованием.

Опытные поля были заняты различными сельскохозяйственными культурами (озимая пшеница, ячмень, подсолнечник, масличный лен, нут, донник, кориандр), возделываемые по технологии прямого посева No-Till. При этой агротехнологии минимизируется воздействие машин на почву. Традиционная технология с отвальной вспашкой, боронованием, культивациями применяется на контрольных полях, расположенных в непосредственной близости от опытных полей на расстоянии от 30 до 200 м. Это облегчает сравнение применяемых агротехнологий.

Исследуемая территория занята черноземами обыкновенными с разной степенью выщелоченности от карбонатов и разной мощности. Почвы характеризуются благоприятными водно-физическими свойствами и химическим составом и пригодны под все полевые культуры, районированные в данной зоне.

Проведенные во влажный период (начало июня) исследования герпетобионтов показали значительные различия в их обилии и разнообразии. Значительное влияние на исследуемые параметры оказали выращиваемые на полях сельскохозяйственные культуры и фазы их развития. Различия в биоразнообразии и обилии животных на полях, занятых разными культурами были большими, чем на полях с разным типом обработки земель. Из 28 исследуемых полей менее половины были засеяны одинаковыми культурами и потому их можно было сравнивать между собой. При таком подходе было выявлено незначительное различие герпетобионтов на смежных полях с разной обработкой. При этом далеко расположенные друг от друга поля с одинаковой обработкой различались по разнообразию более, чем в два раза, а по численности более, чем в 4 раза. В сухой период наблюдения (конец июля) исследуемые параметры существенно изменились. В целом снизилась численность герпетобионтов, изменился и их таксономический состав. Однозначного вывода по влиянию новой технологии в сравнение с традиционной сделать не удалось. На опытных полях с зерновыми численность герпетобионтов была понижена, а на полях с подсолнечником, наоборот, выше, чем на контрольных. Разнообразие организмов на полях зерновых с разной технологией обработки колебалась не закономерно, а на подсолнечнике разнообразие незначительно превосходило контрольные значения. При этом в первый срок наблюдения на полях с подсолнечником результаты были противоположными.

В результате проведенных исследований в большинстве случаев значительного однозначного расхождения в разнообразии и количестве герпетобионтов между опытными и контрольными полями не было обнаружено. Выявляемые отличия связаны с занятостью полей различными сельскохозяйственными культурами, фазами их вегетации и сроками наблюдений.

#### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО "Донская Нива" и ИП Мокриков В.И.

### **ПРИМЕНЕНИЯ БИОТЕСТА С ALLIUM SEPA L. ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛАНТАНА**

**Котельникова А.Д., Фастовец И.А., Рогова О.Б., Сушков Н.И., Пашкевич Е.Б., Столбова В.В., Щеглов А.И.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Почвенный институт им. В.В. Докучаева, г. Москва, РФ, a.d.kotelnikova@gmail.com

#### **Application of Allium test for lanthanum genotoxicity assessment**

**Kotelnikova A.D., Fastovets I.A., Rogova O.B., Sushkov N.I., Pashkevich E.B., Stolbova V.V., Sheglov. A.I.**

Непрерывный рост населения приводит к необходимости интенсификации сельского хозяйства. Специалисты находятся в постоянном поиске способов увеличения продуктивности выращиваемых культур, но не все из них оказываются безвредными. Так, в Китае получили широкое распространение удобрения, включающие в себя редкоземельные элементы (РЗЭ). Рядом исследователей были показаны положительные эффекты, оказываемые на рост и развитие растений представителями этой группы металлов (Hu et al., 2004). Но предпринимаемые в

настоящее время попытки подробнее изучить действие РЗЭ на живые организмы говорят об их возможной токсичности (Gonzalez et al., 2014), что делает актуальной дальнейшую проработку этого вопроса.

Помимо данных об общих токсических эффектах биотесты помогают засечь изменения в процессе деления клеток и генетические нарушения, что немаловажно, так как последние могут передаваться последующим поколениям организмов. Одним из таких инструментов является биотест с луком репчатым *Allium cepa* L., который получил широкое распространение, после того как был впервые предложен в 1994 году (Fiskesjö, 1994). Изучение нарушений митоза необходимо для понимания механизмов воздействия РЗЭ на растения. В то же время данные о влиянии РЗЭ на процесс деления клеток практически отсутствуют (de Oliveira et al., 2015). В настоящем исследовании была предпринята попытка изучить влияние различных концентраций  $\text{La}^{3+}$  на процесс клеточного деления с применением биотеста с *Allium cepa* L.

Тест проводили с луковицами *Allium cepa* L. для следующих концентраций  $\text{LaCl}_3$  в растворе в пересчете на  $\text{La}^{3+}$ : 0 (контроль, дистиллированная вода), 10, 20, 50, 100 и 200 мг/л с пятью повторностями для каждой концентрации. Луковицы проращивали при нормальном освещении и температуре 20-25 °С в течение 5 суток, корни прикрывали от прямого попадания света. После проращивания кончики корешков фиксировали в фиксаторе Кларка в течение 24 часов, а затем переводили на долговременное хранение в 70% спирт.

После окрашивания корешков ацетоорсеином под микроскопом проводили подсчет клеток. Около 3000 клеток анализировали для каждой повторности (луковицы). Учитывалось нахождение клеток в различных стадиях митоза: интерфазе, профазе (П), метафазе (М), анафазе (А) и телофазе (Т), а также наличие aberrантных клеток. По полученным данным рассчитывали митотический индекс (МІ) и частоту aberrантных клеток (ЧА) (Tkalec et al., 2009):  $\text{МІ} = (\text{П} + \text{М} + \text{А} + \text{Т}) / \text{Общее число клеток} * 100$ ;  $\text{ЧА} = \text{Число aberrантных клеток} / \text{Общее число клеток} * 100$ .

Было показано уменьшение МІ (разница средних  $\pm$  95% доверительный интервал по t-критерию) по сравнению с контролем на  $3,59 \pm 2,94$ ;  $3,67 \pm 1,57$ ;  $4,89 \pm 1,99$ ;  $6,43 \pm 2,2$ ;  $5,78 \pm 1,51$  % соответственно в вариантах с концентрациями  $\text{La}^{3+}$  10, 20, 50, 100, 200 мг/л. Статистический анализ полученных данных при помощи рангового теста Данна показал значимое отличие от контроля значений МІ для концентраций  $\text{La}^{3+}$  100 и 200 мг/л. Анализ частоты aberrантных клеток показал значимое увеличение этого показателя относительно контроля только для варианта опыта с концентрацией  $\text{La}^{3+}$  50 мг/л. Кроме того, было обнаружено статистически значимое по критерию Данна уменьшение длины корня во варианте с концентрацией  $\text{La}^{3+}$  200 мг/л по сравнению с контролем.

Наблюдаемые нами результаты свидетельствуют о потенциальной генотоксичности  $\text{La}^{3+}$  в этих концентрациях. Наши результаты согласуются с данными, полученными при использовании пшеницы (*Triticum durum*) в качестве тест-объекта, которые показали уменьшение МІ при тестировании нитрата La в диапазоне концентраций  $\text{La}^{3+}$  от 1,4 до 1400 мг/л (d'Aquino et al., 2009). При этом другими исследователями показано положительное влияние лантана в концентрациях 2,8-22,2 мг/л на пролиферативную активность клеток при использовании корешков сои (de Oliveira et al., 2015). Эти противоречия можно объяснить как видоспецифической реакцией

растительных тест-объектов на добавление лантана, так и различающимся действием низких и высоких концентраций.

Таким образом, очевидна необходимость продолжения работ по изучению влияния лантана и других РЗЭ на живые организмы, так как, во-первых, использование их в качестве микроудобрений может оказаться небезопасным и, во-вторых, концентрации этих металлов увеличиваются в окружающей среде, вследствие их значимости в развитии мировой экономики и расширяющегося использования в самых разных сферах человеческой деятельности.

1. Gonzalez V., Vignati D. A., Leyval C., Giamberini L. Environmental fate and ecotoxicity of lanthanides: Are they a uniform group beyond chemistry? // *Environment international*. – 2014. – Т. 71. – С. 148-157.
2. Hu Z., Richter H., Sparovek G., Schnug E. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review // *Journal of plant nutrition*. – 2004. – Т. 27. – №. 1. – С. 183-220.
3. Fiskesjö G. Allium test II: Assessment of a chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L // *Environmental Toxicology and Water Quality*. – 1994. – Т. 9. – №. 3. – С. 235-241.
4. de Oliveira C., Ramos S.J., Siqueira J.O., Faquin V., de Castro E.M., Amaral D.C., Techio V.H., Coelho L.C., e Silva P.H.P., Schnug E., Guilherme, L.R.G. Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants // *Ecotoxicology and environmental safety*. – 2015. – Т. 122. – С. 136-144.
5. Tkalec M., Malarić K., Pavlica M., Pevalek-Kozlina B., Vidaković-Cifrek Ž. Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2009. – Т. 672. – №. 2. – С. 76-81.
6. d'Aquino L., de Pinto M.C., Nardi L., Morgana M., Tommasi F., 2009. Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in *Triticum durum*. *Chemosphere* 75, 900-905.

## **БЕНЗ(А)ПИРЕН В ВОДОЕМАХ: ГИБЕЛЬ ИЛИ ПРОЦВЕТЕНИЕ ЭКОСИСТЕМ?**

**Кравченко Е.И., Учанов П.В.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н. Северцева, г. Москва, РФ, [krav4enko\\_elena@mail.ru](mailto:krav4enko_elena@mail.ru)

### **Benzopyrene in waterbodies: destruction or prosperity of ecosystems?**

**Kravchenko E.I., Uchanov P.V.**

В комплексных исследованиях, посвященных экологическому мониторингу за состоянием различных водных объектов, как природных, так и техногенных, помимо лабораторных химических анализов, все большее внимание уделяется методам биотестирования. Главное достоинство этих методов заключается в том, что они дают представление о тенденциях развития экосистемы исследуемого водоема. Биотестированием называется процедура установления токсичности проб по реакции стандартизированных тест-организмов. Под термином токсичность понимают способность веществ вызывать нарушения физиологических функций живых организмов. В ходе зимних экспедиционных исследований Научным Студенческим Обществом кафедры Геохимии Ландшафтов и Географии Почв (ГЛиГП) географического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова в качестве объекта исследования была взята река Салгир, самая длинная река Крыма (ее протяженность превышает 2000 км). В

ходе более ранних исследований (Эколого-геохимические особенности аквальных ландшафтов рек Крымского полуострова в зимний период, 2015) было выявлено, что это река является самой загрязненной рекой Крыма ПАУ, в частности по концентрации бензапирена, что связано с влиянием г. Симферополь, через центр которого протекает Салгир. Целью исследований было выявление степени воздействия антропогенного загрязнения реки Салгир бенз(а)пиреном и изучения токсичности воды по реакциям простейших (*Paramecium caudatum*). Пробы воды и взвешенных веществ были отобраны в 4 точках: в истоке реки, выше Симферополя, в центре города и ниже Симферополя. Пробы отбирались в приповерхностном слое. Методика отбора воды соответствует требованиям ГОСТа (31861-2012). В каждой из отобранных проб был сделан анализ на содержание бензапирена методом низкотемпературной спектрофлуориметрии (ГОСТ Р 51650-2000) и была проведена оценка токсичности с помощью тест-культуры равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* по методическому пособию (Терехова, Воронина, 2014). Критерием острой токсичности являлась гибель инфузорий в тестируемых пробах по отношению к контролю, превышающая 50%, критерием токсичности – гибель более 10% особей. По результатам испытаний «острая токсичность» не выявлена ни в одном из исследованных образцов. Однако смертность простейших превышала 10%. Выживаемость инфузорий изменялась в градиенте расстояния – снижалась по мере удаления от устья реки.

При этом по результатам химических анализов повышенное содержание бензапирена было отмечено в пробах, отобранных в истоке, выше по течению относительно города и в городе Симферополе, далее концентрация снижалась.

Сопоставляя данные о содержания бенз(а)пирена и токсичности для инфузорий, можно сделать вывод, что наличие бенз(а)пирена не является лимитирующим фактором для выживаемости инфузорий. Возможно, существуют другие действующие факторы.

1. Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.В., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев С.В., Попутникова Т.О., Рахлеева А.А., Самойлова Т.А., Филенко О.Ф. Биотест-системы для задач экологического контроля: Методические рекомендации по практическому использованию стандартизированных тест-культур. М.: «Доброе слово», 2014 г. 48 с.

## **ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК СНЕЖНОГО ПОКРОВА ГОРОДА ОМСКА ЗА 2014-2016 ГОДЫ**

**Кубасова Д.А., Реховская Е.О.**

Московский государственный технический университет им Н.Э. Баумана, г. Москва, Омский государственный технический университет, г. Омск, РФ, diindynia@mail.com

### **Assessment of changes in the characteristics of the city of Omsk snow for 2014-2016 years**

**Kubasova D.A., Rehovskaya E.O. Ph.D.**

Омск – промышленный город. За последние несколько лет вклад передвижных источников в суммарные выбросы загрязняющих веществ в атмосферу увеличился с 55% до 65 %. Снежный покров на прилегающих территориях поглощает и накапливает разнообразные загрязнения.

Цель работы: исследование и анализ снежного покрова г.Омска за 2014-2016 гг.

Результаты исследований: в талой воде (снега) определили наличие нитратов, фосфатов, хлоридов, ионов аммония, жесткости по стандартным методикам.

Показатель pH в 2014 году у обочины на перекрестках составил 7,3-7,7, а на удалении от дороги 6,5, в 2016 году – 8,5 у обочины и 6,5 – на удалении, т.е. снег имеет щелочную среду, и, скорее всего, сильно загрязнен автомобильными выхлопами.

Нитрат ионы ( $\text{NO}_3$ ) в пробах снега обнаружены на улицах пр. Мира на пересечении с ул. Нефтезаводская и ул. Химиков (1,25 и 0,364). Путь попадания в окружающую среду – автомобильные выхлопы и близлежащие ТЭЦ. Минимальное содержание нитратов отмечено у ДК им. Малунцева – 0,10 и на ул. Поселковая – 0,19. С 2014 по 2016 показатели остаются прежними.

Максимальное содержание фосфат ионов отмечено на пр. Мира (Кристалл – 1,07) и у ОмГТУ – 0,89. Минимальное содержание фосфатов отмечены по ул. Химиков и на пр. Мира (пересечение с Нефтезаводской) (0,04 и 0,07).

Наибольший показатель окисляемости отмечен на пр. Мира – 13,4 и по ул. Химиков – 10,5. Можно предположить, что данные участки подвержены сильному воздействию хозяйственной деятельности человека и содержат органические вещества. По мере удаления от дороги показатель окисляемости снижается, а на ул. Поселковая он минимальный 1,59. В 2016 году этот показатель значительно снизился 0,44-0,1.

Максимальный показатель минерализации ( $\text{NaCl}$ ) отмечен на пр. Мира (Кристалл – 114,3) и у ДК им. Малунцева (481,2), что связано с наличием перекрестков, и как следствие, применением хлористого натрия на дорогах в периоды борьбы с гололедом.

Хлориды – токсичные вещества, максимальная концентрация которых в снеге отмечена вдоль крупных автомагистралей: пр. Мира и ул. Химиков (от 837,8 до 1384,5). При удалении от дороги на 30-50 метров концентрация хлоридов уменьшается до 17,04.

Во всех пробах снега отмечалось превышение ПДК ионов аммония. Максимальная концентрация у ОмГТУ и по ул. Химиков (от 1,15 до 1,51).

Индекс токсичности определяли по прорастанию семян гороха в талой воде. Были взяты семена гороха по тому, что они наиболее восприимчивы к токсичности в воде. В пробах погибло от 80 до 100% семян гороха в 2014 г., и 99% в 2016г., т.е. возросла токсичность исследуемого снежного покрова.

Таким образом, наблюдается рост практически во всех исследуемых показателях. Это связано, прежде всего, с увеличением количества автомобильного транспорта на дорогах, работой промышленных предприятий, с отсутствием достаточного количества насаждений, способных аккумулировать некоторые виды загрязнений и воздействием хозяйственной деятельности человека.

# ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ГИДРОБИОНТОВ РАЗЛИЧНОЙ СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Ложкина Р.А., Томила И.И.

ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Ярославская область, РФ, [Lozhkina.roza@yandex.ru](mailto:Lozhkina.roza@yandex.ru)

## The effect of solutions of salts of rare earth of hydrobionts of different various systematic status

Lozhkina. R.A., Tomilina I.I.

Интенсивное развитие новых технологий на основе использования редкоземельных элементов (РЗЭ) и все более возрастающая потребность в них привели в последнее время к заметному расширению масштабов их производства, а также расширению ассортимента содержащей их продукции и областей её применения. РЗЭ используются в различных отраслях техники: радиоэлектронике, приборостроении, машиностроении, химической промышленности, металлургии, сельском хозяйстве и др. (Баренбойм и др., 2014). В связи с возрастающим масштабом поступления РЗЭ в окружающую среду в первую очередь в водоемы (Pavlov et al., 2005), многие авторы обращают огромное внимание на токсическое действие РЗЭ на водные организмы (Lürlinga, Tolmana, 2010), но информации об их токсичности для водных организмов недостаточно (Barry, Meehan, 2000; Jin et al., 2009; Sun et al., 1997). В России установлены ПДК для питьевой воды для Eu (0,3 мг/л) и Sm (0,024 мг/л) (СанПиН, 2010), для пресной воды - La (0,01 мг/л) (Рыбальский, 1989).

Цель работы – экспериментальная оценка токсического воздействия редкоземельных элементов на гидробионтов различной систематической принадлежности.

В работе использовались следующие соли РЗЭ: лантан сернокислый 8-водный  $\text{La}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , нитрат гадолиния 5-водный  $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , хлорид церия 7-водный  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , нитрат церия 6-водный  $\text{CeNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  и церий сернокислый 8-водный  $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ . Исследуемые концентрации в опытах получали путем последовательного разведения отстоянной водопроводной водой.

Содержание РЗЭ в исходных растворах и природной воде водохранилищ измеряли при помощи масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой (Taylor, 2001).

Токсическое действие солей РЗЭ исследовали по стандартным методикам на лабораторных культурах цериодафний *Ceriodaphnia affinis* Lillijeborg, 1862 (Методика определения токсичности, 2007) и дафний *Daphnia magna* Straus, 1826 (Методика определения токсичности, 2007а), а также икромечущей аквариумной рыбке *Danio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822 (Методы испытаний химической продукции, 2014).

Летальные концентрации РЗЭ определяли в остром опыте при экспозиции 48 ч в 3-х кратной повторности (табл.1). Среднюю летальную концентрацию  $\text{LC}_{50}$  по элементу устанавливали графическим способом.

Исследование уровней содержания РЗЭ в воде Угличского и Рыбинского водохранилища показало, что в Угличском водохранилище максимальные концентрации La и Ce составляли 0,26 мкг La/л и 0,63 мкг Ce/л. В Рыбинском - 0,08 мкг La/л и 0,15 мкг Ce/л. Следовательно, в этих водохранилищах РЗЭ возможно могут обладать хроническим токсическим действием по стимуляции размножения зоопланктона.



Таблица 1. Острая токсичность РЗЭ LC<sub>50-48</sub> (мкг РЗЭ/л) на гидробионтов различной систематической принадлежности

анион	Катион	<i>Ceriodaphnia affinis</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Danio rerio</i>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	La <sup>2+</sup>	64.27	84.73	169.05
	Ce <sup>3+</sup>	34	60.46	137.87
NO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>	Ce <sup>3+</sup>	17.58	10.12	133.4
	Gd <sup>3+</sup>	17.03	0.78	150.09
Cl <sup>-</sup>	Ce <sup>3+</sup>	13.28	31.5	171.1

Таким образом, временные ПДК установленные в России нуждаются в уточнении и поправках. Тк установлено, что токсичность РЗЭ зависит не только от катиона, но и от связанного с ним аниона.

- Баренбойм Г.М., Авандеева О.П., Коркина Д.А., 2014. Редкоземельные элементы в водных объектах (экологические аспекты) // Вода: химия и экология. № 5. С. 42–56.
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. 2007. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.03222. М., АКВАРОС. 41 с.
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. 2007. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.03221. М., АКВАРОС. 56 с.
- Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Краткосрочное испытание токсичности на эмбрионах и предличинках рыб. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32541-2013. М., Стандартиформ, 2014. 20 с.
- Рыбальский Н.Г. Экологические аспекты экспертизы изобретений: справочник эксперта и изобретателя. – М.:ВНИИПИ, 1989. – Ч.1. – С.139.
- СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. 2010. [http://www.stroyoffis.ru/sanpin\\_sanitar/sanpin\\_2\\_1\\_4\\_1074\\_01/sanpin\\_2\\_1\\_4\\_1074\\_01.php](http://www.stroyoffis.ru/sanpin_sanitar/sanpin_2_1_4_1074_01/sanpin_2_1_4_1074_01.php)
- Barry M.J., Meehan B.J., 2000. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata* // Chemosphere. V. 41. P. 1669–1674.
- Jin X., Chu Z., Yan F., Zen Q., 2009. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* // Limnologia. V. 39. P. 86–93.
- Lürilinga M, Tolmana Y., 2010, Effects of lanthanum and lanthanum-modified clay on growth, survival and reproduction of *Daphnia magna* // Water Research. V 44. № 1. P.309-319.
- Pavlov D.F., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Pancratova Yu., 2005. Distribution of trace elements in freshwater ecosystem compartments of man-made Rybinsk Reservoir (Central Russia) using epithermal neutron activation analysis // Ovidius University Annals of Chemistry. V. 16. № 1. P.72–75.
- Sun H., Wang X.-R., Wang L.-S., 1997. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck: influence of chemical species // Chemosphere. V. 34. P. 1753–1760.
- Taylor H.E., 2001. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques. San Diego: Academic Press, 2001. 294 p.

# РАЗРАБОТКА РЕГИОНАЛЬНЫХ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ Cr, Cu, Ni, Pb И НЕФТИ В КОРИЧНЕВЫХ КРАСНОЦВЕТНЫХ ПОЧВАХ (ТЕРРА-РОССА) КРЫМА

Ляшенко Ю.В., С.И. Колесников

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, lyashenko.yulia@ukr.net

## Develop of regional norms of contents of Cr, Cu, Ni, Pb, and oil for red-brown soil (terra rossa) of Crimea

Lyashenko Y.V. Kolesnikov S.I.

Коричневые красноцветные почвы являются одними из самых редких почв России. Они встречаются только в Крыму. Степень их устойчивости к химическому загрязнению не исследована.

Цель данной работы — исследовать влияние при загрязнении нефтью и тяжелыми металлами (Cr, Cu, Ni, Pb) на биологические свойства коричневых красноцветных почв Крыма.

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) и нефтью моделировали в лабораторных условиях.

Почву отбирали в окрестностях поселка Никита, Республика Крым. Использовали верхний слой почвы 0-10 см, так как в нем задерживается большая часть загрязняющих веществ в непахотных почвах.

Исследовали Cr, Cu, Ni и Pb, поскольку этими ТМ в значительной степени загрязнены почвы Черноморского побережья Кавказа. Кроме того, эти металлы интересны для сравнения, так как их предельно допустимые концентрации (ПДК) составляют 100 мг/кг почвы. Использовали значения ПДК, разработанные в Германии. Во-первых, потому, что ПДК в почве общего (валового) содержания меди и никеля в России отсутствуют. Во-вторых, «российская» ПДК свинца зачастую не может быть использована, так как меньше содержания этого элемента во многих почвах.

ПДК нефти в почве не разработана, поэтому ее содержание в почве выражали в процентах.

ТМ вносили в почву в количестве 1, 10, 100 ПДК (100, 1000 и 10000 мг/кг соответственно), нефть — 1, 5, 10 % от массы почвы. Содержание ТМ в почве до 100 и даже более ПДК нередко встречается в районах предприятий металлургической, химической и топливной промышленности. Загрязнение почвы до 10 ПДК, помимо названных источников, обычно вызвано автотранспортом и/или сельскохозяйственными мероприятиями — использование минеральных удобрений, пестицидов, протравителей семян. Загрязнение почвы нефтью до 10 % от массы почвы и более часто встречается в районах нефтедобычи, транспортировки и переработки нефти.

Использовали оксиды ТМ: CrO<sub>3</sub>, CuO, NiO, PbO. Во-первых, значительная доля ТМ поступает в почву именно в форме оксидов. Во-вторых, использование оксидов ТМ позволяет исключить воздействие на свойства почвы сопутствующих анионов, как это происходит при внесении солей металлов.

Почву инкубировали в вегетационных сосудах при комнатной температуре (20-22°C) и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости) в трехкратной повторности.

Биологические свойства почвы определяли через 30 суток после загрязнения. При оценке химического воздействия на биологическое состояние почвы этот срок является наиболее информативным.

Лабораторно-аналитические исследования были выполнены с использованием общепринятых методов. Определяли общую численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитическую активность, фитотоксические свойства почвы.

На основе вышеперечисленных биологических показателей определяли интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы.

В результате исследования было установлено, что загрязнение коричневой красноцветной почвы хромом, медью, никелем, свинцом, нефтью приводит к ухудшению ее состояния. Как правило, наблюдалось достоверное снижение исследованных биологических показателей общей численности бактерий, активности каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитической активности, обилия бактерий рода *Azotobacter*, длины корней редиса, ИПБС.

Статистически достоверного стимулирующего действия ТМ и нефти на биологические свойства коричневой красноцветной почвы зафиксировано не было, хотя такой эффект малых доз загрязняющих веществ нередко наблюдали на более устойчивых к загрязнению почвах, например, черноземах.

Негативное воздействие ТМ на живые организмы вызвано с их способностью связываться с сульфгидрильными группами белков, что нарушает синтез и работу ферментов и проницаемость биологических мембран, а в результате и обмен веществ.

Негативное действие нефти на биологические процессы в почве связано с обволакиванием нефтяными углеводородами почвенных частиц и нарушением водно-воздушного режима почвы, содержанием в нефти токсичных веществ (тяжелых металлов, ароматических углеводородов, фенолов и др.), накоплением в почве токсичных продуктов окисления углеводородов (гексадецилового спирта, пальмитиновой, бензойной, салициловой кислот и др.), значительным увеличением соотношения C:N и т.д.

Степень снижения биологических показателей зависела от природы загрязняющего вещества и его концентрации в почве.

Как правило, наблюдали снижение значений биологических показателей с увеличением количества загрязняющего вещества в почве.

Поскольку ПДК всех четырех исследованных ТМ одинаково — 100 мг/кг — возможно корректное сравнение их токсического действия по отношению к исследованным биологическим показателям. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее значительное негативное воздействие оказал хром. Свинец, медь и никель проявили меньшее по силе воздействие.

Ряд токсичности ТМ по отношению к коричневым красноцветным почвам выглядит следующим образом: Cr > Ni > Cu = Pb.

Схожая закономерность была получена в исследованиях, проведенных ранее, с другими почвами Юга России.

Ранее Колесниковым с соавторами было установлено, что при уменьшении ИПБС почвы менее чем на 5 % в почве нарушения экологических функций не происходит, при снижении значений ИПБС на 5-10% изменяются информационные экотипы, на 10-25 % — химические, физико-химические, биохимические и целостные, на 25 % и более — физические.

Используя результаты проведенных исследований были построены уравнения регрессии, отражающие зависимость снижения значений ИПБС от содержания в почве того или иного загрязняющего вещества. По этим уравнениям были рассчита-

ны концентрации загрязняющих веществ, при которых происходит нарушение тех или иных групп экологических функций почвы. На основании полученных данных предложена схема регионального экологического нормирования загрязнения коричневых красноцветных почв Крыма.

На основе результатов настоящего исследования и данных, полученных ранее (Вернигорова и др., 2015), была проведена сравнительная оценка почв Крыма по устойчивости к загрязнению ТМ: черноземы остаточно-карбонатные (74) > черноземы южные (69) > темно-каштановые солонцеватые (63) ≥ **коричневые выщелоченные красноцветные (62)** ≥ горно-луговые (61) ≥ коричневые карбонатные (59) > бурые лесные (46).

Коричневые выщелоченные красноцветные почвы более устойчивы к загрязнению ТМ, чем горно-луговые и бурые лесные, так как имеют более высокие значения рН и более устойчивы, чем коричневые карбонатные, которые имеет значительно меньшее содержание гумуса.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

- 1.Вернигорова Н.А., Колесников С.И., Казеев К.Ш. Оценка устойчивости почв и наземных экосистем Крыма к химическому загрязнению. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2015. 126 с.
- 2.Орлов Д.С., Малинина М.С., Мотузова Г.В., Садовникова Л.К., Соколова Т.А. Химическое загрязнение почв и их охрана. М.: Агропромиздат, 1991. 303 с.

## **ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗАЛ. ВОСТОК (ЗАЛ. ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОЕ МОРЕ) НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМБРИОТЕСТА С ПЛОСКИМИ МОРСКИМИ ЕЖАМИ**

**Мазур М.А., Мазур А.А., Журавель Е.В.**

Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, РФ, angelove91@mail.ru

**Assessment of the bottom sediments toxicity from the Vostok Bay (Peter The Great Bay, Japan Sea) according the results of the embryotest with sand dollars**

**Mazur M.A., Mazur A.A., Zhuravel E.V.**

Биотесты с эмбрионами и личинками морских ежей традиционно применяются для оценки токсичности загрязняющих веществ, загрязнения морских вод и донных осадков с 60-х годов XX века [2]. За длительное время их использования были разработаны различные подходы к их выполнению, учету и обработке результатов, предложены стандартные протоколы для выполнения биотестов [4]. Согласно большинству предложенных методик тестирования, процедура продолжается 48-72 часа до достижения личинками стадии среднего плутеуса, подсчитывается доля нормальных и аномальных личинок. Однако токсичные вещества могут вызывать как замедление развития морских ежей, так и формирование уродливых эмбрионов и личинок, неспособных к дальнейшему развитию. Для количественной оценки токсиче-

ского и тератогенного потенциала донных осадков была разработана шкала и предложена методика расчета интегрального индекса токсичности донных осадков (ИТИ) [3].

Для оценки токсичности донных осадков зал. Восток использовали гаметы, эмбрионы и личинки плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis*, широко распространенного в зал. Петра Великого. Результаты тестирования показали, что в водных вытяжках из донных осадков, отобранных вдоль западного и северного побережий заливов количество нормально развивающихся эмбрионов и личинок было достоверно ниже, чем в контроле (5-80% на стадии гастрюлы, 1-81% на стадии раннего плутеуса). Нормальные средние плутеусы в протестированных пробах не развивались. Значения ИТИ к стадии среднего плутеуса достигали 6-7,5 при значении в контроле 0,04. При этом донные осадки, отобранные вдоль восточного побережья залива, оказывали незначительное эмбриотоксическое воздействие, значения ИТИ составляли 0,44-0,48.

Известно, что наибольшему антропогенному воздействию подвергаются западное и северное побережья залива, где сосредоточены рыбоперерабатывающие предприятия и места массового летнего отдыха. Ранее здесь были выявлены повышенные концентрации тяжелых металлов [1]. Таким образом, результаты биотестирования достоверно отражают состояние морских донных осадков и могут применяться в экологическом мониторинге прибрежных акваторий.

1. Khristoforova N.K., Naumov Yu. A., Arzamastsev I.S. Heavy metals in bottom sediments of Vostok Bay (Japan Sea) // Izv. TINRO. 2004. Vol.136. P. 278-289.
2. Kobayashi N. Marine ecotoxicological testing with echinoderms // Ecotoxicological testing for the marine environment /Eds.: .G. Persoone, E. Jaspers and C.Claus. Bredene, Belgium: State Univ. Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., 1984. Vol. 1. P. 341-405.
3. Morroni L., Pinsino A., Pellegrini D., Regoli F., Matranga V. Development of a new integrative toxicity index based on an improvement of the sea urchin embryo toxicity test // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.026>
4. US EPA. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms. 1995. EPA/600/R-95/136.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ СРЕДЫ ADA<sub>M</sub> В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ НА ПРИМЕРЕ *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG Мерзеликин А.Ю. Гершкович Д.М.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [renarked@gmail.ru](mailto:renarked@gmail.ru)

### **Using ADA<sub>M</sub> medium in toxicological investigations on the example of *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg Merzelikin A.Y., Gershkovich D.M.**

Одним из методов определения токсичности, который получил широкое распространение, является метод биотестирования. В связи с популярностью биотестирования ключевое значение приобретает стандартизация методов исследования токсичности проб воды, водных вытяжек, а также новых ксенобиотиков для гидробионтов.

Сходимость и воспроизводимость результатов во многом зависят от условий культивирования тест-объектов и проведения экспериментов. Проблема водоподго-

товки играет большую роль при проведении биотестирования. Используются культивационные среды для гидробионтов, получаемые путём подготовки природной воды, а также среды на основе дистиллированной воды с добавлением минеральных солей. В разные сезоны года в природной воде могут происходить изменения состава, что может сказаться на воспроизводимости результатов, в то время как состав искусственной среды практически одинаков.

В связи с актуальностью проблемы внедрения искусственных сред в методики биотестирования целью нашей работы стало сравнение чувствительности рачков *Ceriodaphnia affinis* к бихромату калия в хроническом эксперименте с использованием биологизированной (подготовленной аквариумной) воды, которая была очищена трехступенчатой системой фильтрации и отстаивалась в аквариуме с высшей водной растительностью (Filenko, Isakova, Gershkovich, 2011), а также искусственной среды ADaM, созданной на основе дистиллированной воды с добавлением  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{SeO}_2$  и синтетической морской соли (Klüttgen, 1994). Культура рачков была адаптирована к биологизированной воде в течение нескольких лет, к среде ADaM – до момента получения 3 поколения (более двух месяцев).

Эксперименты проводили в соответствии с методическим руководством по биотестированию воды РД-118-02-90. Для каждой из концентраций и контрольной выборки использовали по 4 ёмкости объёмом 50 мл, в каждую из которых помещали по 5 рачков. В качестве модельного токсиканта использовали бихромат калия ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) в концентрациях 0,01 и 0,03 мг/л. В качестве корма для рачков использовали культуру зеленой протококковой микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijer, которая выращивалась в соответствии со стандартной методикой (Жмур, 2007) на среде Тамия (Тамия, 1957). Полученные результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007.

По результатам испытаний на острую токсичность были вычислены полулетальные концентрации ( $\text{ЛК}_{50}$ ) за 24 и 48 часов для  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (табл. 1). В среде ADaM полулетальные концентрации оказались ниже, чем в аквариумной воде.

Таблица 1. Полулетальная концентрация бихромата калия для *Ceriodaphnia affinis* на разных средах

	Аквариумная вода	Искусственная вода среда (ADaM)
$\text{ЛК}_{50}(24) \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ мг/л	3,98 4,02	2,37
$\text{ЛК}_{50}(48) \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ мг/л	4,50 5,91 2,20	1,36 1,93 1,16

Анализ результатов хронического эксперимента показал статистически достоверное увеличение размеров рачков на 4 сутки в ряду поколений ( $F_0 < F_1 < F_2$ ) в аквариумной воде, и в искусственной среде. В то же время, размер на 39 сутки оставался практически неизменным в ряду поколений ( $0,995 \pm 0,004$  мм) и статистически не отличался при воздействии бихромата калия.

В ряду поколений ( $F_0 > F_1 > F_2$ ) было выявлено статистически достоверное снижение продолжительности жизни рачков в контрольной выборке на искусственной среде и недостоверное снижение на аквариумной воде (см. табл. 2.).

Таблица 2. Продолжительность жизни *Ceriodaphnia affinis* (в сутках) при воздействии бихромата калия (мг/л) на разных средах

Пок-ления	Аквариумная вода			Искусственная среда		
	Контроль	0,01 мг/л	0,03 мг/л	Контроль	0,01 мг/л	0,03 мг/л
F0	40,20±6,38	42,95±7,79	39,70±7,02	49,84±7,82	53,55±7,02	52,65±8,09
F1	39,26±4,64	45,30±6,25	39,55±6,41	43,74±9,11	51,58±6,36	33±9,6
F2	36,32±4,98	30,95±5,29	34,11±5,35	37,40±4,57	42,11±6,32	43,25±6,72

Плодовитость (табл. 3) рачков на искусственной среде в исходном поколении F0 была статистически достоверно выше, чем на аквариумной воде, однако в ряду поколений это различие нивелировалось. При воздействии токсиканта (0,03 мг/л) отмечено статистически достоверное снижение плодовитости в F0 в среде ADaM, а в аквариумной воде эффект воздействия токсиканта отмечен не был.

Таблица 3. Средняя суммарная плодовитость *Ceriodaphnia affinis* в пересчёте на самку при воздействии бихромата калия (мг/л) на разных средах за срок жизни

Пок-ления	Аквариумная вода			Искусственная среда		
	Контроль	0,01 мг/л	0,03 мг/л	Контроль	0,01 мг/л	0,03 мг/л
F0	56,3±14,6	62,7±20,4	61,5±14,9	93,2±8,6	81,6±10,5	77,3±4,3
F1	63,2±10,7	57,0±6,2	53,5±12,9	77,8±19,9	80,0±8,8	86,6±11,9
F2	54,2±15,4	54,4±5,1	54,6±3,3	53,6±6,7	59,7±3,7	58,1±7,2

Заключение. Получена стабильная культура рачков на искусственной среде ADaM, адаптированная в течение более 15 поколений (более года). На искусственной среде по итогам хронического и острых экспериментов рачки проявили большую чувствительность к бихромату калия, чем рачки в аквариумной воде. Благодаря простоте приготовления среды ADaM, а также повышенной чувствительности рачков к  $K_2Cr_2O_7$  искусственная среда может быть рекомендована для целей биотестирования.

1. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний.: Москва: Акварос, 2007. - 56 с. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2007.03221.
2. Методическое руководство по биотестированию воды РД 118–02–90. – М.: Госкомприрода СССР, 1991. – 48 с.
3. Filenko O.F., Isakova E. F., Gershkovich D. M. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg in a laboratory culture //Inland water biology. – 2011. – Т. 4. – №. 3. – С. 283-286.
4. Klüttgen B. et al. ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton //Water research. – 1994. – Т. 28. – №. 3. – С. 743-746.
5. Tamiya H. Mass culture of algae //Annual Review of Plant Physiology. – 1957. – Т. 8. – №. 1. – С. 309-334.

# **ВЛИЯНИЕ МЕЛИОРАНТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ**

**Минникова Т.В., Баранова Г.В., Денисова Т.В., Колесников С.И.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, loko261008@yandex.ru

## **Influence of ameliorants of various nature on activity of the catalase of the petropolluted soil**

**Minnikova T.V., Baranova G.V., Denisova T.V., Kolesnikov S.I.**

Проблема нефтезагрязнения почв представляет настоящую угрозу плодородию почв в России. Этот вопрос был широко освещен на последнем совещании, связанном с загрязнением земель нефтью и нефтепродуктами (<http://www.oilru.com/news/15164>). Известно, что потери сырой нефтисоставляют до 5% от ее общей добычи. По литературным данным известно, что, например, выброс нефтепродуктов на железнодорожных путях составляет не менее 330 млн. т/год, на нефтебазах – 80 млн. т/год, на нефтеперерабатывающих заводах до 100 млн. т/год (Орлов, 1991; Глодовская, 2005).

В связи с этим природоохранное законодательство РФ предписывает локализовать и ликвидировать разлив нефти и нефтепродуктов в кратчайшие сроки и довести до допустимого уровня остаточное содержание углеводородов в окружающей среде. В связи с этим остро возникает вопрос о нормировании содержания нефти и нефтепродуктов в почвах, как основном депо загрязняющих веществ на нашей планете и источнике продуктов питания для населения. Использование биологических методов очистки почв от нефтезагрязнения представляется наиболее приоритетной задачей (Солнцева, 1988; Коновалова, Корсунова, 2015).

В литературе широко представлены результаты исследований по использованию бактериальных препаратов, содержащих штаммы нефтеокисляющих бактерий, минеральных сорбентов, типа вермикулита, цеолита и др. (Шамраев, Шорина, 2009; Григориади и др., 2011; Морозова и др., 2015) Однако в настоящее время универсального препарата для разрушения нефти и нефтепродуктов в почвах не выявлено.

Цель работы: изучить влияние мелиорантов различной природы на активность каталазы нефтезагрязненных почв.

Объект исследования - чернозем обыкновенный карбонатный. Образцы почвы (Апах 0-20) отбирали в Ботаническом саду Южного федерального университета. Модельный опыт был заложен в июле 2016 г. Навеску почвы, просеянной через сито 3 мм массой 300 г помещали в вегетационный сосуд, увлажняли водой и вносили последовательно нефть в количестве 5% от массы почвы и мелиоранты. Для исследования было выбрано четыре мелиоранта различной природы: глауконит, мочевины, бактериальный препарат «Dop-Uni», гумат калия. В качестве контроля использовали фоновые незагрязненные образцы почвы и образцы почв с внесением мелиорантов без нефти. Всего было составлено 28 вариантов. Обозначение фоновых образцов с внесенными мелиорантами без нефти – «фон», нефтезагрязненные почвы – «опыт». Активность каталазы определяли газометрическим методом по А.Ш. Галстяну (1956).

Всего было заложено 28 вариантов, включающих фоновые незагрязненные образцы почвы, образцы почв с внесением мелиорантов без нефти и в нефтезагрязненных образцах.



Активность оксидоредуктаз и, в частности каталазы, зависит от физико-химических свойств, микробиологических процессов в почве, циклов азота, серы, углерода. Каталазная активность почвы обусловлена деятельностью аборигенной микрофлоры, осуществляющей разрушение пероксида водорода, образующегося при биохимических реакциях окисления органических веществ, содержащихся в почве. Активность каталазы является одним из наиболее информативных биохимических показателей почвы при различных антропогенных воздействиях (Колесников и др., 2007).

Каждый из представленных мелиорантов оказывает значительное воздействие на активность каталазы почв (рис. 1). При использовании мочевины наблюдали значительное снижение активности каталазы на 60% при самостоятельном применении, и на 55-74% при комплексном воздействии с другими мелиорантами по сравнению контрольным образцом. При загрязнении нефтью для вариантов с мочевиной наблюдали существенное увеличение активности каталазы на 63%, а при комплексном воздействии на 40-250%.

Мелиорант «Dop-Uni» в нефтезагрязненной почве при самостоятельном воздействии не оказал влияния на активность каталазы, при комплексном воздействии совместно с глауконитом активность повысилась на 16%, с гуматом калия – понизилась на 17%, с мочевиной – также понизилась на 76% по сравнению с контролем. В нефтезагрязненных почвах наблюдали снижение активности на 46% при самостоятельном

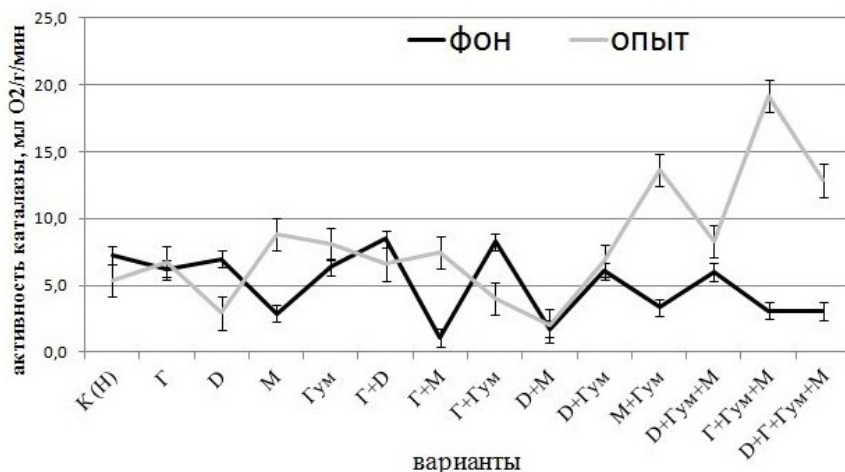


Рис. 1. Изменение активности каталазы в нефтезагрязненном черноземе с применением ремедиантов, % от контроля

К – чистая почва; Н – чистая почва, загрязненная нефтью без мелиорантов; Г – глауконит; Гум – гумат калия, М – мочевина, Д – бактериальный препарат «Dop-Uni».

воздействию, усиление в комплексе с глауконитом - на 22%, усиление активности в комплексе с гуматом калия – на 27%, существенное снижение активности в комплексе с мочевиной- на 67%..

Глауконит, как самостоятельный фактор, оказал угнетающее влияние на активность каталазы на 12%, совместно с «Dop-Uni» и гуматом наблюдали усиление активности фермента на 13 и 16% соответственно, ас мочевиной наблюдали существенное снижение активности – на 85%. При нефтезагрязнении наблюдали стимуляцию активно-

сти на 24%, стимуляцию активности в комплексе с мочевиной – 39%, с «Dop-Uni» - на 22%. Глауконит в комплексе с гуматом калия снижает активность каталазы на 26%.

### **Благодарности**

Исследование выполнено в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности Министерства образования и науки РФ №6.345.2014/К и при государственной поддержке Ведущих научных школ РФ (НШ-2449.2014.4). Автор особенно благодарен за предоставление бактериального препарата «Dop-Uni» от ООО «Лаборатория микробных технологий» г. Москва. Автор выражает глубокую благодарность за использование минерального комплексного сорбента – глауконита фирму ООО «Глауконит» г. Челябинск.

1. Галстян, А. Ш. (1956) Изучение сравнительной активности каталазы в некоторых типах почв Армении. Сообщение I. ՀՄՄԻ ԳԱ Ձեկնայգիւթ, 23 (2). pp. 61-66
1. Голдовская, Л.Ф. Химия окружающей среды: учебник для вузов / Л.Ф. Голдовская. – М.: Мир, 2005. 296 с.
2. Григориани А. С., Киреева Н. А., Гареева А. Р., Щемелинина Т. Н., Атепаева О. С. Использование микробного препарата для рекультивации нефтезагрязненной почвы различных типов // Вестник Башкирского университета. 2011. Т. 16. №4. С. 1214-1218.
3. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф., Азнаурьян Д.К., Жаркова М.Г. Биодиагностика экологического состояния почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Ростов н/ Д: Изд-во ЗАО Ростиздат, 2007. – 192 с.
4. Коновалова Е.В., Корсунова Т.М. Агрэкологические аспекты применения мелиорантов на нефтезагрязненных почвах // Агрономия. № 3 (40), 2015 г. С. 16-21.
5. Морозова Т.Н., Белик Е.С., Рудакова Л.В. Использование бактериального препарата для ремедиации техногенно загрязненных почв // Вестник ПНИПУ. Прикладная экология. Урбанистика. 2015. № 3. С. 69-81.
6. МПР России: совещание, связанное с загрязнением земель нефтью и нефтепродуктами [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.oilru.com/news/15164>.
7. Орлов, Д.Г. Химическое загрязнение почв и их охрана / Д.Г. Орлов, М.С. Малинина, Г.В. Мотузова. – М.: Агропромиздат, 1991. 303 с.
8. Солнцева Н.П. Добыча нефти и геохимия природных ландшафтов. –М.: Изд-во МГУ, 1998. – 376 с.
9. Шамраев А.В., Шорина Т.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // ВЕСТНИК ОГУ №6(100)/июнь 2009. С. 642-645.
10. Seitinger P., Baumgartner A., Schindbauer H. die Ausbreitung von Mineralöl kontaminationen im untergrund // Erdöl-Erdgas Kohle.1994. – V.1 10. – № 5. – P.211-215.

## **ДВУХВИДОВАЯ ТЕСТ-КУЛЬТУРА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

**Михеев М.А., Ипатова В.И.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
miheev\_m.93@mail.ru

### **Two species test culture under toxic exposure**

**Mikheev M.A., Ipatova V.I.**

Традиционно в качестве тест-объекта при проведении биотестирования для оценки токсичности веществ используется монокультура, состоящая из одного вида микроводорослей. В России при проведении биотестирования в качестве тест-объекта

широко используется микроводоросль *Scenedesmus quadricauda*. На кафедре гидробиологии биологического факультета МГУ была введена в культуру микроводоросль *Monoraphidium arcuatum*.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния бихромата калия на двухвидовую тест-систему, состоящую из представителей одного трофического уровня – двух видов хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind.

Развитие этих видов при совместном культивировании с исходным соотношением численности клеток 1:1 (25 и 25 тыс. кл/мл) изучали в норме и при добавлении бихромата калия в концентрациях 1 и 2 мг/л в опытах длительностью до 49 суток. Культуры выращивали в стандартных условиях на среде Успенского №1. Основные показатели состояния культуры – изменение численности клеток и соотношения живых и мертвых клеток.

Для проведения испытаний со смешанной культурой предварительно были поставлены эксперименты с монокультурами этих видов в диапазоне концентраций бихромата калия от 0,01 до 10 мг/л, отличающихся на порядок, для выявления токсических концентраций. Все концентрации оказывали токсическое действие на рост обоих видов.

В опытах со смешанной культурой рост монокультуры *M. arcuatum* в норме происходил достаточно интенсивно, при этом численность клеток на 28 сутки возрастала в 480 раз по сравнению с исходной, а в смешанной культуре – в 16 раз, т.е. в смешанной культуре в присутствии *S. quadricauda* происходило существенное подавление роста *M. arcuatum*.

При воздействии бихромата калия в концентрации 1 мг/л на монокультуру *M. arcuatum* наблюдалось угнетение роста в течение всего срока наблюдений, причем особенно сильное угнетение происходило в течение первых трех недель, после чего рост возобновлялся, но так и не достигал уровня контроля.

При добавлении токсиканта в концентрации 1 мг/л в смешанную культуру рост *M. arcuatum* был таким же или немного хуже, чем рост *M. arcuatum* в смешанной культуре без токсиканта.

Добавление бихромата калия в концентрации 2 мг/л в смешанную культуру вызывало достоверное угнетение роста *M. arcuatum* по сравнению с её ростом в смешанной культуре без токсиканта.

Доля живых клеток *M. arcuatum* в контрольной смешанной культуре со временем уменьшалась и на 25 сутки составляла 78%, а в присутствии токсиканта как в моно-, так и в смешанной культуре составляла 92-99%, т.е. в контрольной смешанной культуре наблюдалось уменьшение количества живых и увеличение доли мертвых *M. arcuatum*.

Развитие *S. quadricauda* в моно- и смешанной культурах происходило иначе, чем у *M. arcuatum*. В контроле численность клеток *S. quadricauda* в монокультуре увеличилась за 28 суток в 141 раз, а в смешанной культуре – в 135 раз, т.е. рост *S. quadricauda* в моно- и смешанной культуре был близок и культура *M. arcuatum* не оказывала существенного влияния на развитие *S. quadricauda*. Удельная скорость роста *S. quadricauda* в моно- и смешанной культуре была близка как в норме, так и при интоксикации.

При токсическом воздействии бихромата калия в концентрации 1 мг/л на монокультуру *S. quadricauda* наблюдалось небольшое, но достоверное угнетение роста в течение двух недель опыта, а затем рост был на уровне контроля. В смешанной куль-

туре добавление токсиканта в концентрации 1 мг/л вызывало небольшое угнетение роста *S. quadricauda* уже в течение одной недели, а в дальнейшем её рост был на уровне контрольной смешанной культуры. Таким образом, в смешанной культуре длительность токсического эффекта сокращалась вдвое по сравнению с монокультурой *S. quadricauda*.

Добавление токсиканта в смешанную культуру в концентрации в два раза большей вызывало достоверное угнетение роста на протяжении практически всего эксперимента длительностью 49 суток по сравнению с ростом *S. quadricauda* в смешанной культуре без токсиканта.

Доля живых клеток *S. quadricauda* в норме в моно- и смешанных культурах к концу опыта была близка. Следует особо отметить, что в смешанной культуре при токсическом воздействии бихромата калия в концентрации 1 и 2 мг/л не наблюдалось увеличения доли мертвых клеток *S. quadricauda*, как было отмечено для *M. arcuatum*. При этом доля живых клеток *S. quadricauda* в смешанной культуре при интоксикации на 25 сутки была даже выше, чем таковая в монокультуре без токсиканта.

Таким образом, в смешанной двухвидовой культуре в накопительном режиме культивирования в контроле (в отсутствии токсиканта) вид *S. quadricauda* оказался более конкурентноспособным и вытеснял вид *M. arcuatum*. Угнетение *M. arcuatum* выражалось в значительном уменьшении количества живых клеток и замедлении темпа их деления, что приводило к снижению численности. При этом рост *S. quadricauda* в смешанной культуре был близок к таковому в монокультуре, а рост *M. arcuatum* в смешанной культуре был подавлен и численность клеток была существенно ниже, чем в монокультуре.

В присутствии бихромата калия вид *S. quadricauda* также доминировал над *M. arcuatum* в течение всего опыта, при этом наблюдались незначительные отличия в развитии *S. quadricauda* в смешанной культуре по сравнению с контрольной смешанной и контрольной монокультурой этого вида. Численность *M. arcuatum* в смешанной культуре при интоксикации находилась или на уровне контроля или ниже по сравнению с контрольной смешанной культурой. *M. arcuatum* в смешанной культуре более чувствительна к токсиканту, чем в монокультуре, что, вероятно, вызвано сильным угнетением ее развития со стороны *S. quadricauda*.

## **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО РЕГИОНА**

**Муругина В.С., Казеев К.Ш.**

Южный Федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, murugina97@mail.ru

### **Biological diagnosis of ecological condition the Azov-Black Sea region Soils**

**Murugina V.S., Kazeev K.Sh.**

Биологическая диагностика почв юга России показала хорошие результаты при определении последствий антропогенных воздействий. К настоящему времени по реакции биоиндикаторов исследованы последствия вырубki леса, сельскохозяйственного использования, засоления, переувлажнения, эрозии и других деграционных факторов. Азово-Черноморский регион является одним из наиболее преобразованных деятельностью человека в России. Почвенный покров исследуемой террито-

рии значительно изменен в результате использования земель в сельском хозяйстве. Ферментативная активность почв показала наилучшие результаты из биологических параметров, используемых в биодиагностике и мониторинге почв фоновых и нарушенных территорий юга России. Ее применению способствует простота анализа, высокая чувствительность и информативность результатов.

Цель настоящей работы - провести биологическую диагностику экологического состояния почв района Темрюк - Приморско-Ахтарск - Каневская. Исследования были проведены в мае 2016 года в рамках работы Ведущей научной школы РФ "Экология почв". Объектами исследования были зональные сверхмощные черноземы обыкновенные (Приморско-Ахтарск), а также почвы гидроморфного ряда разного землепользования: луговые дерновые постагрогенные (на 3 и 10-летних залежах рисовых чеков, станица Курчанская), рисовые (станция Полтавская), лугово-болотные неосвоенные (станция Гриньковская). Исследуемые почвы вследствие различий в генезисе и почвообразующих факторов обладают разными гидротермическими условиями во время наблюдения. Для биологической диагностики применяли активность ферментов из класса оксидоредуктаз: каталазы, дегидрогеназы, ферриредуктазы и гидролаз: инвертазы, фосфатазы. Кроме того, исследовали температуру и влажность почвы, содержание гумуса, реакцию почвенной среды, содержание легкорастворимых солей и др.

В результате исследований установлено различие в уровне значений изучаемых показателей. Реакция почвенной среды, в отличие от биологических показателей, в исследуемых почвах практически не изменялась, размах значений составил от 7,5 до 8,4. Слабощелочная реакция среды связана с карбонатностью исследуемых почв. Содержание гумуса в верхних горизонтах исследуемых почв варьирует от 3,1 до 4,6%, что характерно для почв агроландшафтов юга России. Вниз по профилю содержание гумуса снижается достаточно равномерно, за исключением лугово-болотной почвы, где отмечено почти трехкратное снижение показателя на глубине 25-35 см. Значительно большее варьирование значений отмечено для подвижного углерода (в верхних горизонтах от 9,7 в луговой дерновой постагрогенной до 46,2 мг/кг в рисовых почвах). Активность почвенных ферментов исследуемых почв отличается в разной мере. Активность каталазы во всех исследуемых почвах находится на высоком и очень высоком уровнях. В верхних горизонтах исследуемых почв ее активность составляет от 10 (в луговой дерновой) до 19,1 (в черноземе) и более млО<sub>2</sub>/г/мин. В лугово-болотной почве активность каталазы в несколько раз превышала таковую в черноземе. Выявление причины этого явления требуют дополнительных исследований. Активность почвенных дегидрогеназ в исследуемых почвах варьирует в меньших пределах, в отличие от активности каталазы. Диапазон ее значений в верхних горизонтах от 15,1 в черноземе до 20,9 мг трифенилформазана/10 г почвы/24ч в гидроморфных почвах. Также незначительно варьирует активность ферриредуктазы.

Было исследовано профильное распределение активности почвенных ферментов лугово-дерновых постагрогенных почв разной длительности залежного режима. Данное исследование показало практически равномерное распределение каталазы вниз по профилю почвы. Но в отличие от каталазы активность дегидрогеназ имеет значительное понижение показателей на глубине 20-30 см, после чего резко возрастает. Исследование данных об активности инвертазы демонстрируют влияние различного срока залежного режима. При его увеличении содержание глюкозы возрастает в 2 раза, отличие показателей сохраняется в профильном распределении. Также

было исследовано изменение содержания гумуса вниз по профилю, в результате которого было установлено практически идентичное содержание гумуса в почвах 3 и 10 летних залежей рисовых чеков до глубины 30 см. В отличие от лугово-болотных почв, здесь отмечено достаточно плавное понижение значений вниз по почвенному профилю. Наблюдения показали, что самое низкое содержание гумуса установлено в рисовых почвах (3,1-2,5%). Это связано с особенностями водного режима в почвах, затопленных на протяжении нескольких месяцев в течение года. Активность фосфатазы имеет значительные инверсии в профилях исследуемых почв. Активность фермента может возрастать в средних и глубоких слоях, по сравнению с верхними горизонтами. Это в значительной степени отличает данные почвы от зональных почв юга России. В большинстве из них наблюдается снижение показателей биологической активности вниз по профилю.

В ходе проведенного корреляционного анализа была выявлена положительная линейная связь активности инвертазы с содержанием общего гумуса и лабильного углерода ( $r=0,86$  и  $0,55$  соответственно). Активность фосфатазы имеет отрицательную зависимость со всеми исследуемыми показателями, кроме активности ферриредуктазы.

В результате проведенных исследований были определены параметры эколого-биологического состояния почв разного генезиса и землепользования в условиях Азово-черноморского региона. Полученные данные по активности разных ферментов свидетельствуют о возможности применения показателей ферментативной активности в диагностике экологического состояния.

## **ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ Ge, Ca, Y, Yb, Sc, Nb, Tl НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО**

**Назарян А.И., Колесников С.И.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, a.nazarian2014@yandex.ru

### **Influence of pollution of Ge, Ga, Y, Yb, Sc, Nb, Tl on activity of a catalase of the chernozem ordinary**

**Nazarian A.I., Kolesnikov S.I.**

Существенный вклад в деградацию почвенного покрова во всем мире вносит загрязнение тяжелыми металлами. Однако не все тяжелые металлы исследованы в равной степени. Экологические последствия загрязнения почвы такими металлами как таллий, галлий, германий и другими «редкими» тяжелыми металлами исследованы крайне мало. При этом масштабы и степень загрязнения ими почв с каждым годом увеличиваются.

Актуальным представляется выявление закономерностей, механизмов и возможных последствий влияния этих элементов на биоту и биологические свойства почв, первыми реагирующими на загрязнение, установление пределов устойчивости почв к загрязнению, нормирование содержания этих элементов в почвах.

В последнее время и в России, и за рубежом, при оценке состояния окружающей среды и нормировании ее качества экологический подход стал доминирующим. Нами предлагается оценивать степень негативного воздействия химического загрязнения на основе «эммерджентного» подхода по степени нарушения экологических и хо-

зяйственных функций, выполняемых почвой в природной экосистеме, агроэкосистеме или урбосистеме.

Цель данной работы – исследовать закономерности влияния загрязнения Ge, Ga, Y, Yb, Sc, Nb, Tl на активность каталазы чернозема обыкновенного в модельном опыте.

Для модельных экспериментов был отобран верхний слой почвы чернозема обыкновенного (Ростов-на-Дону, Ботанический сад ЮФУ) – 0-10 см, поскольку, именно в этом слое накапливается основное количество загрязняющих почву веществ (Кабата-Пендиас, 1989).

В качестве тяжелых металлов (ТМ) были выбраны Ge, Ca, Y, Yb, Sc, Nb, Tl. Кларки в почвах этих элементов составляют: Ge - 1,56; Ga - 16,4; Y - 21,6; Yb - 1,8; Tl - 0,81; Sc - 9,7; Nb - 12,7 (Алексеевко В.А., Алексеевко А.В, 2013). Исследовали действие разных концентраций ТМ. Содержание ТМ в почве выражали в УДК — «условно допустимой концентрации» (так как ПДК этих элементов в почве не разработаны) равное трем фоновым концентрациям элемента в почве, мг/кг: Ge - 0,0015; Ga - 0,0164; Y - 0,0216; Yb - 0,0018; Tl - 0,0008; Sc - 0,0097; Nb - 0,0127. В почву были внесены 1, 10 и 100 УДК каждого элемента в форме оксидов металлов.

Почву инкубировали в вегетационных сосудах при комнатной температуре (20-22°С) и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости) в трехкратной повторности.

Образцы для лабораторно-аналитического исследования отобрали через 10, 30, 90 суток после загрязнения. Активность каталазы определяли методом А.Ш. Галстяна (1978). Метод основан на определении количества кислорода, выделившегося при распаде пероксида водорода в единицу времени.

В результате исследований установлено, что загрязнение чернозема обыкновенного Ge, Ga, Y, Yb, Sc, Nb, Tl в большинстве случаев приводит к уменьшению активности каталазы.

Причины негативного воздействия ТМ и нефти на активность каталазы в почве можно объяснить следующим. ТМ связываются с сульфидрильными группами белков, в результате чего подавляется синтез ферментов, в том числе и каталазы (Торшин и др., 1990).

Была установлена зависимость между концентрацией загрязняющих веществ в почве и уменьшением активности каталазы.

По степени ингибирующего воздействия, на активность каталазы исследованные элементы образуют следующую последовательность: Yb > Tl = Nb ≥ Ga ≥ GeSc > Y.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

1. Галстян А.Ш. Унификация методов определения активности ферментов почв // Почвоведение. 1978. № 2 с. 107-114.
2. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. 1989. М.: Мир. 439 с.
3. Торшин С.П., Удельнова Т.М., Ягодин Б.А. Микроэлементы, экология и здоровье человека // Успехи современной биологии. Т. 109. Вып. 2. 1990. С. 279-292.
4. Алексеевко В.А., Алексеевко А.В. Химические элементы в геохимических системах. Кларки почв селитебных ландшафтов. — Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2013. — 388 с.

# СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦЕЛИННЫХ ЧЕРНОЗЕМОВ И ПОЧВ С РАЗНОЙ ТЕХНОЛОГИЕЙ ОБРАБОТКИ

**Насруллаев И.Э., Пономарева В.С., Казеев Д.К., Борисенко Д.С.,  
Черникова М.П., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, kkk070771@bk.ru

## **Comparative researches of the biological properties of virgin chernozems and soils with different processing technology**

**Nasrullaev I.E., Ponomareva V.S., Kazeev D.K., Borisenko D.S.,  
Chernikova M.P., Mokrikov G.V., Kazeev K.Sh.**

В современном мире, в условиях санкций очень важное место занимает решение вопроса продовольственной безопасности. Технология No-Till повышает урожайность, при этом экономя большое количество ресурсов, что положительно сказывается на экологическом состоянии окружающей среды. Также, применение технологии восстанавливает плодородный пласт грунта и практически полностью предотвращает его эрозию, способствуя восстановлению и защите плодородия почвы. В климатических условиях юга России лимитирующим фактором в растениеводстве является засуха, в связи с этим южный федеральный округ даже относят к зонам рискованного земледелия, при использовании альтернативной агротехнологии снижается зависимость урожая от погодных условий. В большинстве случаев данная проблема связана с сохранением влаги в почве, с её консервацией и с потерями влаги по причине утечки и испарения. При обработке почвы по традиционной технологии, в первую очередь, разрушается структура почвы и при каждой последующей вспашке способность почвы впитывать и консервировать влагу снижается, что в результате позволяет рассчитывать лишь на 50% влаги от уровня выпавших осадков. В то же время наблюдается постоянное снижение содержания гумуса, что непосредственно связано с механическим воздействием на почву. Сам термин «No-Till» в переводе с английского означает – «не пахать» или «без обработки». В Северной Америке применяется понятие «нулевая технология», а в Англии – «прямой посев».

Впервые в условиях юга России выполнены комплексные исследования химических, физических и биологических свойств влияния альтернативных агротехнологий No-Till и бинарных посевов на экологическое состояние черноземов

Цель исследования – провести изучение влияния традиционных и альтернативных агротехнологий на экологическое состояние почв Ростовской области в сравнении с черноземами памятника природы «Персиановская степь».

Работа выполнялась в июне и июле 2016 на территории ООПТ «Персиановская степь» и ООО «Донская нива» (Октябрьский район Ростовской области).

Эталонной территорией для сравнения исследуемых участков является Персиановская степь, расположенная в 10 км от города Новочеркасска и сохранившая, по мнению экологов, все черты необъятных первобытных степей, издавна покрывавших Приазовье. Участок Персиановской степи (общая площадь 66 га) располагается на территории учебно-опытного хозяйства «Донское» Донского сельскохозяйственного университета.

Опытные поля на общей площади несколько тысяч гектар были заняты различными сельскохозяйственными культурами, возделываемые по технологии прямого



посева No-Till. При этой агротехнологии минимизируется воздействие машин на почву. Традиционная технология с отвальной вспашкой, боронованием, культивациями применяется на контрольных полях, расположенных в непосредственной близости от опытных полей на расстоянии от 30 до 200 м. Это облегчает сравнение применяемых агротехнологий.

На исследуемых участках были изучены флора и растительность, заложены разрезы и прикопки, влажность, температура, твердость и плотность почв и т.д. В полевых условиях проводили определение влажности почвы в 10-кратной повторности с помощью влагомера с датчиком DATAPROBE на каждом участке и весовым методом в лаборатории. Каждые 10 см измеряли температуру почвы с помощью электронного термометра HANNA CHESTEMP. Плотность почвы определяли объемно-весовым методом в 3-х кратной повторности. Твердость почв - сопротивление пенетрации - определяли в полевых условиях с помощью пенетromетра Eijkelkamp на глубину 45 см с интервалом 5 см в 10-кратной повторности. Водопрочность почвенных агрегатов определяли методом П.И. Андрианова в модификации Н.А. Качинского. Исследование напочвенных животных - герпетобионтов проводили с помощью ловушек Барбера (Казеев, Колесников, 2012).

Лабораторно-аналитические исследования ферментативной активности, содержания гумуса, реакции среды и других свойств выполнены на кафедре экологии и природопользования Южного федерального университета в 3-10-кратной повторности.

Почва на всех исследованных участках – чернозем обыкновенный карбонатный среднемогучий тяжелосуглинистый (илогато-пылеватый) разной степени гумусированности.

В результате исследований установлено, что на территории Персиановской степи наибольшим видовым разнообразием обладают семейства *Carabidae* (Жужелицы) и *Tenebrionidae* (Чернотелки) – по 5 видов, относящиеся к отряду *Coleoptera* (Жесткокрылые). Экологические группы по питанию среди жуков Персиановской степи распределились следующим образом – фитофаги – 47%, сапрофаги и миксофаги – по 23%, хищники – 6%. И видовое разнообразие, и численность герпетобионтов на целинном участке значительно выше, чем на исследуемых полях, независимо от способов их обработки. Плотность почвы и сопротивление пенетрации в целинном черноземе были существенно ниже, а содержание гумуса выше в среднем в два раза, чем в пахотных почвах.

Исследования пашни с разной обработкой показали, что интенсивность дыхания и целлюлозолитическая активность в большей степени зависит от выращиваемой сельскохозяйственной культуры, которая произрастает на данных участках, и практически не изменяется для участков разного землепользования.

Во время второго срока картина чуть сложнее, имеются значительные различия на полях с разной технологией обработки. Показатели дыхания были значительно ниже, чем в период влажного сезона, это связано с иссушением почвы при наблюдении в течение второго срока. В сухой почве биологические процессы консервируются и соответственно интенсивность дыхания снижается. Но на некоторых участках с технологией No-Till они выше, чем на полях с традиционной обработкой почвы, что связано с повышением количества органических остатков в поверхностном слое почвы. Разложение этих остатков в почве и мульчирующем слое приводит к активизации микрофлоры и повышению интенсивности дыхания почв.

Обобщив результаты установлено различие между целиной и полями агропредприятий, обрабатываемых по традиционной технологии и почвозащитной техноло-

гией No-Till. Различия касаются гидротермических условий, физических и биологических свойств почв. Не все исследуемые показатели хорошо проявили себя в качестве диагностических параметров. Наиболее показательными были исследования, производимые в течение второго срока, вследствие более засушливых условий в данный период, при котором лучше проявляются различия между исследуемыми технологиями сельскохозяйственной обработки земель. Наиболее информативными параметрами в качестве диагностических показателей проявили себя интенсивность почвенного дыхания и сопротивление пенетрации.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11) и договоров с ООО "Донская Нива" и ИП Мокриков В.И.

## **ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ НАД ПОДЗЕМНЫМ ХРАНИЛИЩЕМ ПРИРОДНОГО ГАЗА**

**Нгун К.Т., Плешакова Е.В., Решетников М.В.,**

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, РФ  
clementnngun@yahoo.com

### **Evaluation of ecological state of soils above underground natural gas storages**

**Ngun C.T., Pleshakova E.V.; Reshetnikov M.V.**

Почва в районах подземных хранилищ природного газа может подвергаться загрязнению углеводородами и другими токсичными соединениями, которые негативно влияют на свойства почв и функционирование почвенных биоценозов.

В рамках проведения почвенно-экологического мониторинга нами были исследованы образцы почв, отобранные на территории подземного хранилища природного газа (пос. Степное, Саратовская обл.) в 2013-2014 гг. Были проанализированы следующие показатели: общая численность гетеротрофных бактерий, численность углеводород- и метанонокисляющих микроорганизмов, определена активность почвенных ферментов: дегидрогеназ, каталаз, инвертаз, изучен ряд физико-химических параметров почв: водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал и магнитная восприимчивость. Учитывая, что данное газовое хранилище было создано на месте бывшего месторождения нефти, а также результаты анализов, которые свидетельствовали о повышенном содержании сульфида железа в некоторых почвенных образцах и об увеличенных значениях магнитной восприимчивости, нами были изучены также такие диагностические показатели, как численность железо- и сероокисляющих бактерий.

В ряде образцов над подземным хранилищем газа обнаружено повышенное содержание микроорганизмов индикаторных физиологических групп: углеводород- и сероокисляющих бактерий, облигатных и факультативных метилотрофов, повышенная активность дегидрогеназ и каталаз, пониженная активность инвертаз. Полученные данные свидетельствовали о развитии специализированной микрофлоры и стимуляции ее метаболической активности в верхнем горизонте почв над газовым хранилищем, что позволяет говорить о загрязнении почвы углеводородами и серосодержащими соединениями.

На основании проведенных исследований сделан вывод о перспективности использования показателей численности метилотрофных, углеводород- и сероокисляющих бактерий, активности дегидрогеназ, каталазы и инвертазы для экологического мониторинга почв в районах газовых хранилищ, своевременного выявления утечки метана.

### **Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания в сфере научной деятельности (проект № 1757) и гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых (проект МК-5424.2015.5).

## **ДИАГНОСТИКА ПИРОГЕННОГО ЭФФЕКТА НА ЧЕРНОЗЁМЕ ОБЫКНОВЕННОМ ПО АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ**

**Одабашян М.Ю., Казеев К.Ш., Трушков А.В.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, meri10000@yandex.ru

### **Diagnosics of pyrogene effect on the chernozem ordinary on activity of the catalase**

**Odabashyan M.Y., Kazeev K.Sh., Trushkov A.V.**

В настоящее время одной из актуальных экологических проблем является влияние пирогенного фактора на почвенный покров. В процессе сельскохозяйственной деятельности многие аграрии сжигают пожнивные остатки и стерню зерновых культур, тем самым и наносят серьезный урон плодородию и биоразнообразию почвы. Нормативными актами сжигание стерни не останавливает применение палов на огромных территориях.

Почвенный покров, выполняя важнейшие биосферные функции, весьма чутко реагирует на все изменения, происходящие в биосфере, прежде всего на техногенные воздействия. Пожар - интенсивное техногенное воздействие, нарушающее естественное равновесие между отдельными компонентами биогеоценоза, влияющее на тип растительности, свойства и динамику почвы.

Причиной пожаров в 95% случаев, по мнению ряда учёных, является человеческий фактор. Огонь является мощным экологическим фактором, изменяющим окружающую среду.

Почва служит средой обитания для многих организмов. Наиболее многочисленны в почвах бактерии, грибы, водоросли и одноклеточные животные. Почвенные ферменты участвуют при распаде растительных, животных и микробных остатков, а также синтезе гумуса. В результате питательные вещества из трудно усвояемых соединений переходят в легкодоступные для растений и микроорганизмов формы. Ферменты отличаются высокой активностью, строгой специфичностью действия и большой зависимостью от различных условий внешней среды. Благодаря каталитической функции они обеспечивают быстрое протекание в почве огромного числа химических реакций. Из всего многообразия почвенных ферментов наиболее проста в определении каталаза, которая катализирует разложение образующегося в процессе биологического окисления пероксид водорода на воду и молекулярный кислород.

Активность каталазы является чувствительным показателем биологических процессов в почве, уровень её активности может служить эффективным критерием при

возникновении в почве стрессовой ситуации (Казеев, Колесников, 2012).

Целью настоящей работы был поиск биологических индикаторов для определения влияния пирогенного фактора на биологическую активность и плодородие чернозёма обыкновенного.

Объект исследования - чернозем обыкновенный карбонатный среднемощный слабогумусированный тяжелосуглинистый на желто-буром карбонатном суглинке. Для черноземов характерны дерновый и гумусо-аккумулятивный процессы, приводящие к накоплению гумуса во всем профиле, благоприятные физические свойства, водопрочная комковато-зернистая структура. Исследования по влиянию сжигания соломы и стерни ячменя на свойства чернозема проведены 29 июля 2016 года в Ботаническом саду Южного федерального университета. Почвенные образцы для лабораторно-аналитических исследований отбирали из верхнего 5 см сразу же после пожара, на 3 и 30-ые сутки. Для диагностики последствий палов был использован набор показателей биологической активности, включающий активность почвенных ферментов, обилие микроорганизмов, интенсивность дыхания и другие. Лучшие результаты показало определение активности каталазы вследствие высокой чувствительности и информативности к изучаемому фактору. Активность каталазы измеряли газометрическим методом А.Ш. Галстяна (1974). Для достоверности результатов, опыты проводили в трехкратной повторности. В опыте было 3 варианта. Вариант №1 был контрольным (не подвергался пирогенному воздействию), на варианте №2 почва подвергалась обычному палу, а на варианте №3 – более интенсивному палу с двойным количеством соломы.

Температура почвы до начала эксперимента на поверхности была +30°C, на глубине 5 см +24°C, на глубине 10 см +22,6°C. В результате инициирования пала температура за несколько минут значительно возросла. Изменение температуры зависело от глубины почвы и степени воздействия пожара (количества растительного вещества на поверхности почвы). Через 30 минут после пала температура на варианте №2 на поверхности температура увеличилась на 2,6°C, на глубине 5 см на 0,3°C, на глубине 10 см на 1,0°C от контроля. На варианте №3 температура увеличилась – на поверхности на 13,5°C, на глубине 5см на 3,5°C, на глубине 10 см на 2,0°C выше контроля.

В результате исследований установлено, что активность каталазы в верхнем слое контрольного участка в первый срок наблюдения составила 9,8мл O<sub>2</sub>/мин./г почвы. В черноземе через сутки после пирогенного воздействия активность каталазы достоверно снизилась на варианте №2 – на 7% от контроля, на варианте №3 –еще более значительно – на 26% от контроля. Эффект сохранялся и через трое суток после воздействия практически с теми же значениями активности каталазы. Через трое суток активность каталазы осталась ниже контрольных значений на 7% на варианте №2, и 18% –на варианте №3. Причиной изменения является инактивация активности фермента при высоких температурах. При этом эффект воздействия сохраняется длительное время. Через 30 суток после пирогенного воздействия происходит некоторое восстановление активности фермента относительно предшествующих сроков, однако полного восстановления значений не произошло.

Таким образом, можно сделать вывод, что пирогенный фактор существенно изменяет активность каталазы в зависимости от степени воздействия. Поэтому ее активность можно использовать для диагностики этого фактора и через длительное время после воздействия.

## **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

## **ЛИХЕНОИНДИКАЦИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ТЕРРИТОРИИ ПРОМЗОНЫ Г. ХИМКИ ВБЛИЗИ ЛЕНИНГРАДСКОГО ШОССЕ**

**Парамонова А.И.**

Московский государственный университет им. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
paramonova\_1551@mail.ru

### **Lichenoindication as a method of assessing the ecological status of the territory of the industrial zone of Khimki near the Leningrad highway**

**Paramonova A.I.**

В настоящее время с повышением нагрузки на природную среду под воздействием человеческой деятельности происходят трансформации в структуре, продуктивности и функционировании экосистемы в целом. В связи с этим остро стоит вопрос оценки состояния окружающей среды, а также возможности прогнозировать изменения в ней. Биологический контроль позволяет выявить отклонения и нарушения возникшие вследствие возрастания антропогенного воздействия.

Биоиндикация позволяет выявить результат негативного воздействия путём комплексной оценки живых организмов в среде их обитания. Традиционные методы, оценивающие химические и физические показатели, не дают полного представления о воздействии на биологическую систему, тогда как биоиндикационные показатели отражают реакцию организма на всё многообразие действующих на него факторов, имея при этом биологический смысл. Поиск биологических индикаторов и применения метода лихеноиндикации позволяет определить уровень загрязнения как на естественных, так и на урбанизированных территориях.

Различные аспекты лихеноиндикации загрязнения воздуха отражены в многочисленных публикациях. С 1974 года журнал «The Lichenologist» регулярно публиковал библиографию «Literature on air pollution and lichens». Интересным остаётся тот факт, что существуют различные объединения и общества изучающие непосредственно лишайники, одно из крупнейших - Американское бриологическое и лихенологическое общество. Также регистрация и оценка уровня развития и распространения лишайников является частью программы наблюдений многих станций сети глобального мониторинга окружающей среды.

Целью исследовательской работы является биоиндикация территории промзоны г. Химки вблизи Ленинградского шоссе на основе метода лихеноиндикации.

Для её достижения были поставлены задачи по изучению материала по исследованию в области биондикации, проведению лихеноиндикации и анализу полученных результатов для оценки экологического состояния территории промзоны.

На территории анализируемого участка был выделен участок расположенный в лесной зоне взятая для сравнения. Сама же бывшая промзона была разделена сеткой на квадраты 400\*400 м<sup>2</sup>.



Рис 1.1. Карта зон загрязнения территории бывшей промзоны вблизи Ленинградского шоссе, г.Химки (жёлтая зона - умеренное загрязнение, оранжевая - сильное, красная - очень сильное)

В результате проведённых исследований были найдены такие лишайники, как Пармелия бороздчатая - *Parmelia sulcata*: округлые листоватые слоевища серого цвета. Имеют на верхней поверхности сетчатый рисунок из светлых бороздок.

Опеграфа рыжеватая - *Opegrapha rufescens Pers.*: накипной лишайник с лирелло-видными апотециями Таллом лишайника развивается внутри субстрата или на его поверхности в виде мелкозернистой корочки коричневатого цвета, иногда незаметной. Апотеции черные или коричневатые, от округлых до удлинённо-эллипсоидных.

Ксантория настенная - *Xanthoria parietina*: слоевище довольно тонкое, розетко-видное или неопределённой формы, до 10 (20) см в диаметре, в центре тесно прижатое к субстрату, на периферии немного приподнятое над суб-стратом, рассечённое на хорошо выраженные лопасти. Верхняя поверхность слоевища желтая до оранжево-желтой (сероватая в затенённых условиях). Нижняя поверхность беловатая. Апотеции обычно многочисленные, иногда полностью покрывающие центральную часть, с оранжево-желтым диском. [2]

В данном случае преобладающим видом среди лишайников явилась Пармелия бороздчатая (*Parmelia sulcata Tayl*), который обитает на стволах и ветвях преимущественно лиственных пород и имеет высокую чувствительность к загрязнению.

При анализе состояния воздуха с помощью метода лишайноиндикации на площадке расположенной в лесной зоне было выявлено сильное загрязнение, что свидетельствует о близости данного участка к зоне активной деятельности человека, такой как стойка, движение строительной техники и въезд в посёлок Исток-2. По шкале качества воздуха по проективному покрытию лишайниками стволов деревьев [1], составляющее менее 20% данная территория относится к 1ой зоне с очень сильным загрязнением. В связи с полученными результатами территория леса, взятая для

оценки экологического состояния не оправдала ожиданий пониженного уровня загрязнения. По этой причине был взят способ с выделением зон с наименьшим загрязнением на территории бывшей промзоны, и приведены возможные источники загрязнения.

Наименьшее загрязнение наблюдается в точке 1 с умеренным загрязнением, которая располагается вблизи небольшого пруда и просеки. В остальном наблюдается сильное и очень сильное загрязнение (рис. 1.1).

На основе проведенного анализа территории на основе лишеноиндикации можно заключить, что наибольшее влияние на воздушную среду оказывает фактор близости к зоне строительства бывшей промзоны г.Химки. В связи с тем, что часть территории предназначается в будущем под жилую застройку необходимо по отношению к данной территории применять природоохранные меры, проводить мероприятия по снижению нагрузки на окружающую среду, в целях обеспечения благоприятных условий для проживания населения.

- 1.Мукминов М.Н., Шуралев Э.А.. Учебно-методическое пособие по курсу «Методы биоиндикации», Казань - 2011
- 2.Цуриков А.Г., Храмченкова О.М. - Листоватые и кустистые городские лишайники. Атлас-определитель – 2009
- 3.archive.neicon.ru - архив научных журналов
- 4.abls.org - The American Bryological and Lichenological Society (ABLS)

## **ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ DAPHNIA MAGNA ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ**

**Савина Н.Б.**

Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ (ИАТЭ НИЯУ МИФИ), г. Обнинск, РФ,  
nsavina15@yandex.ru

### **Variations of mitochondrial activity in two generations of daphnia magna after $\gamma$ -irradiation in low doses**

**Savina N.B.**

Низшие ракообразные *Daphnia magna* являются одним из тест-объектов широко используемых в водной экотоксикологии. В последнее время дафнии стали активно применяться в исследованиях острого и хронического радиационного воздействия на водные экосистемы.

Помимо основных, используемых в тестах на дафниях критериев выживаемости и плодовитости, немаловажным для понимания механизмов биологического действия радиации является метаболический критерий, который дает возможность оценить радиационно-индуцированный окислительный стресс, возникающий в организме после облучения.

**Целью** настоящей работы было исследовать изменение метаболической активности в двух поколениях водных беспозвоночных *Daphnia magna* после острого  $\gamma$ -излучения в широком диапазоне доз.

Для реализации поставленной цели требовалось решить следующие **задачи**:

1. С использованием МТТ-теста провести анализ нарушения митохондриальной активности ракообразных *Daphnia magna* в непосредственно облученном  $\gamma$ -квантами

в дозах 10, 100 и 1000 мГр поколения и в первом пострадиационном (необлученном) поколении.

2. Проанализировать влияние острого  $\gamma$ -облучения в исследуемых дозах на выживаемость ракообразных *D. magna* по источникам литературы.

3. С применением методов вариационной статистики провести корреляционный анализ радиационно-индуцированных эффектов выживаемости и митохондриальной активности в двух поколениях дафний.

Из односуточных дафний третьего помета от трех-пяти самок формировали поколение  $F_0$ , которое облучали  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в дозах 10, 100 и 1000 мГр (мощность дозы 2,8–96 сГр/мин) на установке «Луч-1» на базе Медицинского радиологического центра им. Цыба. Из новорожденных дафний третьего помета формировали следующее поколение  $F_1$ , которое не облучали. МТТ-анализ проводили на 4-суточных дафниях из каждого помета. Было проанализировано 35–44 пробы в нулевом и первом поколении соответственно. В каждом образце было по 50 особей. Дафнии из контрольных выборок каждого поколения всегда находились в тех же условиях, но без облучения.

МТТ-анализ, используемый в данной работе для оценки метаболической активности дафний, является колориметрическим методом, который измеряет активность ферментов, восстанавливающих желтый тетразолий бромид (МТТ) до фиолетового формазана в живых клетках. Показатель суммирует активность митохондриальных дегидрогеназ, в первую очередь сукцинатдегидрогеназы и других оксидаз, которые катализируют свободнорадикальные процессы в дыхательной цепи с образованием короткоживущего супероксид-анион радикала, а также широкого спектра долгоживущих активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительный стресс.

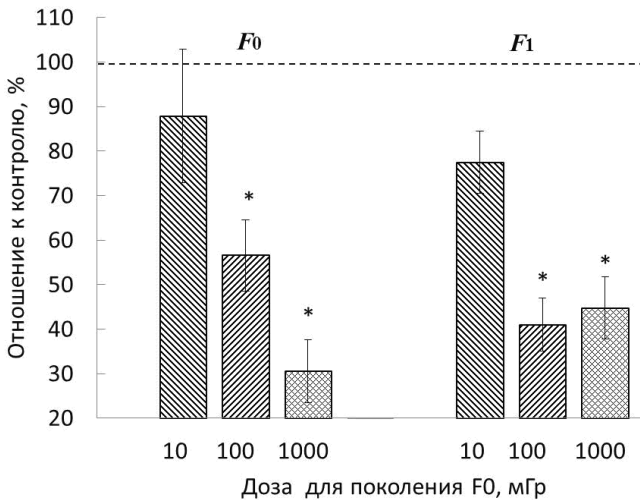


Рис. 1. Радиационно-индуцированные изменения митохондриальной активности в двух поколениях *D. magna* с увеличением дозы облучения исходной выборки от 10 до 1000 мГр.

Было выявлено, что  $\gamma$ -облучение оказывает на дафний токсический эффект при облучении в дозах 100 и 1000 мГр. При облучении в дозе 10 мГр изменение оптической плотности не значимо (рис. 1). Эффект сохраняется в первом поколении. Поскольку МТТ-тест интегрально отражает повышенный уровень активных форм кислорода, соотношение живых и мертвых клеток, инактивацию ферментов антиоксидантной защиты, то можно предположить, что радиация является индуктором, вызы-



вающим оксидативный стресс у облученных в дозах 100 и 1000 мГр дафний и из потомства из первого необлученного поколения.

На рисунке также видно, что митохондриальная активность в облученном поколении линейно снижается с увеличением дозы облучения. Несколько иной эффект наблюдается в первом необлученном поколении. У потомства дафний,

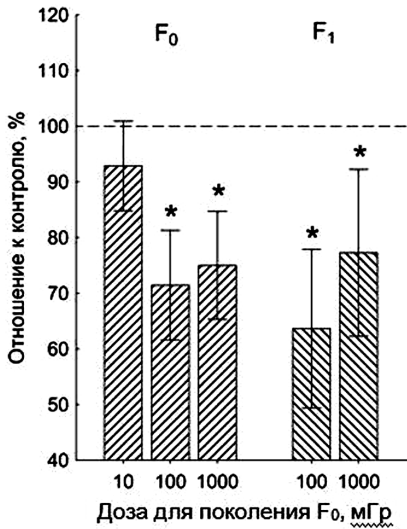


Рис. 2.

Исходя из полученных результатов, можно сделать следующие выводы:

1. Ионизирующее излучение является фактором, вызывающим токсический эффект, приводящий к нарушению митохондриальной активности у облученных  $\gamma$ -квантами в дозах 100 и 1000 мГр ракообразных *Daphnia magna* (поколение  $F_0$ ).

2. В результате облучения исходной выборки *Daphnia magna* (поколение  $F_0$ ) в дозах 100 и 1000 мГр происходит нарушение метаболической активности у потомства из необлученного поколения  $F_1$ , т.е. наблюдается сохранение токсического эффекта радиации.

3. Токсический эффект облучения в дозах 100 и 1000 мГр коррелирует со снижением выживаемости *Daphnia magna* в непосредственно облученном поколении  $F_0$  и в первом необлученном пострадиационном поколении  $F_1$  ( $r^2 = 0,40$ ), однако это значение находится на пределе статистической значимости ( $p = 0,09$ ). Таким образом, снижение жизнеспособности *D. magna* может частично быть вызвано снижением митохондриальной активности.

1. Сарапульцева Е.И., Горский А.И., Малина Ю.Ю. Радиационные риски смертности и сохранение продолжительности жизни  $\gamma$ -облученных в малых дозах дафний Радиационный риск, 2011. 20. №1. С.34-40

# СОДЕРЖАНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БЕНЗ(А)ПИРЕНА В ПОЧВАХ МОНИТОРИНГОВЫХ ПЛОЩАДОК НОВОЧЕРКАССКОЙ ЭЛЕКТРОСТАЦИИ

Саламова А.С. Сушкова С.Н., Минкина Т.М.,  
Дерябкина И.Г., Замулина И.В.,

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, terra\_gossa@mail.ru

## Content and distribution of benz[a]pyrene in soil of monitoring plots around Novocherkassk electrostation

Salamova A.S., Sushkova S.N., Minkina T.M., Deryabkina I.G., Zamulina I.V.

Главным маркером загрязнения почв полициклическими ароматическими углеводородами, подлежащим обязательному контролю во всем мире, является бенз(а)пирен (БаП), канцероген и мутаген 1 класса опасности. Главным предприятием-гигантом энергетической отрасли в Ростовской области по количеству атмосферных выбросов является филиал ОАО "ОГК-2" Новочеркасская ГРЭС (НчГРЭС). Ежегодный объем выбросов НчГРЭС составляет более 90 тысяч тонн в год, из них около 10% приходится на долю ПАУ. Цель работы: оценить содержание БаП в почвах зоны влияния НчГРЭС с 2012 по 2015гг.

Для мониторинговых исследований на расстоянии 1-20км от НчГРЭС было заложено 10 мониторинговых площадок для отбора почвенных образцов. Часть приурочена к точкам единовременного отбора проб воздуха (точки № 1, 2, 3, 5, 6, 7), расположенных в радиусе 1-3км вокруг источника загрязнения. Мониторинговые площадки № 4, 5, 8, 9, 10 были заложены в соответствии с линией преобладающего направления розы ветров. Образцы почв отбирались с глубины 0-5 и 5-20 см ежегодно в период с 2012 по 2015гг. В отобранных образцах почв определяли БаП методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе (Agilent 1260 Germany 2014) с флуориметрическим детектированием. Почвенные образцы подготавливались для химического анализа в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02-84. Извлечение БаП из почв и растений исследуемых объектов проводилось методом экстракции субкритической водой.

Максимум накопления поллютанта приходится на площадки мониторинга, наиболее приближенные к источнику эмиссии в С-3 направлении, совпадающем с преобладающим направлением розы ветров на местности за исследуемый период. Содержание БаП в 5-см слое почв площадки мониторинга №4, расположенной в 1,6км на С-3 от источника загрязнения, является максимальным в зоне исследования и составляет от 279,3 до 335,6нг/г за период исследований и от 115,3 до 175,4 нг/г в 5-20 см слое почв. Превышение значений ПДК для почв данной площадки составляет от 14 до 17 ПДК в 5-см слое почв и от 6 до 9ПДК в 5-20см слое почв. Содержание БаП почв мониторинговой площадки №8, расположенной в 5 км на С-3 от источника эмиссии составляет до 6ПДК в 5-см слое и до 2ПДК в 5-20см слое. В почве мониторинговых площадок № 9 и №10, расположенных в 15 и 20км от НчГРЭС, соответственно, содержание БаП в 5-см слое почв составляет от 5 до 7ПДК в течение периода наблюдений. Содержание БаП в почвах мониторинговых площадок № 1, 2, 3, 5, 6, 7, расположенных в радиусе 1-3км вокруг источника загрязнения составляло от 1,5 до 3ПДК. Главным фактором накопления и распределения БаП а почвах данных площадок являлись физико-химические свойства почв. Тенденции накопления БаП в

почвах мониторинговых площадок, расположенных вокруг НЧГРЭС, на протяжении многих лет остаются преимущественно неизменными. Основными тенденциями в период с 2012 по 2015гг. становится постепенное накопление БАП в зоне мониторинга.

Таким образом, территория распространения наиболее густого дымового шлейфа, содержащего БАП, составляет до 20км в северо-западном направлении, а основной объем выбросов предприятия приходится на территорию в радиусе до 5км. Это приводит к накоплению поллютанта в почвах и увеличению их загрязнения БАП по мере близости к предприятию.

#### **Благодарности**

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ № МК-6827.2015.4, РФФИ № 16-35-00347 мол\_а, 15-35-21134.

### **ALLIUM TEST: A RELIABLE ASSAY FOR DETECTING GENOTOXICITY OF ENGINEERED NANOPARTICLES**

**Safronova N.A., Kulikova N.A.**

Lomonosov Moscow State University, Moscow Russia, safronova.nina2007@mail.ru

#### **Аллиум-тест: надежный метод определения генотоксичности искусственных наночастиц**

**Сафронова Н.А., Куликова Н.А.**

Engineered Nanoparticles (NP) are industrially produced particles with at least one dimension in the nano-scale. NPs compared to their analogues bulk compounds are more chemically reactive and have a higher biological activity, which is caused by a greater surface area per unit mass and by NPs' size that is comparable with the size of cellular structures. Considering this ecotoxicology risk assessment provides rigorous attention towards NPs (EFSA 2011 [1]; OECD 2010[2]); nevertheless particular regard is needed for issues concerning possible mutagenic hazards for living organisms. In order to study them genotoxicity assays that are reliable for NPs are necessary. Standard tests that are efficient for bulk material have demonstrated to be problematic when nanomaterials were tested. In fact, many of the most commonly used genotoxicity tests (Ames test, Comet assay and micronucleus test) displayed false positive/negative results, which were caused by interactions between NPs and the method components during the assay performance [3,4,5]. The interfering interactions are a consequence of two aspects: (a) the specific NPs' properties (high adsorption capacity, various optical properties, hydrophobicity, chemical composition, surface charge, surface properties, high catalytic activities [3]) and (b) the method features (such as: detecting mode, used reagents, operation sequence, or applied cell or DNA treatment, etc.). On the contrary, more direct methods with a simpler procedure (the chromosomal aberration (CA) test, for instance) do not provide possibilities for methodic interference and show reliable assay results [5]. Allium cepa chromosomal aberration assay (also called Allium test) is a good example for this type of genotoxicity tests. Allium test is based on the evaluation of DNA damages that are expressed as CAs, disturbances in the mitotic cycle, nuclear alterations and presence of micronucleus in the root tip meristem cells. Common onion (*Allium cepa* L.) is a very suitable bioassay model organism for genotoxic studies, since it provides: relatively large chromosomes that allow easily to detect CAs; high sensitivity; clear and fast response to

different genotoxic substances; a high proportion of dividing cells in the mitosis cycle; diversity in the chromosome morphology; stable karyotype; and rare spontaneous chromosomal damages. The assay itself is simple, sensitive and inexpensive; it may be applied in different plant habitats (water, soil). Heretofore Allium test has been successfully used in different modifications to assess cytogenetic and genotoxic effects of different NPs: silver, TiO<sub>2</sub>, ZnO<sub>2</sub>, Bismuth (III), diamond, metal-containing and other NPs [6-16]. Therefore, we conclude that Allium test could be recommended as a reliable method for detecting genotoxicity of NPs.

1. EFSA Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain//*EFSA Journal*, v.9, pp.2140 – 2176, 2011
2. OECD. List of manufactured nanomaterials and list of endpoints for phase one of the sponsorship programme for the testing of manufactured nanomaterials: revision// *OECD Environmental Health Safety Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials*, v.27, pp. 1–16, 2010
3. Karlsson H. L., Bucchianico S. D., Collins A. R. and Dusinska M. Can the comet assay be used reliably to detect nanoparticle-induced genotoxicity?// *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v.56, issue 2, pp.82-96, 2015
4. Magdolenova Z., Lorenzo Y., Collins A., Dusinska M. Can standard genotoxicity tests be applied to nanoparticles?// *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, v. 75, pp. 800–806, 2012
5. Magdolenova Z., Collins A., Kumar A., Dhawan A., Stone V., Dusinska M. Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles// *Nanotoxicology*, v.8, issue 3, pp.233-78, 2014
6. de Andrade L.R., Brito A.S., Melero A.M., Zanin H., Ceragioli H.J., Baranauskas V., Cunha K.S., Irazusta S.P. Absence of mutagenic and recombinagenic activity of multi-walled carbon nanotubes in the Drosophila wing-spot test and Allium cepa test// *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.99, pp.92-97, 2014
7. De Lima R., Feitosa L., do Espírito Santo Pereira A., de Moura M.R., Ahmad Aouada F., Henrique Capparelli Mattoso L., Fernandes Fraceto L. Evaluation of the genotoxicity of chitosan nanoparticles for use in food packaging films//*Journal of Food Science*,v.75, issue 6, pp.89-96, 2010
8. Grillo R., Pereira A.E., Nishisaka C.S., de Lima R., Oehlke K., Greiner R., Fraceto L.F. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control//*Journal of Hazardous Materials*, v.278, pp.163 – 171, 2014
9. Klančnik K., Drobne D., Valant J., Dolenc Koče J. Use of a modified Allium test with nanoTiO<sub>2</sub>//*Ecotoxicology and Environmental Safety*,v.74, issue 1, pp.85-92, 2011
10. Konotop Ie.O., Kovalenko M.S., Ulynets V.Z, Meleshko A.O., Batsmanova L.M., Taran N.Iu. Phytotoxicity of colloidal solutions of metal-containing nanoparticles//*Cytology and Genetics*, v.28, issue 2, pp.37-42, 2014
11. Liman R. Genotoxic effects of Bismuth (III) oxide nanoparticles by Allium and Comet assay// *Chemosphere*,v.93, issue 2, pp.269-273, 2013
12. Prokhorova I.M., Kibrik B.S., Pavlov A.V., Pesnya D.S. Estimation of mutagenic effect and modifications of mitosis by silver nanoparticles//*Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, v.156, issue 2, pp.255-259, 2013
13. Rigo L.A. , Frescura V., Fiel L., Coradini K., Ourique A.F., Emanuelli T., Quattrin A., Tedesco S., Silva C.B., Guterres S.S., Pohlmann A.R., Beck R.C. Influence of the type of vegetable oil on the drug release profile from lipid-core nanocapsules and in vivo genotoxicity study// *Pharmaceutical Development and Technology*, v.19, issue 7, pp.789-798, 2014
14. Safronova N., Stolbova V., Kulikova N. Genotoxic Effect of Nanodiamonds on the Root Tip Cells of Onion (*Allium cepa* L.)// *Russian Journal of Physical Chemistry, issue 2, 2017 (in print)*
15. Suresh Kumar R.S., Shiny P.J., Anjali C.H., Jerobin J., Goshen K.M., Magdassi S., Mukherjee A., Chandrasekaran N. Distinctive effects of nano-sized permethrin in the environment// *Environmental Science and Pollution Research*,v.20, issue 4, pp.2593-2602, 2013
16. Velluti F., Mosconi N., Acevedo A., Borthagaray G., Castiglioni J., Faccio R., Back D.F., Moyna G., Rizzotto M., Torre M.H. Synthesis, characterization, microbiological evaluation, genotoxicity and synergism tests of new nano silver complexes with sulfamoxole: X-ray diffraction of [Ag<sub>2</sub>(SMX)<sub>2</sub>]-DMSO// *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.141, pp.58-69, 2014

# ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО НАНОЧАСТИЦАМИ НИКЕЛЯ, ЦИНКА И МЕДИ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ

Тимошенко А.Н., Колесников С.И.,

Южный Федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, aly9215@mail.ru

## Assessment of influence of pollution of the chernozem ordinary nanoparticles of nickel, zinc and copper on activity of the catalase

Timoschenko A.N., Kolesnikov S.I.

В настоящее время особое внимание уделяется публичному обсуждению рисков, связанных с существованием наночастиц и наноматериалов. Высокая реакционная способность и малый размер (1–100 нм) позволяют им проявлять повышенное токсическое действие по отношению к биологическим организмам. Определяющим моментом в оценке риска является установление возможной токсичности наноматериалов. Необходимо исследование поведения и перемещений наночастиц в окружающей среде и, самое главное, повлияют ли эти материалы на состояние природы.

В модельном лабораторном опыте было исследовано влияние нанопорошков Ni, Zn и Cu на биологические свойства чернозема обыкновенного (Ростов-на Дону, Ботанический сад ЮФУ). Биологические свойства первыми реагируют на химическое загрязнение.

Цель данной работы — исследовать закономерности влияния загрязнения наночастицами Ni, Zn и Cu на активность каталазы чернозема обыкновенного в модельном опыте.

Изучали действия разных концентраций наночастиц металлов – 100, 1000, 10000 мг/кг.

Почву инкубировали в вегетационных сосудах при комнатной температуре (20-22 °С) и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости) в трехкратной повторности. Образцы для лабораторно-аналитического исследования отобраны через 10, 30 и 90 дней после загрязнения.

Лабораторно-аналитические исследования выполнены с использованием методов, общепринятых в биологии, почвоведении и экологии (Казеев, Колесников, 2012). Активность каталазы определяли по методу Галстяна (1978).

В результате исследования было установлено, что с повышением концентрации загрязняющих веществ каталазная активность чернозема обыкновенного заметно снижается. Наиболее токсичным по отношению к данному показателю оказался нанопорошок Zn, наименее токсичным нанопорошок Ni. Наблюдается зависимость изменения активности каталазы от времени инкубирования наночастицами Ni и Zn: чем дольше период загрязнения, тем меньше активность каталазы. Для наночастиц Cu через 90 суток наблюдается тенденция к восстановлению. Активность каталазы выше, чем на 30-е сутки после загрязнения.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

1. Галстян А.Ш. Унификация методов определения активности ферментов почв // Почвоведение. 1978. № 2. С. 107-114.
2. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета. 2012. 260 с.

# БИОТЕСТИРОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТА Ag/AgCl НА ПРИМЕРЕ ФИТОПЛАНКТОНА

Тригуб А.Г., Дмитриева Е.С.

ФГБНУ "ВНИРО", г. Москва, РФ, morflot9@rambler.ru

## The bioassay of Ag/AgCl nanocomposite on example of phytoplankton

Trigub A.G., Dmitrieva E.S.

Существенное увеличение интереса к наночастицам связано с открытием возможности использования наноматериалов во многих областях науки и техники. В мировом сообществе уделяется пристальное внимание к нанотехнологиям и перспективам их использования, а также к разработке методов оценки биобезопасности продуктов нанотехнологий. Практическое применение наноматериалов способно привести к росту технического прогресса и экономики. В то же время, в один ряд с техническим развитием встает проблема изучения и прогнозирования влияния новых материалов на окружающую среду, а также разработка стандартов безопасности. Одним из таких продуктов являются наночастицы серебра, которые могут быть в виде кластеров, коллоидов и нанокompозитов с различными стабилизаторами. В настоящее время наносеребро одно из часто используемых наноматериалов в потребительских товарах. Эффекты наночастиц серебра определяются размерами, концентрациями и их стабильностью. Препараты на основе наносеребра и их исследования представляют серьезный научный интерес и направлены против различных антибиотико-резистентных организмов.

Цель работы заключалась в проведении хронических экспериментов на фитопланктоне методом биотестирования, а также обнаружение мест локализации наночастиц Ag/AgCl в клетках водорослей после интоксикации.

Для исследований использовали стандартные тест-объекты – пресноводные зеленые одноклеточные водоросли *Scenedesmus quadricauda* и морские диатомовые водоросли *Phaeodactylum tricornutum*. В качестве токсиканта – биоцидный препарат на основе нанокompозита Ag/AgCl стабилизированный неионогенным ПАВ. Размер частиц 10-70 нм. Продолжительность хронических экспериментов составила 41 сутки в трех повторностях. При проведении экспериментов использовали пресную питательную среду Прата и морскую среду Гольдберга соленостью 20<sup>0</sup>/<sub>00</sub> в модификации Кабановой. Освещенность составляла 3000 лк со сменой темного и светового периода каждые 12 часов при температуре 20±2<sup>0</sup>С. Численность водорослей в контроле и опыте определяли методом измерения быстрой флуоресценции на приборе «Флюорат 02-3М». Детекцию и выявление локализации наночастиц Ag/AgCl в клетках водорослей проводили методом аналитической просвечивающей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 100 кВ на аналитическом просвечивающем микроскопе JEOL -2100 (JEOL, Япония) с энергодисперсионным рентгеновским детектором X-Max (Oxford instruments, Великобритания).

Подготовку клеток водорослей для анализа на аналитическом просвечивающем микроскопе проводили следующим образом: После суток экспозиции водорослей в нанокompозите Ag/AgCl с концентрацией 2 мг/л, клетки отмывали на чистых средах для культивирования путем центрифугирования при 4000 об/мин. Осадок смешивали с чистой средой, содержащей 2,5% глутарового альдегида и 4% формальдегида, и

затем дофиксировали в 1% растворе  $\text{OsO}_4$  в течение 2 часов. Затем проводили процедуру обезвоживания в спиртовых растворах возрастающей процентной концентрации (30, 40, 50, 60, 70, 80, 96 - каждый этап по 20 минут и 100% - 30 минут). Далее проводили заливку с ацетоном и эпоксидной смолой в пропорциях (1:3, 1:1, 3:1) и чистой смолой. Каждый этап заливки занимал сутки. После чего залитые пробы полимеризовали при  $37^\circ\text{C}$  в течение суток и далее до полного застывания при  $64^\circ\text{C}$ . Заполимеризованные эпоксидные блоки нарезали на ультрамикротоме алмазным ножом на срезы толщиной 80-100 нм. Полученные срезы монтировали на медные сеточки для электронной микроскопии с ультратонким слоем из формвара, контрастировали по Рейнольдсу и стабилизировали углеродом.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel - 2010, достоверность рассчитывали при помощи критерия Стьюдента с различными дисперсиями, для уровня значимости 0,05.

Для пресноводных водорослей *S. quadricauda* исследованы 4 концентрации нанокompозита Ag/AgCl (0,05; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/л). В ходе хронического эксперимента установлено, что концентрации 0,5 и 1,0 мг/л на протяжении всего эксперимента ингибировали рост численности клеток относительно контроля. В концентрации 0,1 мг/л в течение 14 суток наблюдался альгостатический эффект, характеризующийся длительным угнетением деления клеток. После 14 суток в концентрации 0,1 мг/л видимо произошла адаптация клеток к ингибирующему действию нанокompозита Ag/AgCl, и лишь на 25 сутки эксперимента кривая роста клеток водорослей вышла на стационарную фазу. Как правило, в контрольной культуре без воздействия токсикантов кривая роста численности клеток водорослей выходит на стационарную фазу роста на 14 сутки. В концентрации 0,1 мг/л численность клеток достоверно ниже была с 4 по 20 сутки, а на 25 сутки численность достигла контрольного значения и на 30 сутки стала достоверно выше. Это связано с тем, что кривая роста численности клеток, в контроле достигнув стационарной фазы роста на 14 сутки, снижается. В концентрации 0,05 мг/л альгостатический эффект наблюдался до 7 суток эксперимента, на протяжении 41 суток численность клеток водорослей в данной концентрации была достоверно ниже контроля.

Для морских одноклеточных водорослей *P. tricornutum* также были исследованы 4 концентрации нанокompозита Ag/AgCl (0,25; 0,5; 1,0 и 2,0 мг/л). По результатам эксперимента установлено, что в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л ингибирование роста численности клеток происходило на протяжении всего эксперимента, однако на 30 сутки в концентрации 1,0 мг/л численность клеток начала расти в данной концентрации, что также можно охарактеризовать альгостатическим эффектом. В концентрации 0,5 мг/л на протяжении всего эксперимента численность клеток водорослей была достоверно ниже контроля и лишь на 25 сутки, достигнув стационарной фазы, достигла по численности контроль, после чего численность была достоверно ниже контроля. В концентрации 0,25 мг/л на 14 сутки наблюдалась достоверная стимуляция численности клеток водорослей относительно контроля вплоть до 25 суток, после чего начала снижаться.

По полученным результатам аналитической электронной микроскопии установлено, что наночастицы беспрепятственно попадают в клетки водорослей, как через клеточную стенку, так и через мембрану клетки. Однако не было обнаружено ни путей поступления наночастиц в клетку, ни конкретных мест локализации, где бы они накапливались.

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ ЗАЛЕЖЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Трушков А.В., Казеев К.Ш., Одабашян М.Ю.

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, trushkov\_tolik@mail.ru

### Restoration of enzymatic activity of soils of deposits of different age

Trushkov A.V., Kazeev K.Sh; Odabashyan M.Y.

Ежегодно из севооборота выводятся сельскохозяйственные земли в связи антропогенным воздействием, нарушением агротехники и ряда других причин. Поэтому приобретает особую актуальность решение вопросов, связанных с перспективой использования залежей и интенсивность процесса их восстановления.

При выводе пахотных почв из сельскохозяйственного оборота и прекращение антропогенного воздействия природные почвообразовательные процессы способствуют восстановлению пахотных почв: бывшие пахотные почвы трансформируются по дерновому типу, отмечается увеличение гумусированности, повышение водоустойчивости, снижение плотности. Почвы на черноземных залежах обладают более высоким уровнем плодородия, чем прилегающие пахотные участки (Романенко и др., 2008; Мясникова и др., 2015).

Цель работы – изучить изменение биологических свойств почвы в ходе постагрогенной восстановительной сукцессии.

Изучение сукцессионных процессов требует качественного выбора объектов исследования и связано это в первую очередь с продолжительностью отдельных стадий. Для наблюдения и мониторинга на территории ботанического сада Южного федерального университета был выделен опытный полигон, представляющий собой пахотный участок, поддерживаемый регулярными обработками в состоянии черного пара, одногодичную залежь в бурьянистой стадии восстановительной сукцессии. Эти два участка сравнивали с эталонным участком целинной степи памятника природы «Персиановская степь» и расположенной рядом залежью десятилетней давности. Исследования проводили в 2016 году: 1 срок – 3 марта, 2 срок - 10 июня. Полевые и лабораторно-аналитические исследования выполнены с использованием общепринятых в экологии, биологии и почвоведении методов. Были исследованы температура, влажность, плотность почв, заложены разрезы и прикопки, определено содержание гумуса (Казеев, Колесников, 2012). Активность каталазы изучена по методике А.Ш. Галстяна (1978), инвертазы – по методике Галстяна в модификации Ф.Х. Хазиева (1990), содержание общего гумуса по методу И.В. Тюрина в модификации Никитина (Практикум, 1989; Казеев и др., 2003).

Содержание гумуса определяется сочетанием экологических факторов и, в целом, определяется степенью нарушения почвы при антропогенном воздействии. Наибольшее различие в содержании количества органического вещества в исследуемых почвах отметили в верхних горизонтах. В почвах пахотного участка ботанического сада выявили в два раза меньшее содержание гумуса по сравнению с контрольным участком «Персиановской степи» в двух сроках отбора. На глубине 45-50 см различие в содержании количества органического вещества незначительное независимо от вида землепользования.

Ранее было показано, что наиболее чувствительными диагностическими показателями определения последствий влияния распашки на свойства почв является ак-



тивность инвертазы, имеющей прямую зависимость от содержания гумуса (Даденко, 2004; Казеев и др., 2008). Настоящие исследования показали, что активность инвертазы максимальна на контрольном участке в пахотном горизонте. Ферментативная активность на контрольном участке превышает на 60% таковую в почве пахотного участка, 58% молодую залежь и 70% десятилетнюю залежь. На глубине 45-50 см различие ферментативной активности незначительно независимо от вида землепользования.

Распределение активности каталазы отличается неоднозначностью, то возрастала, то понижалась в разные сроки исследования.

В результате исследования можно сделать вывод, что оставление старопашотной черноземной почвы в залежь сопровождается увеличением ферментативной активности и содержания органического вещества почвы, но для этого требуется длительное время. Для диагностики процессов восстановления биологической активности почв лучшие результаты получили при использовании активности инвертазы, поскольку она более чувствительна к сельскохозяйственному воздействию, нежели активность каталазы.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

## **ОТДАЛЕННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИОЧАСТОТНОГО ОБЛУЧЕНИЯ DAPHNIA MAGNA В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА**

**Устенко К.В., Ускалова Д.В., Сарапульцева Е.И.**

Научно исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Москва, РФ, ksustenko@gmail.com

### **The long-term biological effects of low-intensity RF exposure *Daphnia magna* at different periods of ontogeny**

**Ustenko K.V., Uskalova D.V., Sarapultseva E. I.**

**Цель:** Проанализировать изменения выживаемости, плодовитости и метаболической активности в четырех поколениях ракообразных *Daphnia magna* после кратковременного низкоинтенсивного радиочастотного облучения с параметрами сотовой связи в разные периоды онтогенеза.

**Материал и методы:** Односуточных дафний (поколение F<sub>0</sub>) облучали в ювенильный период (1 – 5 сут онтогенеза) и в период созревания (6 – 10 сут) на лабораторной установке, непрерывно генерирующей электромагнитное излучение с частотой 900 МГц и плотностью потока энергии 100 мкВт/см<sup>2</sup>. Далее дафний культивировали в климатостате до 21-суточного возраста. Из односуточных особей формировали последовательно поколения F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub>, которые не облучали. Погибших и новорожденных дафний учитывали и удаляли. 5-ти и 10-суточных рачков использовали в МТТ-тесте, который интегрально отражает активность митохондриальных дегидрогеназ, уровень свободных радикалов, соотношение живых и мертвых клеток и работу системы антиоксидантных ферментов.

**Результаты:** При облучении в ранний ювенильный период обнаружено значимое снижение выживаемости *D. magna*. Эффект сохранялся в первом пострадиационном поколении и нивелировался во втором и третьем. Значимое снижение плодовитости после облучения исходной выборки в 1 – 5 сут обнаружено только в поколении F<sub>2</sub>. Облучение в период созревания привело к отдаленным эффектам снижения плодовитости в поколениях F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub>. В третьем пострадиационном поколении плодовитость *D. magna* восстанавливалась. Нарушение выживаемости дафний коррелировало с нарушением метаболической активности ( $r = 0,66$ ).

**Выводы:** НИ РЧ излучение может вызывать отдаленные эффекты, снижая демографические показатели *D. magna*. Облучение в ранний ювенильный период снижает выживаемость дафний в ближайшие сроки после облучения и нарушает плодовитость потомства во втором пострадиационном поколении. Облучение в период созревания вызывает длительные отдаленные эффекты, снижая плодовитость потомства облученных особей в первом и втором необлученных поколениях. Обнаруженные в работе эффекты следует учитывать при анализе прямых и отдаленных последствий действия НИ РЧ излучения на природные экосистемы.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОВ НА СИМБИОТИЧЕСКУЮ АССОЦИАЦИЮ МОРСКИХ ЗВЁЗД *ASTERIAS RUBENS* L. И КОПЕПОД *SCOTTOMYZON GIBBERUM* SCOTT НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федюнин В.А., Смуров А.В., Поромов А.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
v-fedyunin@mail.ru

### **Investigation of the metal impact on the symbiotic association of asteroid *Asterias rubens* L. and copepod *Scottomyzon gibberum* Scott threw the different levels of biological organisation**

**Fedyunin V.A., Smurov A.V., Poromov A. A.**

Работа посвящена изучению особенностей действия некоторых металлов и их смесей на различные уровни биологической организации симбиотической ассоциации морских звёзд *Asterias rubens* L. и копепод *Scottomyzon gibberum* Scott, от молекулярно-генетического до уровня двувидовых симбиозов, в районах Кандакшского залива Белого моря с разными уровнями антропогенной нагрузки и в экспериментальных условиях. Обобщение полученных данных позволит установить закономерности развития токсических эффектов, начиная с молекулярного и заканчивая организменным уровнем организации, определить летальные концентрации и характерные поведенческие реакции изучаемых организмов для некоторых металлов. В качестве объекта исследования выбрана распространённая субарктическая морская звезда *A. rubens* Linnaeus, 1758. Высокая экологическая пластичность обеспечивает широкое распространение и устойчивость к антропогенному воздействию, что обуславливает возможность их использования в качестве модельных организмов на большой территории и в условия высоких уровней нагрузки. В экосистемах морские звезды являются консументами второго и третьего порядков, а значит конечным

звеном биоаккумуляции веществ по пищевым цепям (Matranga, Pinsino, Randazzo, Giallongo, & Dubois, 2012). На морских звездах *A. rubens* обитают эктосимбионты - копеподы *S. gibberum* Scott., впервые описанные для Белого моря А.В. Смуровым (Смуров, 1993) Взрослые самки *S. gibberum*, обитают на поверхности морских звезд *A. rubens*, и могут индуцировать образование галлов. Экстенсивность заселенности в некоторых точках может достигать 100%.

Речная система бассейна Белого моря относится к Северному экономическому району с высокой плотностью промышленных объектов. В промышленности этого района основную роль играют предприятия цветной металлургии. Интенсивное освоение водосбора Белого моря способствовало формированию зон повышенного антропогенного воздействия, в том числе связанного с высоким уровнем загрязненности природных вод неочищенными и недостаточно очищенными промышленными стоками, содержащими тяжелые металлы, такие как медь, цинк, свинец, ртуть и другие (Евсеев, 1996; Обзоры загрязненности окружающей среды в Российской Федерации 2000 – 2012 годы; 2009. Качество морских вод по гидрохимическим показателям, 2009). В качестве исследуемых веществ выбраны хлориды марганца (II), меди (II), кадмия (II), свинца (II), железа (III), кобальта (II), концентрации которых были определены по литературным данным и данным предварительных экспериментов.

Экспериментальные работы были выполнены на базе Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова (ББС МГУ), расположенной на полуострове Киндо в районе Кандакшского залива.

В ходе работы было исследовано воздействия некоторых металлов на симбиотическую ассоциацию морских звезд *A. rubens* L. и копепод *S. gibberum* Scott на различных уровнях биологической организации, первым из которых является уровень двувидовых сообществ – симбиотическая ассоциация. Учет симбионтов может свидетельствовать о состоянии окружающей среды, так как экстенсивность и интенсивность заселенности может напрямую зависеть от условий, в которых находится популяция хозяев. Многие симбионты более чувствительны к изменениям внешней среды за счет планктонных свободноживущих стадий жизненного цикла (Лыскин, 2000; Dinamani 1986; Roberts, 1989; Goh, 1997).

Была проведена оценка заселенности морских звезд *A. rubens* копеподами *S. gibberum* из природных популяций, обитающих в районах с разными уровнями антропогенной нагрузки в Кандакшском заливе Белого моря. На организменном уровне была оценена выживаемость морских звезд и плодовитость копепод *S. gibberum* (число науплиев вылупившихся из яичевых мешков) при воздействии металлов в экспериментальных условиях.

Поведенческие реакции (скорость переворота) морских звезд и биоаккумуляция металлов были определены как в экспериментальных условиях, так и для морских звезд из природных популяций, обитающих в районах с разными уровнями антропогенной нагрузки.

При переходе на цитогенетический уровень были охарактеризованы клетки целомической жидкости (далее ЦЖ) морских звезд и их функциональная активность при воздействии некоторых металлов: оценена доля микроядер и лизосомальная активность в клетках ЦЖ в экспериментальных условиях и в клетках ЦЖ морских звезд из природных популяций, обитающих в районах с разными уровнями антропогенной нагрузки.

Целоциты иглокожих выбраны как клеточная модель благодаря простоте выделения первичных клеточных линий, эти клетки предположительно проявляют схожий ответ на действие поллютантов как в условиях целого организма, так и в

условиях клеточной культуры, что связано с практически свободной циркуляцией воды между окружающей средой и целомической полостью.

Были исследованы изменения экспрессии стресс-ассоциированных генов в клетках ЦЖ морских звезд после экспозиции металлов методом количественного ПЦР-анализа.

Описаны различия в концентрации клеток в целомической жидкости морских звезд из разных точек исследуемой акватории, и доли микроядер в этих клетках, что, возможно, связано с уровнями антропогенной нагрузки и заселенностью копеподами. Показаны статистически достоверные корреляции между уровнями заселенности копеподами и числом клеток в целомической жидкости морских звезд. (Rogotov 2013b; Поромов, Смуров 2014).

Выявлено увеличение токсических эффектов смеси металлов даже при незначительном понижении солёности в короткосрочных экспериментах (3-7 дней) и наступление адаптации при более длительном воздействии (10 дней). Выявлены высокие летальные значения интегральной токсичности металлов, что обуславливает устойчивость морских звезд *A. rubens* к антропогенному загрязнению. Были исследованы особенности биоаккумуляции металлов в морских звездах в экспериментальных условиях, оценено число клеток и их распределение при воздействии шестью металлами в различных концентрациях (медь, железо, кадмий, марганец, свинец, кобальт).

Выявлена тенденция к различной скорости накопления металлов, убывающей в ряду: Pb>Cu>Fe>Mn>Cd>Co.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА КАТАЛАЗА СОЛОНЧАКА ГИДРОМОРФНОГО СОРОВОГО ТАМАНИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ**

**Фесенко В.И., Залозных С.А., Колесников С.И.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, fesenko.violetta@gmail.com

### **The research activity of the enzyme catalase of hydromorphic Taman salt-marsh contaminated with heavy metals and oil**

**Fesenko V.I.**

Тип почвы солончак гидроморфный сорový распространён на территории Таманского полуострова. Ввиду повышения антропогенного воздействия и малоизученности данного типа почвы, так как солончак обладает малой распространённостью и не широко используется в области сельского хозяйства, возникает необходимость в его полноценном мониторинге.

Цель настоящей работы — исследовать активность фермента каталазы солончака гидроморфного сорového Тамани при загрязнении тяжёлыми металлами и нефтью.

Для реализации поставленной цели был заложен ряд модельных опытов. В качестве объекта исследования был выбран солончак гидроморфный сорový карбонатный (Краснодарский край, Темрюкский район, п. Сенной, 45°19.460' N 37°00.222' E). Почва для модельных экспериментов была отобрана из верхнего слоя (0-10 см), где накапливаются загрязняющие почву вещества.

При постановке модельных экспериментов в качестве загрязняющих веществ использовали тяжёлые металлы (Cr, Cu, Ni, Pb) и нефть. Тяжёлые металлы вносили в

почву в форме оксидов: PbO, CuO, CrO<sub>3</sub>, NiO в количестве 100, 1000 и 10000 мг/кг. ПДК нефти в почве не разработана, поэтому ее содержание в почве выражали в процентах. Нефть — 1, 5, 10 % от массы почвы. Активность каталазы определяли по методике Галстяна. Опыты проводили в трехкратной повторности.

В результате исследования было выяснено, что привнесение в почву Cr, Cu, Ni, Pb и нефти приводит к снижению активности каталазы (рис.1). В целом, прослеживается прямая зависимость между степенью снижения активности фермента и концентрацией в почве загрязняющего вещества. По степени отрицательного воздействия на каталазу выявлен следующий ряд ТМ: Cr > Cu > Ni > Pb.

Значения 1 ПДКи 10 ПДК для тяжелых металлов и количество нефти 1 и 5 % от массы почв статистически отрицательного влияния не оказывают. Достоверно отрицательное влияние на активность каталазы оказывают 100 ПДК ТМ и количество нефти 10% от массы почвы, но наблюдается тенденция к ухудшению показателя каталазы с увеличением концентрации загрязняющих веществ. Негативное воздействие ТМ вызвано их способностью связываться с сульфгидрильными группами белков, что нарушает синтез и работу ферментов (Торшин, 1990).

Негативное действие нефти на активность каталазы в почве связано с обволакиванием нефтяными углеводородами почвенных частиц и нарушением водно-воздушного режима почвы, содержанием в нефти токсичных веществ (тяжелых металлов, ароматических углеводородов, фенолов и др.), накоплением в почве токсичных продуктов окисления углеводородов (гексадецилового спирта, пальмитиновой, бензойной, салициловой кислот и др.), значительным увеличением соотношения C:N и т.д. (Киреева и др., 1998).

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (6.345.2014/К) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

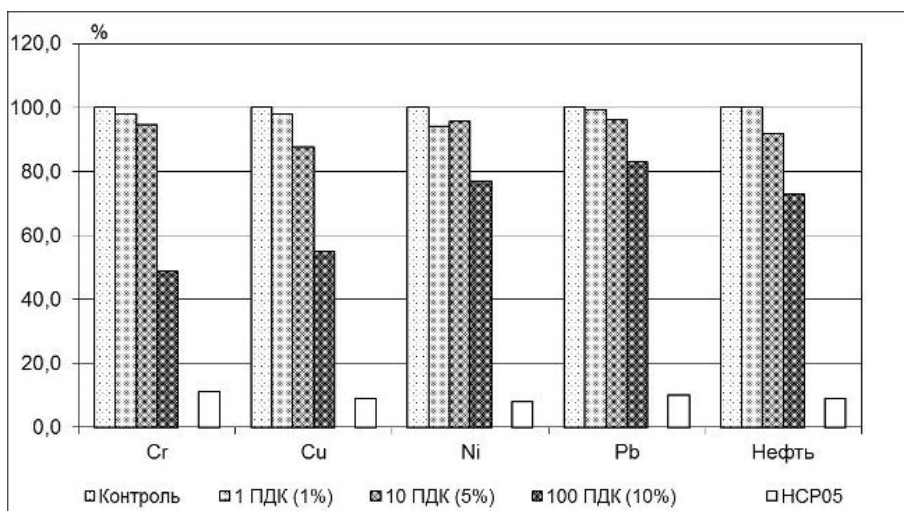


Рис. 1. Влияние химического загрязнения солончака гидроморфного сорового на активность каталазы, % от контроля (ПДК — для ТМ, % — для нефти)

### Выводы

1. Загрязнение почвы Cr, Cu, Ni, Pb и нефтью приводит к снижению активности фермента каталазы. Степень снижения данного показателя зависела от концентрации

загрязняющего вещества в почве. Наблюдалась прямая зависимость между концентрацией загрязняющего вещества и степенью ухудшения активности фермента.

2. Наиболее значительное негативное воздействие оказал хром:  $Cr > Cu > Ni > Pb$ .

3. Активность фермента каталазы можно рекомендовать к использованию в целях мониторинга, диагностики и нормирования химического загрязнения солончаков.

1. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические функции почв и влияние на них загрязнения тяжелыми металлами // Почвоведение. 2002. № 12. С. 1509- 1514.
2. Колесников С.И., Спивакова Н.А., Везденеева Л.С., Кузнецова Ю.С., Казеев К.Ш. Влияния модельного загрязнения нефтью на биологические свойства почв сухих степей и полупустынь юга России // Аридные экосистемы. 2013. Vol. 19. No. 2(55). С. 70-76.
3. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета. 2012. 260 с.
4. Торшин С.П., Удельнова Т.М., Ягодин Б.А. Микроэлементы, экология и здоровье человека // Успехи современной биологии. Т. 109. Вып. 2. 1990. С. 279-292.
5. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Хазиев Ф.Х. Активность карбогидраз в нефтезагрязненных почвах // Почвоведение. № 12. 1998. С. 1444-1448.

## **ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ ПРИЖЕЛЕЗНОДОРОЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ГОРОДА БАРНАУЛА**

**Черепанова А.С., Максимова Н.Б.**

Алтайский Государственный Университет, г. Барнаул, РФ, alena040994@mail.ru

### **The assessment of soil phytotoxicity of Barnaul railwayside territories**

**Cherepanova A.S., Maksimova N.B.**

Достаточно крупные и длительное время действующие железнодорожные узлы и их линейные подразделения оказывают влияние на относительно большие прилегающие территории, которое выражается в превышении существующих санитарно-гигиенических нормативов на расстоянии до 550-1000 метров от железнодорожного полотна [1].

Основными поллютантами, поступающими от подвижного состава железнодорожного транспорта, являются отработавшие газы дизелей тепловозов. В них содержатся  $CO$ ,  $NO_x$ ,  $SO_2$ ,  $Mn$ ,  $Cu$ ,  $Ni$ ,  $Pb$ ,  $Zn$ , бенз(а)пирен, метан, толуол, углеводороды, зола, пыль и др. Одна секция тепловоза выбрасывает в атмосферу за час работы 28 кг оксида углерода, 17,5 кг оксидов азота, до 2 кг сажи [2].

Железная дорога относится к линейно-транспортным техногенным ландшафтам. Ее техногенный покров формируется из элементов путевого хозяйства, балластной призмы, электрического сопровождения и полосы отвода, в состав которой входит техническая полоса. Среди веществ, попадающих в прилегающие к железным дорогам территории, тяжелые металлы являются самыми опасными. Они легко накапливаются в почвогрунтах, переносятся с поверхностными водами на большие расстояния, трудно и медленно удаляются [3].

Для оценки фитотоксичности почвогрунтов прижелезнодорожных территорий нами был применен метод фитоиндикации, который показал широкие возможности оценки экологического состояния почвенного покрова [4,5].

В качестве тест-культуры был использован редис с белым кончиком (*Raphanus sativus*). Он отличается быстрым прорастанием семян и высокой степенью всхоже-

сти, которая наглядно уменьшается в присутствии загрязнителей.

В качестве объекта исследования нами был выбран железнодорожный транспортный узел станции Барнаул, существующий с 1915 года. Пробы почвогрунтов для оценки фитотоксичности и индекса устойчивости к поллютантам, отбирались на территории прилегающей к железнодорожному полотну от моста через железнодорожные пути, расположенного в районе железнодорожного вокзала до железнодорожного моста через улицу Строителей (транспортная развязка ул. Сов. Армии - Павловский тракт - ул. Строителей). Места отбора проб почвогрунтов указаны на схеме (рис. 1).

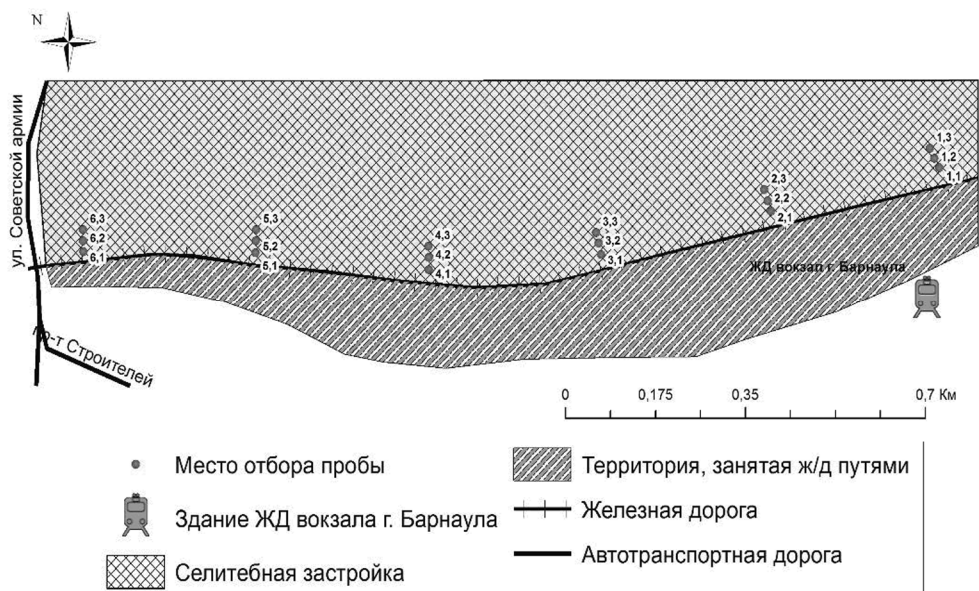


Рис. 1. Схема отбора проб почвогрунтов на территории, прилегающей к железнодорожному узлу станции Барнаул

Образцы почв собирались из верхнего 5 - 10 см слоя. Расстояние между участками отбора проб 1, 2, 3, 4, 5, 6 составляет 338 метров, в сторону жилой застройки, которая представлена открытыми территориями с двухэтажными домами, участки отбора проб расположены на расстоянии 20 метров друг от друга. Общее количество взятых образцов равняется 18.

При оценке степени фитотоксичности почвогрунтов с территории, прилегающей к железнодорожному транспортному узлу станции Барнаул, нами были получено, что из четырех групп фитотоксичности, были представлены две (рис. 2):

- 1) средняя фитотоксичность (угнетение растений 40-60%),
- 2) сильная фитотоксичность (угнетение растений >60%).

Средняя степень фитотоксичности почвогрунтов проявлялась на следующих участках отбора проб: 2.3; 3.2; 3.3; 4.1; 4.2; 4.3; 5.3. Остальные 11 проб характеризовались сильной степенью фитотоксичности почвогрунта. При оценке проявления фитотоксичности почв были выявлены следующие изменения. Например, при проявлении степени фитотоксичности по изменению ростков, к группе проб с сильной фитотоксичностью относились пробы 1.2, 1.3 и 5.2. Ситуация меняется при проявлении

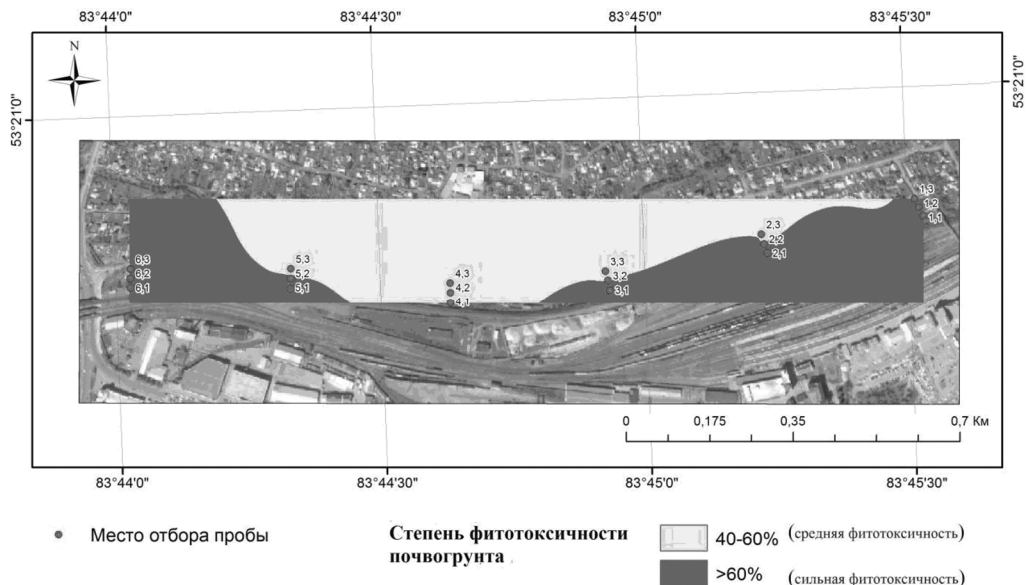


Рис. 2. Проявление фитотоксичности почвогрунта по изменению длины ростков редиса (*Raphanus sativus*)

фитотоксичности по изменению корешков, тогда эти пробы переходят в группу средней фитотоксичности. Происходит увеличение длины корня в ущерб развитию надземной части проростков редиса с белым кончиком (*Raphanus sativus*), подобная реакция может быть связана с повышенным уровнем загрязнения почв [6].

По результатам проращивания в опыте семян редиса с белым кончиком (*Raphanus sativus*), а именно длины трех-, шести-, девятидневных корешков и ростков, был рассчитан индекс устойчивости к поллютантам, чем дальше расположен участок отбора пробы от железнодорожного полотна, тем выше значение индекса, а значит и выше устойчивость. Наибольшее загрязнение наблюдалось на участке 0-20 м от железной дороги.

В связи с этим большое значение приобретают мероприятия по защите прилегающих к объектам железнодорожного транспорта территорий (почв) от негативного воздействия стационарных объектов и передвижных транспортных средств.

Таким образом, проведенные нами исследования дают картину проявления фитотоксичности на территориях, прилегающих к железнодорожному транспортному узлу станции Барнаул. Полученные экспериментальные данные представляют интерес в плане оценки влияния подвижного состава железнодорожного транспорта на почвы прижелезнодорожных территорий. Общий уровень воздействия объектов железнодорожного транспорта может находиться в допустимых, равновесных и кризисных границах. Поэтому для того, чтобы минимизировать уровень воздействия, необходимо производить природоохранные мероприятия на предприятиях железнодорожного транспорта.

Алексеев В.А. Экологическая геохимия. – М.: Логос, 2000. – 627 с.

Павлова Е.И. Экология транспорта: учеб. для вузов. – М.: Транспорт, 2000. – 248 с.

Каверина Н.В. Влияние железной дороги на загрязнение городских почв // Труды молодых ученых Воронежского государственного университета. – 2000. – Вып. 2. – С. 206–209.



- Грицай И.С., Максимова Н.Б. Оценка степени загрязненности почвенного покрова Рубцовска Алтайского края методом фитоиндикации // География и природопользование Сибири. – 2014. – № 17. – С. 45-49.
- Морковкин Г.Г., Максимова Н.Б., Лаврентьева А. Оценка токсичности и загрязненности почв методом фитоиндикации // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2003. – № 2. – С. 106 – 112.
- Гарипова Р.Ф., Калиев А.Ж. Биотестирование водных вытяжек почв, подвергшихся воздействию выбросов Оренбургского газохимического комплекса // Вестник ОГУ. – 2004. – №4. – С. 90–92.

## **ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ УСТАРЕВШЕГО ГРАНОЗАНА**

**Чермашенцева Э.В., Зотова Т.А.; Чермашенцева Н.А.**

ФГУП "ГосНИИОХТ", г. Москва, РФ, Vladimira\_ch@mail.ru

### **Assessment of phytotoxicity obsolete Granosan**

**Chermashentseva E.V., Zotova T.A., Chermashentseva N.A.**

Важной составной частью проблемы безопасного хранения и уничтожения неиспользованных и пришедших в негодность пестицидов и агрохимикатов является эколого-токсикологическая и санитарно-гигиеническая оценка влияния этих токсикантов на здоровье человека и среду его обитания [1].

В рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2015-2020 годы)» была проведена токсикологическая оценка устаревшего гранозана, поступившего во ФГУП «ГосНИИОХТ» со складов хранения в пос. Новый Алтайского края.

Исследования процессов миграции органических соединений ртути в семена злаковых и бобовых из песчаных и черноземных почв показали, что гранозан накапливается в кормах, растительных продуктах, создавая потенциальную опасность для животных и человека, мигрируя по пищевой цепочке. Все органические соединения ртути характеризуются выраженным токсическим эффектом на разные формы жизни – растения, микроорганизмы, рыб, икру рыб, животных [2].

Одно из мест в ряду биологических методов оценки опасности химических веществ занимает фитотестирование. Непосредственный контакт растений с почвой и, как следствие, с поллютантами происходит через корневую систему, которая четко реагирует на присутствие загрязнителей путем изменения интенсивности прорастания корней. В связи с этим в качестве тест-объектов целесообразно использовать параметры корневой системы растений. Успешное решение проблем биоиндикации во многом будет определяться подбором культурных растений, чувствительных к веществам-загрязнителям [3].

Объектом исследования являлся устаревший гранозан, доставленный со складов хранения в пос. Новый Алтайского края.

Гранозан – dust, в состав которого входит 2% этилмеркурхлорида, 1% красителя и наполнитель), который применялся для сухого протравливания семян зерновых и овощных культур, кормовых трав и лесных пород деревьев. Этилмеркурхлорид является сильным ядом, характеризуется выраженной способностью к кумуляции, повреждает сердечную мышцу и паренхиматозные органы [2].

Оценка фитотоксического действия гранозана проводилась экспресс-методом на проращивание семян в соответствии с нормативно-методическими документами [4,

5]. В качестве биологических моделей использовались семена зерновых культур (овес, ячмень, пшеница), кресс-салата и редиса, которые наиболее широко используются при проведении биомониторинга почвы и ее загрязнений. Длину корней проростков семян фиксировали в контрольных и опытных пробах (в трех повторностях) после 7-ми суточной (для редиса 3-х суточной) экспозиции при температуре инкубации – 20±1°С.

Для оценки степени опасности гранозана устанавливались следующие параметры токсичности:

ER<sub>50</sub> – среднеэффективное разведение водного экстракта токсиканта, вызывающее 50% торможение роста корней растений;

Lim R – минимально действующее (пороговое) разведение, вызывающее 20% торможение роста корней растений.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением компьютерной программы «Microsoft Excel».

Полученные экспериментальные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения фитотоксичности гранозана

Тест-растение	Lim R	ER <sub>50</sub>
Овес	676,08	56,23
Пшеница	933,25	74,13
Рожь	1 000,00	891,25
Кресс-салат	72 443,60	2754,23
Редис	93 325,43	1819,70

Как видно из представленных данных, гранозан оказывал выраженное токсическое действие на все исследованные тест-объекты. Наиболее чувствительными к воздействию токсиканта были семена крестоцветных (редис и кресс-салат). В меньшей степени фитотоксическое действие гранозана проявлялось при тестировании семян зерновых культур.

В опытных группах проростков отмечалось выраженное нарушение развития первичных корней у всех семян исследованных растений. Фитопатогенное действие проявлялось следующими признаками:

- гибель семян;
- недифференцированное опухолевидное разрастание зародыша;
- недоразвитие первичных корней, изменение их внешнего вида (грубые, ломкие), отсутствие корневых волосков;
- «избегание» корнями подложки, смоченной экстрактом токсиканта.

По сравнению с видимыми изменениями корневой системы, листья злаковых в опытных группах мало отличались от контрольных.

В результате проведенных экспериментов установлено, что:

1. Устаревший гранозан оказывает выраженное токсическое действие на корни проростков семян высших растений.
2. Семена крестоцветных более чувствительны к действию токсиканта, чем семена злаковых.
3. Наименее чувствительными к воздействию устаревшего гранозана были проростки овса, наиболее чувствительными – семена редиса.

Фитопатогенное действие химических веществ влияет на биохимические процессы в растениях, ослабляя их жизнеспособность, уменьшая численность и др. Оно приводит к изменению сообществ растений, к нарушению естественного массоэнергообмена. Гранозан, как органическое соединение ртути, обладает трансформирующей активностью. В экспериментах показано, что у проростков изменялся внешний вид зародышевых структур (первичные корни), происходило ингибирование роста, изменялась морфология корневых структур.

Необходимо учитывать, что основное поступление токсикантов в организм человека в последнее время происходит опосредованно – через воду, воздух, растения и животных по экологическим путям миграции из почвы. В организм человека пестициды поступают в виде остаточных количеств в продуктах растительного и животного происхождения, а также при миграции из загрязненной окружающей среды.

В соответствии с Приложением III к Роттердамской конвенции «О процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле», Базельской конвенции «О контроле за трансграничной перевозкой опасных отходов и их удалением» ртутьорганические пестициды запрещены к использованию в сельском хозяйстве, поэтому в настоящее время особое значение приобретают проблемы безопасного хранения и обезвреживания устаревших агрохимикатов, в том числе и гранозана [6, 7].

1. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Под общ. ред. А.А. Каспарова и И.В. Санюцкого. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1986. – 428 с.
2. Вредные вещества в окружающей среде. Элементарноорганические соединения веществ I-IV групп Периодической системы: Справ.-энц. изд. / Под ред. В.А. Филова и др. – СПб.: НПО «Профессионал», 2009. – 372 с.
3. Масленников А.А., Демидова С.А. // Химическая и биологическая безопасность. – М., 2006. – №3 (27). – С. 22-27, Масленников А.А., Демидова С.А., Максимова Е.Ю. // Химическая и биологическая безопасность. – М., 2006. - №5 (29).
4. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. МР 2.1.7.2297-07. – М., 2007.

## **ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧВ ХРЕБТА НАВАГИР ЗАПОВЕДНИКА «УТРИШ»**

**Черникова М.П., Казеев К.Ш.**

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, Bordjiam@mail.ru

### **Ecological and biological characteristics of soils of the ridge navair of the «Utrish Reserve»**

**Chernikova M.P., Kazeev K.Sh.**

Государственный природный заповедник «Утриш» создан в 2010 году с целью изучения, сохранения и восстановления уникальных природных комплексов сухих субтропиков Черноморского побережья Кавказа, а также типичных природных комплексов, расположенных на его территории и осуществления экологического мониторинга. Территория заповедника относится к самой западной части Северо-Черноморской провинции Большого Кавказа и характеризуется преобладанием предгорных, низкогорных ландшафтов лесного типа и отличается сложностью ландшафтной структуры. Почвенный покров заповедника включает в себя редкие и одновременно недостаточно изученные почвы для России, что привлекает особое внима-

ние для исследований в условиях современного активного антропогенного воздействия на почвенный покров. Многие вопросы диагностики почв заповедника остаются дискуссионными. Ландшафты хребта Навагир с его рельефом и растительностью, занимая значительную площадь заповедника, являются типичными для северной части заповедника, а коричневые выщелоченные почвы наиболее распространены на его территории и составляют порядка 80 % всей территории.

Целью работы являлось исследование эколого-биологических свойств коричневых выщелоченных почв мониторинговой площадки, заложенной на северном макросклоне хребта Навагир заповедника «Утриш».

Исследуемая территория характеризуется средиземноморским типом климата с влиянием климата умеренных широт. Среднегодовая температура составляет +12,2 °С, средняя температура июля +23,5 °С, января +3 °С. Среднегодовая величина осадков в пределах 570-700 мм, большая часть которых выпадает с ноября по март.

Проведение полевых работ осуществлялось в сентябре 2015 года, в частности, была создана мониторинговая площадка размером 30\*30 м на хребте Навагир на высоте порядка 400 м над уровнем моря, заложены разрезы для морфологического описания почв, а также отобраны пробы в соответствии с генетическими горизонтами для физико-химических и биологических исследований.

Исследованный участок представляет собой мезофитный широколиственный лес с участием граба (*Carpinus betulus*, *Fagus orientalis*), дуба (*Quercus petraea*), кленов (*Acer campestre*, *A. Laetum*) и ясеня (*Fraxinus excelsior*) на склонах крутизной от 5 до 15° с фито- и зоогенным микрорельефом. В среднем каменистое покрытие участка составляет 5-10%, подстилка – от 30 до 90% в разных частях площадки.

Почвенный покров представлен коричневой выщелоченной почвой различной степени каменистости и мощности на элювии плотных некарбонатных пород (песчаника). Вскипание от HCl отсутствует по всему профилю. Исследуемые почвы отличаются малой мощностью почвенного профиля, неполноразвитостью, высокой каменистостью и щебенчатостью.

Лабораторно-аналитические исследования выполнены с использованием общепринятых в экологии, биологии и почвоведении методов в лабораториях кафедры экологии и природопользования Южного федерального университета.

Исследованные коричневые выщелоченные почвы характеризуются относительно однородным валовым химическим составом с невысокой степенью контрастности и относятся к сиаллитным ( $SiO_2 : R_2O_3 > 2,5$ ). Профиль почв монотонный и обогащен кремнеземом, наблюдается некоторое увеличение его содержания в нижележащих горизонтах, значения в слое 0-10 см находятся в пределах 72 – 76 %, в 15-25 см составляют от 76 до 79 %.

Во всех изученных образцах валовой алюминий преобладает над железом. В среднем в верхних горизонтах содержание общего железа составляет 3,7 %, содержание алюминия 5,6%. Также отмечено увеличение содержания  $Al_2O_3$  до 6,2% с глубиной и суммы полуторных окислов в целом. Кальция в профиле крайне мало, максимальное содержание его в верхних горизонтах составляет порядка 1,4 %. Значения содержания элементов в профиле между изученными вариантами почв меняются в очень узких пределах. Следует отметить, пусть и невысокое, уменьшение оксидов магния (с 0,67% до 0,62%) и фосфора (с 0,15% до 0,12%) с глубиной и наоборот, увеличение содержания оксида титана (от 0,49% до 0,53%). Молекулярные отношения кремнезема к полуторным оксидам высоки, составляя от 14,9 до 17,4.

Влажность почвы (в слое 0-5 см) на исследованном участке составила 4,4%. При

температуре воздуха 28,5 °С температура почвы по профилю плавно снижается с 25,6 °С на поверхности до 20 °С на глубине 30 см.

Исследованные коричневые почвы преимущественно имеют легко- и среднесуглинистый гранулометрический состав. Реакция среды нейтральная либо близка к ней, значения рН варьируют в узких пределах (от 6,6 до 7,1). Поглотительная способность в почвах для поверхностных горизонтов характеризуется как очень высокая (до 59 ммоль/кг), емкость катионного обмена в нижележащих горизонтах снижается, но все еще остается высокой (до 46 ммоль/кг).

Содержание гумуса в поверхностных горизонтах, составляя в среднем порядка 10 %, характеризуется как высокое и очень высокое, в нижележащих горизонтах значения заметно снижаются.

Каталазная активность варьирует в пределах 18,3 – 13,6 мл  $O_2$ /г/мин для верхних горизонтов, а в почвенном слое 15-25 см снижается до 11,2–13,4. Согласно шкалам для оценки степени обогащенности почв ферментами, исследованная коричневая почва характеризуется как богатая с точки зрения содержания каталазы.

По степени обогащенности таким ферментом как дегидрогеназа, почва преимущественно относится к богатой. При среднем содержании порядка 25 мг ТФФ/г/24ч (для верхних горизонтов), значения в некоторых разрезах заметно отличаются.

Рассматриваемые значения активности инвертазы характеризуются для каменистых среднесуглинистых почв средней обогащенностью, остальные же разновидности относятся к богатым почвам, в среднем имея значения выше 65 мг глюкозы/г/24ч.

Активность как дегидрогеназы, так и инвертазы не имеет четко выраженного распределения с глубиной.

В целом же, в результате исследования коричневых выщелоченных почв северного макросклона Навагирского хребта отмечена однородность состава горизонтов в пределах профиля с узкими вариантами значений. Почвы являются сиаллитными, а также имеют высокие значения молекулярных отношений  $SiO_2$  и  $R_2O_3$ . Изучаемые почвы заповедника характеризуется хорошими физико-химическими свойствами и обладают высокой биологической активностью. Полученные данные можно применять при сравнительном анализе и мониторинге аналогичных почв на нарушенных хозяйственной деятельностью человека территориях.

### **Благодарности**

Исследование выполнено при государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-9072.2016.11).

## **ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БУРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ БИОЦИДАМИ**

**Чуваева О.В., Акименко Ю.В.**

Южный Федеральный Университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, Sayori11@yandex.ru

### **Dynamics of changes in biological parameters of brown forest soil at biocides pollution**

**Chuvaraeva O.V., Akimenko Y.V.**

Интенсификация использования множества различных биоцидов в растениеводстве и животноводстве всё больше обостряет проблему изучения влияния данных

химических веществ на свойства почвы. Кроме различных типов чернозёмов данному влиянию подвергаются так же и бурые лесные почвы в их многообразном подтиповом представлении, распространённые на Северном Кавказе, а также их близкие аналоги, находящиеся в Карпатах и горах Крыма. Несмотря на свою агрономическую неприглядность, с экологических позиций этот тип почв оценивается как почвы высокого уровня плодородия (Вальков и др., 2007), и играет большую роль как среда обитания корневых систем деревьев.

Оценка биологических показателей почв даёт широкое представление о последствиях влияния загрязнения, поскольку включает в себя спектр различных показателей, оказывающих существенное влияние на биоценоз в целом. В частности, это микробиологические показатели, позволяющие отслеживать динамику численности и объёма биомассы основных классов почвенных микроорганизмов, биохимические показатели, позволяющие оценить степень активности почвенных ферментов, фитотоксичные свойства, изменение кислотности и т.д.

Цель исследования – изучить изменение биологических свойств бурой лесной почвы при загрязнении антибиотиком и пестицидом в различных концентрациях и при различном сроке инкубирования образцов. Для изучения биологических свойств почвы в лабораторных условиях был заложен модельный опыт.

Для модельных лабораторных исследований был отобран горизонт 0-20 см бурой лесной почвы в Республике Адыгея, п. Никель. Воздушно-сухие образцы почвы в первом случае обрабатывали раствором ветеринарного, макролидного антибиотика – тилозина в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мг/кг почвы. Во втором варианте опыта почва была обработана фунгицидом для протравливания семян – бастион в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мг/кг почвы. Исследования проводились на 3-е, 30-е и 90-е сутки инкубации. Контролем служили образцы почвы необработанные биоцидами. Концентрации и сроки инкубации были выбраны исходя из данных проведенных ранее рекогносцировочных исследований (Акименко и др., 2014), а также на основе литературных данных (Sun et al., 2014).

Лабораторно-аналитические исследования были выполнены на кафедре экологии и природопользования ЮФУ с использованием методов распространённых в экологии и почвоведении (Казеев, Колесников, 2012).

При анализе результатов исследования наибольшие изменения биологических свойств при загрязнении бурой лесной почвы антибиотиком и пестицидом наблюдались на наиболее долгих сроках экспозиции. На первом сроке инкубации наблюдается незначительное снижение численности основных групп микроорганизмов по сравнению с контрольными образцами. Однако уже на сроке трое суток наблюдается различие в численности между образцами почвы загрязненными антибиотиком и пестицидом. Макролидный антибиотик тилозин оказывает более сильное воздействие на микробное сообщество, чем фунгицид Бастион. При увеличении срока экспозиции эта тенденция прослеживается ещё более чётко. Достоверной прямой корреляции динамики численности бактерий с изменением концентрации вносимого антибиотика выявлено не было.

При изучении биохимических показателей бурой лесной почвы при загрязнении антибиотиком и пестицидом было так же выявлено, что наиболее существенное отклонение активности таких почвенных ферментов как каталаза, дегидрогеназа, инвертаза и фосфатаза наблюдается при сроке экспозиции 30 суток по сравнению с контрольными образцами и образцами почвы, инкубированными в течение 3 суток. Исходя из данной тенденции можно предположить, что ещё большие изменения бу-

дуг отмечены при исследовании образцов со сроком экспозиции 90 суток. Однако, этот срок инкубации образцов загрязнённой почвы ещё не подошёл к концу, и анализ данных образцов почвы ещё предстоит.

При изучении динамики показателя кислотности бурой лесной почвы при загрязнении биоцидами тенденции влияния загрязнения на данный показатель на первых двух сроках выявлено не было. Независимо от срока инкубации, концентрации и типа загрязняющего вещества существенных изменений значения рН не было обнаружено. Среднее значение показателя кислотности бурой лесной почвы лежит в пределах 6.

Изучение фитотоксических свойств загрязнённой почвы выявило более сильное влияние фунгицидного препарата Бастион. В результате загрязнения данным препаратом почвы наиболее сильно угнеталась наземная часть побегов семян редиса, выбранных в качестве растения индикатора.

- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние антибиотиков (бензилпенициллина, фармазина, нистатина) на численность микроорганизмов в черноземе обыкновенном // Сибирский экологический журнал. 2014. № 2. С 253–258.
- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Динамика ферментативной активности чернозема обыкновенного при загрязнении антибиотиками // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета = Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University. 2013. № 85. С. 289–298.
- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Экологические последствия загрязнения чернозема антибиотиками. Ростов–на–Дону: Издательство Южного федерального университета. 2013. 120 с.
- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Мазанко М.С. Экологические последствия загрязнения почв антибиотиками // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т.15. № 3 (5). С. 1196–1199.
- Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Мазанко М.С. Экологические последствия загрязнения почв антибиотиками // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т.15. № 3. С. 1196.
- Белан, С. Р. Новые пестициды. Справочник / С. Р. Белан, А. Ф. Грапов, Г. М. Мельникова. — М.: Грааль, 2001
- Биоциды и биоразложение органических и неорганических материалов, стр.120, 2012г., Издательство LAP Lambert Academic Publishing
- Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов–на–Дону: Издательство Южного федерального университета. 2012. 380 с.
- Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. – Ростов н/Д: Изд-во Рост.ун-та, 2003. 204 с.

# DOPED RARE EARTH OXIDES AND THEIR CONSTITUENT METALS INHIBIT *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA* GROWTH VIA ION LEACHING, NUTRIENT REMOVAL AND AGGLOMERATION

Joonas Elise<sup>1</sup>, Villem Aruoja<sup>1</sup>, Kalle Olli<sup>2</sup>, Anne Kahru<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia,

<sup>2</sup>Institute of Ecology and Earth Sciences, University of Tartu, Tartu, Estonia,

<sup>3</sup>National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia, , [elise.joonas@kbfi.ee](mailto:elise.joonas@kbfi.ee)

## Abstract

Rare earth elements (REEs) are increasingly used in diverse applications, including electronics, renewable energy, and medicine, posing an environmental hazard via various waste streams. We studied the potential toxic impact of nine doped REE oxides (d-REOs) and the corresponding soluble metal salts on the algae *Raphidocelis subcapitata* (OECD 201 test). Tentative EC<sub>50</sub> (72 h, mg oxide l<sup>-1</sup>) values for the d-REOs varied from toxic to not harmful: Ce<sub>0,8</sub>Pr<sub>0,2</sub>O<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>, (La<sub>0,6</sub>Sr<sub>0,4</sub>)<sub>0,95</sub>CoO<sub>3</sub> and La<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub> were toxic to algae with EC<sub>50</sub> values between 1 and 10 mg l<sup>-1</sup>; Gd<sub>0,97</sub>CoO<sub>3</sub>, LaCoO<sub>3</sub>, LaFeO<sub>3</sub> and (La<sub>0,5</sub>Sr<sub>0,5</sub>)<sub>0,99</sub>MnO<sub>3</sub> proved to be harmful, having EC<sub>50</sub>s 10–100 mg l<sup>-1</sup>; Ce<sub>0,9</sub>Gd<sub>0,1</sub>O<sub>2</sub> was assessed to be not harmful to algae, because it had an EC<sub>50</sub> value >100 mg l<sup>-1</sup>. The toxicity of non-lanthanide metals (72 h EC<sub>50</sub>, mg metal l<sup>-1</sup>) was: Sr (56), Mn (7.4), Fe (7.3), Co, In, Ga and Ni (<1). All studied lanthanides (Ce, Gd, La, Nd, Pr) had 72 h EC<sub>50</sub> around 1 mg l<sup>-1</sup>, i.e. proved to be highly inhibitory to algal growth. The toxicity of lanthanides was not dependent on their atomic number, nor uniform between REE salts, as Pr had a slightly lower EC<sub>50</sub>

value (0.6 mg l<sup>-1</sup>). Inhibition by REEs occurred most probably due to the precipitation of phosphates and carbonates – essential algal medium components – from the medium after binding with REE salts. A significant decrease in dissolved REE concentrations occurred in OECD 201 media after 72 hours of incubation without algae. Because the dissolved REE concentrations in MQ remained the same, it suggests that medium components formed insoluble complexes with REE salts. Thus, both medium components and the REEs were removed from the solution, resulting in an indirect inhibitory effect of REE salts on algae. All the studied REE salts and composites formed sediments in the test medium, often trapping cells within the agglomerates. Therefore, the toxicity of REE composites was likely related not only to their elemental composition and leaching of constituent metals, but also to particle effects. Consequently, REEs may pose a considerable risk to algae, a very sensitive link in the aquatic ecosystem.

**Key words:** lanthanides, rare earth elements, composites, ecotoxicity, aquatic, algae.

We are very grateful to Heiki Vija for conducting the TXRF measurements. This research is supported by Estonian Ministry of Education and Research (target-financed theme IUT23-5 and PUT748). The REE composites were provided by Guttorm Syvertsen-Wiig from CerPoTech, Norway.



## INFLUENCE OF FLUORIDE STRESS DURATION ON THE FLUORESCENCE INDICES OF BEAN LEAVES

Kalmatskaya O.A., Karavaev V.A.

Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia;

Sodium fluoride is a specific inhibitor of phosphatase; thus, it can affect the efficiency of the primary processes of photosynthesis. Fluorine and its compounds are also environmental pollutants and at high concentrations have a toxic effect on plants. In this work we study the effect of sodium fluoride on the induction changes and the fluorescence spectra of chlorophyll a in bean leaves (the Black Russian variety) depending on the duration of NaF exposure to the plant. Sodium fluoride and chloride solutions at a concentration of  $2 \cdot 10^{-2}$  M were injected into the leaf without removing it from the stem, through a central vein using a medical syringe. The fluorescent indicators were measured 3, 6 and 9 hours later after treatment using a Pulse-Amplitude-Modulation fluorometer PAM-2500 (Walz, Germany) and spectrofluorometer Solar CM2203.

We observed that in case of infiltration of NaF after 3 hours the total fluorescence intensity (values  $F_0$  and  $F_m$ ; the stationary level  $T$ ) was 10–15% lower than that in the controls. This is probably due to the fact that the exposure of plants treated with phosphatase inhibitors in dim light at an illumination of approximately 100 lux (from the time of processing of the leaves treatment to the measurement) increased the proportion of light-harvesting complex (LHC) associated with photosystem (PS) 1, while the effective size of the antenna of PS2 becomes smaller. After 6 hours of exposure the ratio  $F_v/F_m$  ( $F_v$  - variable fluorescence,  $F_m$  - maximal fluorescence at saturating light flash) was the same as the control and decreased on average by 12% after nine-hour exposure. This indicates a gradual decrease in the maximum photochemical activity of PS2. The stationary value of photochemical quenching ( $qP$ ) after 3 hour was lower than the control and decreased with time more than twice. On the contrary, non-photochemical quenching ( $qN$ ) gradually increased after 9 hours and exceeded the control value on average by 40%. Such changes might be a consequence of the NaF inhibitory effect on the work of ATP-phase complex and the main enzyme of the Calvin–Benson–Bassham cycle (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase). As a result, the outflow of photoproducts reduced by PS1 and the rate of phosphorylation decreases. At the same time the degree of reduction of electron carriers between the photosystems and the values of  $\Delta pH$  increases. The indicator  $\omega = F_2/F_1$  of fluorescence spectra ( $F_2$  - stationary value of fluorescence intensity at the wavelength of 740 nm, and  $F_1$  - at the wavelength about 685 nm) for the samples treated with NaCl remained unchanged for 9 hour and was about 1.15. In the case of NaF this parameter gradually decreased to 0.8 after the nine-hour treatment, which also indicates a decrease in the functional activity of the photosynthetic apparatus. Thus fluorescence indices revealed changes in primary processes of photosynthesis during fluoride stress in bean leaves.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛЛЮТАНТОВ НА РАСТЕНИЯ

Ланкин<sup>2</sup> А.В., Креславский<sup>1,2</sup> В.Д., Аллахвердиев<sup>1,2</sup> С.И.

<sup>1</sup>Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, Россия

<sup>2</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

## Use of chlorophyll fluorescence method for indicating the toxic effect of pollutants on plants

Lankin<sup>2</sup> A.V., Kreslavski<sup>1,2</sup> V.D., Allahverdiyev<sup>1,2</sup> S.I.

<sup>1</sup> Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

<sup>2</sup>Institute of Plant Physiology them. KA Timiryazev Academy of Sciences, Moscow, Russia

Метод флуоресценции хлорофилла является чувствительным, неинвазивным и быстрым методом для оценки изменений состояния фотосинтетического аппарата (ФА) растений, к действию различных поллютантов. ФА, и прежде всего фотосистема (ФС-2), чувствительны к действию различных загрязнителей. Изменения излучения флуоресценции хлорофилла *a* прямо или косвенно отражают изменения всех этапов световой фазы процесса фотосинтеза, преимущественно ФС-2. Эта флуоресценция испускается возбужденными молекулами хлорофилла, входящими в состав светособирающего антенного комплекса ФС-2. Для оценки воздействия поллютантов можно использовать разные типы флуоресценции хлорофилла – переменную и замедленную, различающихся своим происхождением. В процессе фотоиндуцированного изменения квантового выхода флуоресценции хлорофилла со временем флуоресценция сначала возрастает от начального уровня до максимальной величины, при этом наблюдается несколько фаз, затем постепенно снижается до стационарного уровня в течение минут. На основе измерения флуоресценции в характерных точках фаз, в стационарном состоянии и в максимуме индукционных кривых рассчитываются и широко используются для оценки физиологического состояния листьев различных растений, в том числе древесных, такие параметры, как максимальный и эффективный квантовые выходы,  $F_v/F_0$  и  $Y(II)$ , соответственно, коэффициенты нефотохимического и фотохимического тушения, величина диссипации энергии в ФС-2  $D_{I0}/RC$ , скорость фотосинтетического электронного транспорта  $ETR$ . Эти параметры были чувствительны к действию растворов типичных полиароматических углеводородов, нафталина и фенантрена на листья ряда растений, в том числе гороха, салата, некоторых деревьев. Так, через 24 ч после выдерживания листьев гороха в растворе нафталина ( $27 \text{ мг л}^{-1}$ ) наблюдали изменения любого из вышеуказанных параметров, которые, однако, не превышали 25%. При этом часто используемый для оценки стрессовых воздействий на ФА максимальный квантовый выход ФС-2 снижался менее чем на 10%. Из всех флуоресцентных параметров максимальная чувствительность обнаружена для рассчитанного нами на основе индукционных кривых флуоресценции индекса производительности  $P_{ABS}$  (Гольцев и др. 2014), который уменьшался в 3,5 раза. Аналогичные тенденции были обнаружены для фенантрена при концентрации  $1.2 \text{ мг л}^{-1}$ . По-видимому, параметр  $P_{ABS}$ , отражающий эффективность функционирования ФС-2 в целом, может использоваться, как наиболее чувствительный индикатор степени загрязнения окружающей среды.

Работа поддержана грантами РФФИ №16-05-00617а и 14-04-31812 и 14-04-01549.

Гольцев В.Н др. 2014. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла *a* - теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений. Ижевск-Москва, (Издательство - Институт компьютерных исследований), 220 с.

## ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ МАГНЕТИТА И ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

Юрищева А.А., Пукальчик М.А., Худайбергенова Б.М.,  
Терехова В.А., Кыдралиева К.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Московский авиационный институт, Москва, Россия, [yurishcheva@yandex.ru](mailto:yurishcheva@yandex.ru);  
Международный университет Кыргызстана

## TOXICITY ASSESSMENT OF NANOCOMPOSITES BASED ON MAGNETITE AND HUMIC ACIDS Yurishcheva A.A., Pukalchik M.A., Khudaibergenova B.M., Terekhova V.A., Kydralievа K.A.

В настоящее время актуальной проблемой является создание экологически безопасных детоксицирующих агентов комплексного действия, обладающих высоким реабилитационным потенциалом по отношению к поврежденным биогеоценозам. Гибридные наноконпозиты на основе магнетита ( $Fe_3O_4$ ) и гуминовых кислот (ГК) проявляют различные функциональные свойства, включая магнитные и сорбционные свойства по отношению к радионуклидам и тяжелым металлам [1, 2].

В настоящем исследовании при определении безопасных концентраций наноконпозитов и их компонентов оценивалась острая токсичность в лабораторных экспериментах по реакции тест-организмов разных трофических уровней (продуценты, консументы) и таксономической принадлежности – высшие растения (семена горчицы белой *Sinapis alba*), зеленые протококковые водоросли (*Scenedesmus quadricauda*), простейшие - инфузории (*Paramecium caudatum*), культуры клеток теплокровных животных (быка *Bos taurus taurus*) *in vitro*.

Для целей биотестирования образцы композита  $Fe_3O_4$ -ГК и его компонентов готовили в виде водных суспензий в диапазоне концентраций 0,001-1,0 масс. %. Водные суспензии готовили на дистиллированной воде или на культивационной среде в соответствии с требованиями стандартных методик биотестирования. Во всех пробах контролировали pH, минерализацию, температуру и содержание кислорода. При необходимости пробы доводили раствором 10 % KOH или 10% HCl до pH 7,0–8.2.

Эффект биологической активности по реакции высших растений оценивали по изменению длины корней проростков семян горчицы белой *Sinapis alba*. Наивысшую концентрацию, не оказывающую токсического действия (NOEL), оценивали по величине 20% отклонения значений тест-функций в опыте относительно контроля. Средняя эффективная концентрация  $EC_{50}$  оценивалась по концентрации вещества, при котором наблюдалось сокращение средней длины корней проростков на 50% относительно контроля. Биотестирование с использованием микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* проводилось прямым подсчетом изменений прироста численности популяции клеток с помощью камер Горяева и флуоресцентным методом. Оценка биоактивности по реакции культуры клеток млекопитающих *in vitro* осуществлялась по регистрации изменений двигательной активности сперматозоидов в за-

висимости от времени воздействия химических агентов. Тест-функцией являлась подвижность суспензии клеток  $m$ , которая пропорциональна концентрации сперматозоидов  $cm$  и среднему модулю скорости движения клеток  $v$ :  $m=cmv$ . Подсчет клеток простейших при оценке биоактивности по выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum* проводили в лунках микроаквариума под биноклем (по 10-12 особей в каждой) через 24 ч.

Исследования биоактивности образцов ГК,  $Fe_3O_4$  и композита  $Fe_3O_4$ -ГК показали, что организмы разных трофических уровней и сложности организации характеризуются различной чувствительностью по отношению к анализируемым образцам. Токсичными для культуры клеток млекопитающих и инфузорий *Paramecium caudatum* оказались концентрации ГК 0,1% и выше, для клеток микроводорослей - 0,01%. По отношению к высшим растениям (*Sinapis alba*) токсичность в исследуемых интервалах концентраций не выявлена. Исследования биологической активности препарата гуминовых кислот показали, что безопасными для биоты следует считать концентрации ГК  $\leq 0,001\%$ .

Биотестирование магнетита выявило токсичность при содержании магнетита выше 0,001% для инфузорий *Paramecium caudatum* E.; для культуры клеток быка и клеток микроводорослей токсичности в исследуемом интервале концентраций выявлено не было.

Результаты анализа биоактивности нанокompозита показали, что чувствительность тест-культур увеличивается в ряду: клетки культуры быка – высшие растения – микроводоросли.

Таким образом, полученные с использованием комплекса биотест-систем данные по экотоксикологической оценке образцов  $Fe_3O_4$ -ГК и его компонентов, ГК и  $Fe_3O_4$ , позволяют установить в рамках использованных методик и условий анализа интервалы безопасных концентраций препаратов и проанализировать влияние на организмы разных трофических уровней и сложности организации. Установлено, что безопасным является содержание  $Fe_3O_4$ -ГК и его компонентов в концентрации до 0,001%. Дальнейшее увеличение содержания нанокompозита является токсичным для водорослей, чувствительность которых является наибольшей. Наименее чувствительными являются высшие растения и компоненты клетки культуры быка, токсичность для которых наблюдается в интервале концентраций от 0,1% до 1,0%.

## Литература

1. Кыдралиева К.А., Юрищева А.А., Помогайло А.Д., Джардималиева Г.И., Помогайло С.И., Голубева Н.Д. Магнитный композиционный сорбент. Патент РФ 2547496C2RU от 10.07.2012. Опубл. 10.04.2015. Бюл. №10.
2. Kydralievа KA, Yurishcheva AA, Dzhardimalieva GI, Jorobekova SJ. Nanoparticles of magnetite in polymer matrices: synthesis and properties. J Inorg Organomet Polym Mater. 2016, Volume 26, No 5. DOI: 10.1007/s10904-016-0436-1.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Предисловие</b> .....	3
1. Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И. Кондакова Л.В. <b>БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ</b> .....	6
2. Бардина Т.В., Чугунова М.В., Бардина В.И., Капелькина Л.П. <b>ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА В ЗОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА СЕРНОЙ КИСЛОТЫ КОНТАКТНЫМИ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ</b> .....	10
3. Бахвалова Е.В., Донских В.А., Горская В.А. <b>БИОИНДИКАТОРЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДОЕМОВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ</b> .....	15
4. Бобырев П.А. <b>БИОИНДИКАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ФИТОПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВ</b> .....	19
5. Бурова Е.К. Смирнова И.Е, Копчик Г.Н. <b>МИГРАЦИЯ ОСНОВНЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ С ГРАВИТАЦИОННОЙ ВЛАГОЙ В ПОЧВАХ ЛЕСНЫХ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПОДЗОНЫ ХВОЙНО-ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ</b> .....	26
6. Wadhia K. <b>OFFSHORE DISCHARGES - ENVIRONMENTAL REGULATORY PERSPECTIVE</b> .....	27
7. Гершкович Д.М., Мерзеликин А.Ю. <b>ЗНАЧЕНИЕ ВОДОПОДГОТОВКИ ДЛЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-КУЛЬТУР РАКООБРАЗНЫХ</b> .....	28
8. Глазунов Г.П., Гендугов В.М., Евдокимова М.В., Титарев Р.П., Шестакова М.В. <b>ОБОСНОВАНИЕ МОДЕЛИ РОСТА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НА МНОГОКОМПОНЕНТНОМ СУБСТРАТЕ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ И НОРМИРОВАНИИ КАЧЕСТВА КОМПОНЕНТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ</b> .....	32
9. Golubtsov A.S., Pelgunova L.A., Saltykova E.A., Sokolova E.L., Skomorokhov M.O., Demidova T.V. <b>CHANGES IN CONTENT OF SIX TRACE ELEMENTS IN SCALES OF THE BREEM ABRAMIS BRAMA FROM THE MOZNAISK RESERVOIR OVER A QUARTER CENTURY</b> ....	34
10. Горбунова А.Ю., Коробушкин Д.И., Зайцев А.С., Гонгальский К.Б. <b>ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ПОЧВЕННОЙ МАКРОФАУНЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ</b> .	37
11. Григорьев Ю.С. <b>ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДНЫХ СРЕД МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ: РЕШАЕМЫЕ ЗАДАЧИ И КАК УЛУЧШИТЬ ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ</b> .....	38
12. Демидова Т.Б., Голубцов А.С., Пельгунова Л.А., Медведев Д.А., Салтыкова Е.А. <b>СОДЕРЖАНИЕ СЛЕДОВЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ СИМПАТРИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЩИПОВОК (TELEOSTEI, COBITIDAE) ИЗ ВЕРХОВЬЕВ ДНЕПРА</b> .....	42

13. Delibacak S., Ongun A.R. FROM SOIL TO SOIL: EFFECTS OF TREATED SEWAGE SLUDGE APPLICATIONS ON HEAVY METAL CONTENTS OF CORN AND SECOND CROP WHEAT GRAINS GROWN IN SANDY LOAM SOIL .....	47
14. Дорохова М.Ф. АЛЬГОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ Г. МОСКВЫ .	48
15. Дунаева О.Ю., Пукальчик М.А., Канинский М.А. ВЛИЯНИЕ ФОСФОГИПСА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ .....	52
16. Едемская В.А. ЭМБРИОГЕНЕЗ КОНЕЧНОСТЕЙ ЛИЧИНОК ЛЯГУШКИ ТРАВЯНОЙ В НОРМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ТИРЕОИДНЫМ ГОРМОНОМ .....	56
17. Ершова Д.С. Юдина С.А.; Симонова З.А. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ГОРОДСКИХ ТЕРРИТОРИЯХ, С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ .....	64
18. Joonas E. Aruoja V. Olli K., Kahru A. DOPED RARE EARTH OXIDES AND THEIR CONSTITUENT METALS INHIBIT RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA GROWTH VIA ION LEACHING, NUTRIENT REMOVAL AND AGGLOMERATION .....	68
19. Журавель Е.В., Мазур М.А. Черняев А.П. ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗАЛ. НАХОДКА НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И БИОТЕСТИРОВАНИЯ .....	69
20. Зайчиков В.А., Берестовская Ю.Ю., Васильева Л.В., Семенов А.М. ПРЕДЛОЖЕНИЕ МЕТОДА ИНДИКАЦИИ НАЛИЧИЯ В ПРИРОДНЫХ ОБРАЗЦАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА METHYLOROSULA ПО ФЕНОТИПИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ .....	75
21. Земсков Ф.И., Богатырев Л.Г., Жилин Н.И., Якушев Н.Л., Самсонова В.П., Бенедиктова А.И., Кириллова Н.П. О МНОГОЛЕТНЕЙ ДИНАМИКЕ СНЕГОВОГО ПОКРОВА В СИСТЕМЕ ТИПИЧНОГО ГЕОХИМИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА В ПРЕДЕЛАХ КЛИНСКО-ДМИТРОВСКОЙ ГРЯДЫ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ .....	76
22. Зиннатшина Л.В., Васильева Г.К., Манджиева С.С. ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ В ХОДЕ ЕЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ .....	82
23. Ипатов В.И., Михеев М.А. МИКРОВОДОРОСЛИ В ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛОВ .....	83
24. Казеев К.Ш. ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ПРИРОДНЫХ И НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ .....	91
25. Камардин Н.Н., Любимцев В.А., Холодкевич С.В., Макеева М.В., Смуров А.В., Румак В.С., Турбабина К.С. БИОИНДИКАЦИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ И РАСТИТЕЛЬНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ BRADYBAENA FRUTICUM MULL .....	99
26. Kaniskin M.A. ENVIRONMENTAL IMPACT FROM A PHOSPHOGYPSUM STORAGE ON SOIL .....	100

27. Капелькина Л.П., Бардина Т.В., Чугунова М.В., Бардина В.И., Маячкина Н.В. ОЦЕНКА ЭКОТОКСИЧНОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛАССА ОПАСНОСТИ БУРОВЫХ ШЛАМОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ . . . . .	104
28. Кобзарь А. Д., Гринёва Ю.В., Христофорова Н.К. МИКРОЭЛЕМЕНТ- НЫЙ СОСТАВ БУРЫХ ВОДРОСЛЕЙ-МАКРОФИТОВ Б.КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) КАК ОТРАЖЕНИЕ УСЛОВИЙ МОРСКОЙ СРЕДЫ	109
29. Ковалева В.А. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯ- НИЯ ПОСТАГРОГЕННЫХ ПОЧВ ТУНДРОВЫХ ЭКОСИСТЕМ . . . . .	113
30. Колесников С.И. РАЗРАБОТКА РЕГИОНАЛЬНЫХ И ЛОКАЛЬНЫХ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ . . . . .	120
31. Коновалов А.Г., Рисник Д. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА РАСЧЕТА ЛОКАЛЬНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НОРМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ДЫХАНИЕ ПОЧВ ПРОВИНЦИИ ПАВИЯ (ИТАЛИЯ) . . . . .	122
32. Корнейкова М.В., Лебедева Е.В. ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ - БИОИНДИКАТОРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЙ НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ .	129
33. Kratasyuk V., Esimbekova E. APPLICATIONS OF LUMINOUS BACTERIA ENZYMES IN ECOTOXICOLOGY . . . . .	133
34. Кувичкина Т.Н., Рещетилов А.Н. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММОБИЛИЗО- ВАННЫХ АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, РАСТВОРИМЫХ В ВОДЕ . . . . .	139
35. Kudryavtseva A.D., Shelepchikov A.A., Brodsky E.S. PCDD/F LEVELS IN FREE RANGE CHICKEN EGGS FROM NORTH AND SOUTH OF VIETNAM . . . . .	140
36. Кудряшева Н.С., Рожко Т.В., Петрова А.С., Гусейнов О.А., Захватаев В.Е., Хлебопоре Р.Г., Бадун Г.А., Разживина И.А. ГОРМЕЗИС КАК НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ В ТОКСИКОЛОГИИ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ МОНИТОРИНГА РАДИАЦИОННОЙ ТОКСИЧНОСТИ С ПОМО- ЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МОРСКИХ БАКТЕРИЙ . . . . .	145
37. Кузнецова Т.В., Холодкевич С.В. НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ РАННЕГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ . . . . .	148
38. Кусова Н.Х., Оказова З.П. ХАРАКТЕРИСТИКА ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД Г. ВЛАДИКАВКАЗА, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ФИТОИНДИКАЦИИ . . . . .	150
39. Лаптева Е.М., Виноградова Ю.А., Перминова Е.М. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ТАЕЖНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКО- ГО СЕВЕРО-ВОСТОКА . . . . .	154
40. Луговская Л.А. ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЖИМА НАГОР- НЫХ ДУБРАВ СРЕДНЕГО ПОДОНЬЯ МЕТОДАМИ ДЕНДРОХРОНО- ЛОГИИ И МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЙ БИОИНДИКАЦИИ . . . . .	157
41. Мынбаева Б.Н., Муздыбаева К.К., Асемкулова Г.Б., Калдыбаева Ж. УС- ТАНОВЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ Г. АЛМАТЫ МЕТОДОМ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ . . . . .	166

42. Nikolaeva O.V., Terekhova V.A. PRINCIPLES OF TEST-CULTURES SELECTION FOR THE APPLICATION IN LABORATORY PHYTOTEST . . . 170
43. Олькова А.Н., Кантор Г.Я. ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В РЯДУ ПОКОЛЕНИЙ *DAPHNIA MAGNA* КАК ПОДХОД БИОТЕСТИРОВАНИЯ . . . . . 173
44. Орджоникидзе К.Г., Пельгунова К.А., Крысанов Е.Ю. ХРОНИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА ВЗРОСЛЫХ РЫБ (*NOTHOBRANCHIUS RASBOWI*) . . . . . 178
45. Пивкин М.В. БИОИНДИКАЦИОННЫЙ И ЭКОЛОГО-ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ КОМПЛЕКСОВ МОРСКИХ ГРИБОВ . . . . . 179
46. Pikulenko M.M., Bulechev A.A. CHLOROPHYLL FLUORESCENCE PARAMETERS OF VARIOUS PLANT (MOSS ANTHOCEROS AND PEPPERWORT-SALAD) FOR ENVIRONMENT QUALITY ESTIMATION . . 180
47. Поромов А.А., Терехова В.А., Шитиков В.К. ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ПРИ ОЦЕНКЕ РИСКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ . . . . . 180
48. Poromov A., Kydralievа K., James A. Wan-Xi Yang, Terekhova V. ANTIBIOTIC RESISTANT PATHOGENS INCREASING NEEDS COMPREHENSIVE ECOTOXICOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL APPROACH FOR RISK ASSESSMENT . . . . . 189
49. Рожко Т.В., Кудряшева Н.С. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА НИЗКОДОЗОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТРИТИЯ НА СВЕТЯЩИЕСЯ БАКТЕРИИ . . . . . 191
50. Руднева И.И., Скуратовская Е.Н., Чеснокова И.И., Шайда В.Г., Омельченко С.О., Залевская И.Н. ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РЫБ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ МОРСКОЙ СРЕДЫ . . . . . 193
51. Саидов Д.М., Саидов Г.М., Косевич И.А. ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ЛИЧИНОЧНЫХ СТАДИЙ *M. EDULIS* ПРИ ПРОВЕДЕНИИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ . 202
52. Семенова И.Н., Кужина Г.Ш. БИОТЕСТИРОВАНИЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ Р. МАЛЫЙ КИЗИЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ . . . . . 205
53. Семенюк О.В. ИНДИКАТОРНАЯ РОЛЬ ПОДСТИЛКИ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ . . . . . 211
54. Степанова Н.Ю., Егорова А.В., Асфандиярова Г.Р. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСТРАКОД (*NETEROSYPRIS INCONGRUENS*) ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ . . . . . 214
55. Телешева Е.М., Шелудько А.В., Филипьевичева Ю.А., Синякин Д.Н., Петрова Л.П., Кацы Е.И. УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*, ИМЕЮЩИХ МУТАЦИИ В СИНТЕЗЕ ПОЛИСАХАРИДОВ, К ВОЗДЕЙСТВИЮ СОЕДИНЕНИЙ МЕДИ . . . . . 219
56. Томилина И.И., Ложкина Р.А. БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА . . . . . 221
57. Топильская О.М., Учанов П.В. ЭФФЕКТ БИОЧАРА НА ТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ, ОБРАБОТАННЫХ ПРОТИВОГОЛОЛЕДНЫМ РЕАГЕНТОМ . . . . 222
58. Ускалова Д.В., Маркина Е.С. АНАЛИЗ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У *DUGESIA TIGRINA* ПОСЛЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ . . . . . 226



59. Федосеева Е.В., Терехова В.А., Сапункова Н.Ю.Бондаренко К.С. ИЗМЕНЕНИЕ РОСТОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОМИЦЕТА ALTERNARIA ALTERNATA ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИГНОГУМАТА ПРИ РАЗНОМ ОБОГАЩЕНИИ СРЕДЫ УГЛЕВОДАМИ . . . . .	229
60. Филенко О.Ф., Терехова В.А. ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ: ИНФОРМАТИВНОСТЬ И УНИВЕРСАЛЬНОСТЬ	232
61. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Скугорева С.Г., Зыкова Ю.Н., Горностаева Е.А., Олькова А.С. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОДИАГНОСТИКИ И ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРОБ УРБАНОЗЕМОВ . . . . .	239
62. Henshel D., Cains M.G. INTEGRATING BIOINDICATORS INTO SYSTEM LEVEL RISK ASSESSMENTS . . . . .	241
63. Хабибуллина Ф.М. ТРАНСФОРМАЦИЯ МИКОБИОТЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ОСВОЕНИЯ ПОЧВ В ТУНДРОВОЙ ЗОНЕ . . . . .	242
64. Хватов Д.И. Семенов А.М., Верная О.И., Шабатин В.П., Шабатина Т.И. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ . . . . .	247
65. Хоружая Т.А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВОДЫ, ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ . . . . .	248
66. Цветнов Е.В. Макаров О.А., Ермияев Я.Р. ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР В ОЦЕНКЕ СПРАВЕДЛИВОЙ СТОИМОСТИ ЗЕМЕЛЬ . . . . .	251
67. Цетлин В.В. Макеева В.М., Смуров А.В., Савчуков С.А., Мойса С.С. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВОДЫ И ВОДНОЙ СРЕДЫ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ КАК ИНДИКАТОРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ КОСМОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ . . . . .	252
68. Tsygankov V.Y., Boyarova M.D., Lukyanova O.N., Khristoforova N.K. PACIFIC SALMON, SEABIRDS AND MARINE MAMMALS AS BIO-INDICATORS OF ORGANOCHLORINE CONTAMINATION ON NORTHWESTERN PACIFIC . . . . .	263
69. Черкашин С.А. БИОТЕСТИРОВАНИЕ НА РАКООБРАЗНЫХ КАЧЕСТВА ВОД АМУРСКОГО ЗАЛИВА ЯПОНСКОГО МОРЯ . . . . .	269
70. Чуйко Г.М. МЕСТО И РОЛЬ БИОМАРКЕРОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ . . . . .	275
71. Шайда В.Г., Руднева И.И. МОНИТОРИНГ КРЫМСКИХ СОЛЕННЫХ ОЗЕР . . . . .	283
72. Шашкова Т.Л., Григорьев Ю.С. О ПОЛУЧЕНИИ БОЛЕЕ ВОСПРОИЗВОДИМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ НА СОЛОНОВОДНЫХ РАЧКАХ ARTEMIA SALINA . . . . .	284
73. Панова М.И., Пукальчик М.А., Терехова В.А. СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОЛЕЙ СВИНЦА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ . . . . .	286
74. Kahru Anne, Blinova Irina. CURRENT APPROACHES IN NANO(ECO)TOXICOLOGY . . . . .	289

75. Христофорова Н. К., Кобзарь А. Д., Цыганков В.Ю., Лукьянова О.Н. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МОРСКИХ ВОД ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ .....	290
76. Горленко М.В. ВОЗМОЖНОСТИ И ЛИМИТАЦИИ МЕТОДА МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ЗАДАЧАХ ЭКОМОНИТОРИНГА .....	297
77. Жубанова А.А., Дигель И.Э., Заядан Б.К., Акимбеков Н.Ш. ПОЛУЧЕНИЕ И БИОТЕСТИРОВАНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ КАРБЕНИЗИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ ГЕТЕРОГЕННЫХ НАНОБИОКОМПОЗИТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ .....	300
78. Яковлев А.С. НАУЧНО-ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ НОРМИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ .....	304
79. Учанов П.В., Асеева П.А., Гасанов М.Э., Лозанова Е.В. ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ АНИОНОВ НА ФИТОЭФФЕКТЫ СОЛЕЙ СВИНЦА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СТАНДАРТНОЙ ПОЧВЫ .....	307

**Биотестирование экологической безопасности продуктов и отходов современных технологий. Материалы международной молодежной школы .....**

1. Абдрахманова А.А., Даденко Е.В. ПРИМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЕРМЕН-ТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ПОД СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫМИ УГОДЬЯМИ .....	315
2. Андреева О.А., Кожевин П.А. ВАЛИДНОСТЬ МЕТОДОВ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ КОНТРОЛЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ....	317
3. Асанова А.А., Григорьев Ю.С., Полонский В.И., Вишняков А.Н. ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ .....	318
4. Астайкина А.А., Тихонов В.В., Горбатов В.С. ГИГИЕНИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ ПЕСТИЦИДОВ В ПОЧВЕ: КРИТИКА И ПРЕДЛОЖЕНИЯ	320
5. Бахарева Л.В., Казеев К.Ш. ДИАГНОСТИКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ФУНГИЦИДАМИ БАСТИОН И СТРЕКАР ПО ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЫ .....	323
6. Безус Е.И., Казеев К.Ш. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ЮЖНОГО МАКРОСКЛОНА ГОР КРЫМА .....	325
7. Белова А.Н., Савватеева О.А. ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА Г. КИМРЫ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ ....	327
8. Габбасова Д.Т., Протопопов Ф.Ф., Тимофеев Н.П., Маторин Д.Н. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ БЫСТРОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ХРОМАТА НА МИКРОВОДОРОСЛИ .....	328
9. Gabdullina R.I., Kargapol'tseva I.A. THE ASSESSING OF THE RIVER MALINOVKA'S ENVIRONMENTAL STATUS ON MACROZOOBENTHOS ORGANISMS AND HEAVY METALS IN THE SEDIMENTS IN IZHEVSK .	331

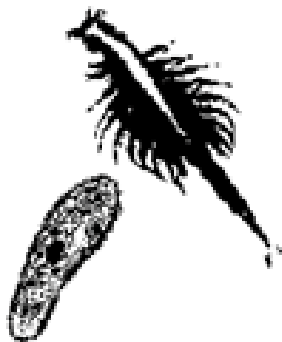
10. Гимп А.В., Сушкова С.Н; Минкина Т.М; Нефедова А.А. ВЛИЯНИЕ БЕНЗ(А)ПИРЕНА НА МОРФОБИОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯЧМЕНЯ ЯРОВОГО В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ .....	332
11. Гриднева М.Н., Казеев К.Ш. ВЛИЯНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ АГРОТЕХНОЛОГИЙ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ЧЕРНОЗЕМОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ .....	333
12. Дмитриева Е.С., Тригуб А.Г. НОРМИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ВОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ И СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ .....	335
13. Долженко М.В. Ажогина Т.Н., Илюшкина Л.Н. РАСПРОСТРАНЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ СРЕДИ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ .....	336
14. Дударева Д.М., Квиткина А.Н., Севостьянов С.М., Демин Д.В. ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАТУРАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ НА МИКРОБНУЮ БИОМАССУ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ .....	339
15. Дунаева А.А., Садыков А.Н., Сергиенко О.М., Сусленкова М.М. БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВ РАЗНОГО ГЕНЕЗИСА И РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ДОРОЖНОЙ ПЫЛЬЮ НА ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ .....	341
16. Евстегнеева Н.А., Колесников С.И. ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ CR, CU, NI, PB И НЕФТЬЮ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЕРНОВО - КАРБОНАТНЫХ ВЫЩЕЛОЧЕННЫХ ПОЧВ ПРИЧЕРНОМОРЬЯ .....	342
17. Zhivetev M.A., Graskova I.A. MEDICINAL HERB BIOCHEMICAL ADAPTATION TO THERMAL REGIMES AS A BIOLOGICAL INDICATOR OF STRESS LEVELS .....	342
18. Жильцова А.А., Харчева А.В., Лунина О.Н., Рашидов В.А., Пацаева С.В. СПЕКТРАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК И В ПРИРОДНОЙ ВОДЕ ОСТРОВА-ВУЛКАНА АЛАИД ..	344
19. Жубанова А.А., Кайырманова Г.К., Акимбеков Н.Ш., Ерназарова А.К., Баубекова А.С., Абдиева Г.Ж., Уалиева П.С., Тастамбек К.Т. РАЗРАБОТКА БАТАРЕИ КРАТКОСРОЧНЫХ БИОТЕСТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННЫХ И ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ IN SITU И В ПРОЦЕССЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ КАЗАХСТАНА .....	345
20. Залозных С.А., Колесников С.И., Фесенко В.И. ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ДЕГИДРОГЕНАЗЫ СОЛОНЧАКА ГИДРОМОРФНОГО МАРШЕВОГО КАРБОНАТНОГО ПЕСЧАНОГО ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ .....	348
21. Иовчева А.Д., Учанов П.В. ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА СНЕГОВЫХ ПРОБ В РАМКАХ ИЗУЧЕНИЯ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДА ЯРОСЛАВЛЯ .....	350
22. Карапун М.Ю., Айтимова А.М. ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ МОРСКОЙ ТРАВЫ СЕМЕЙСТВА ZOSTERACEAE (DUMORT) ВОДНОЙ ТЕХНОГЕННОЙ ЭКОСИСТЕМЫ .....	353

23. Кириллова М.А., Есимбекова Е.Н., Кратасюк В.А. СОПРЯЖЕННАЯ ФЕРМЕНТАТИВНАЯ СИСТЕМА СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ ДЛЯ АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ . . . . . 355
24. Кирюшина А.П. ИНДИКАЦИЯ ЭФФЕКТА СЕЛЕНИТА НАТРИЯ ПО НАКОПЛЕНИЮ БИОМАССЫ И АККУМУЛЯТИВНЫМ ПАРАМЕТРАМ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ . . . . . 357
25. Козлов М.А. Волкова Ю.А., Злобин И.Е., Карташов А.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛАБИЛЬНЫХ ФОРМ ИОНОВ ЦИНКА В ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ . . . . . 358
26. Колесников В.Ю. Якимова А.С., Полторацкая Т.А., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш. ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИИ NO-TILL НА ПОЧВЕННУЮ МЕЗОФАУНУ . . . . . 361
27. Котельникова А.Д., Фастовец И.А., Рогова О.Б., Сушков Н.И., Пашкевич Е.Б., Столбова В.В., Щеглов А.И. ПРИМЕНЕНИЯ БИОТЕСТА С ALLIUM SERA L. ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛАНТАНА . . . 362
28. Кравченко Е.И., Учанов П.В. БЕНЗ(А)ПИРЕН В ВОДОЕМАХ: ГИБЕЛЬ ИЛИ ПРОЦВЕТЕНИЕ ЭКОСИСТЕМ? . . . . . 364
29. Кубасова Д.А., Реховская Е.О. ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК СНЕЖНОГО ПОКРОВА ГОРОДА ОМСКА ЗА 2014-2016 ГОДЫ . . . 365
30. Ложкина Р.А., Томилина И.И. ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ГИДРОБИОНТОВ РАЗЛИЧНОЙ СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ . . . . . 367
31. Ляшенко Ю.В., Колесников С.И. РАЗРАБОТКА РЕГИОНАЛЬНЫХ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ CR, CU, NI, PB И НЕФТИ В КОРИЧНЕВЫХ КРАСНОЦВЕТНЫХ ПОЧВАХ (ТЕРРА-РОССА) КРЫМА . . . . . 369
32. Мазур М.А., Мазур А.А., Журавель Е.В. ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ДОННЫХ ОСАДКОВ ЗАЛ. ВОСТОК (ЗАЛ. ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОЕ МОРЕ) НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМБРИОТЕСТА С ПЛОСКИМИ МОРСКИМИ ЕЖАМИ . . . . . 371
33. Мерзеликин А.Ю. Гершкович Д.М. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ СРЕДЫ ADAM В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ НА ПРИМЕРЕ SERIODARNIA AFFINIS LILLJEVORG . . . . . 372
34. Минникова Т.В., Баранова Г.В., Денисова Т.В., Колесников С.И. ВЛИЯНИЕ МЕЛИОРАНТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ . . . . . 375
35. Михеев М.А., Ипатов В.И. ДВУХВИДОВАЯ ТЕСТ-КУЛЬТУРА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ . . . . . 377
36. Муругина В.С., Казеев К.Ш. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО РЕГИОНА . . . . . 379
37. Назарян А.И., Колесников С.И. ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ GE, SA, Y, UV, SC, NB, TL НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО . . . . . 381
38. Насруллаев И.Э., Пономарева В.С., Казеев Д.К., Борисенко Д.С., Черникова М.П., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦЕЛИННЫХ ЧЕРНОЗЕМОВ И ПОЧВ С РАЗНОЙ ТЕХНОЛОГИЕЙ ОБРАБОТКИ . . . . 383

39. Нгун К.Т., Плешакова Е.В., Решетников М.В. ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ НАД ПОДЗЕМНЫМ ХРАНИЛИЩЕМ ПРИРОДНОГО ГАЗА .....	385
40. Одабашян М.Ю., Казеев К.Ш., Трушков А.В. ДИАГНОСТИКА ПИРОГЕННОГО ЭФФЕКТА НА ЧЕРНОЗЕМЕ ОБЫКНОВЕННОМ ПО АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ .....	386
41. Парамонова А.И. ЛИХЕНОИНДИКАЦИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ТЕРРИТОРИИ ПРОМЗОНЫ г. ХИМКИ ВБЛИЗИ ЛЕНИНГРАДСКОГО ШОССЕ .....	388
42. Савина Н.Б. ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ DAPHNIA MAGNA ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ .....	390
43. Саламова А.С. Сушкова С.Н., Минкина Т.М., Дерябкина И.Г., Замулина И.В. СОДЕРЖАНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БЕНЗ(А)ПИРЕНА В ПОЧВАХ МОНИТОРИНГОВЫХ ПЛОЩАДОК НОВОЧЕРКАССКОЙ ЭЛЕКТРОСТАЦИИ .....	393
44. Safronova N.A., Kulikova N.A. ALLIUM TEST: A RELIABLE ASSAY FOR DETECTING GENOTOXICITY OF ENGINEERED NANOPARTICLES .....	394
45. Тимошенко А.Н., Колесников С.И. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО НАНОЧАСТИЦАМИ НИКЕЛЯ, ЦИНКА И МЕДИ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ .....	396
46. Тригуб А.Г., Дмитриева Е.С. БИОТЕСТИРОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТА AG/AGCL НА ПРИМЕРЕ ФИТОПЛАНКТОНА .....	397
47. Трушков А.В., Казеев К.Ш., Одабашян М.Ю. ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ ЗАЛЕЖЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА .....	399
48. Устенко К.В., Ускалова Д.В., Сарапульцева Е.И. ОТДАЛЕННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИОЧАСТОТНОГО ОБЛУЧЕНИЯ DAPHNIA MAGNA В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА .....	400
49. Федюнин В.А., Смуров А.В., Поромов А.А. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОВ НА СИМБИОТИЧЕСКУЮ АССОЦИАЦИЮ МОРСКИХ ЗВЁЗД ASTERIAS RUBENS L. И КОПЕПОД SCOTTOMYZON GIBBERUM SCOTT НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ .....	401
50. Фесенко В.И., Залозных С.А., Колесников С.И. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА КАТАЛАЗА СОЛОНЧАКА ГИДРОМОРФНОГО СОРОВОГО ТАМАНИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ .....	403
51. Черепанова А.С., Максимова Н.Б. ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ ПРИЖЕЛЕЗНОДОРОЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ГОРОДА БАРНАУЛА .....	405
52. Чермашенцева Э.В., Зотова Т.А.; Чермашенцева Н.А. ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ УСТАРЕВШЕГО ГРАНОЗАНА .....	408
53. Черникова М.П., Казеев К.Ш. ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧВ ХРЕБТА НАВАГИР ЗАПОВЕДНИКА «УТРИШ» .....	410

54. Чувараева О.В., Акименко Ю. В. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БУРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ БИОЦИДАМИ . . . . .	412
55. Joonas Elise, Villem Aruoja, Kalle Olli, Anne Kahru. DOPED RARE EARTH OXIDES AND THEIR CONSTITUENT METALS INHIBIT <i>RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA</i> GROWTH VIA ION LEACHING, NUTRIENT REMOVAL AND AGGLOMERATION . . . . .	415
56. Kalmatskaya O.A., Karavaev V.A. INFLUENCE OF FLUORIDE STRESS DURATION ON THE FLUORESCENCE INDICES OF BEAN LEAVES . . . .	416
57. Ланкин А.В., Креславский В.Д., Аллахвердиев С.И. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛЛЮТАНТОВ НА РАСТЕНИЯ . . . . .	417
58. Юрищева А.А., Пукальчик М.А., Худайбергенова Б.М., Терехова В.А., Кыдралиева К.А. ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ МАГНЕТИТА И ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ . . . . .	418

# ЛЭТАП



**Лаборатория экотоксикологического анализа почв (ЛЭТАП)** 15 января в 2017 году отмечает свое 15-летие. Организованная на факультете почвоведения МГУ лаборатория с 2002 г. имеет аттестат аккредитации, выполняет исследования, как с целью практического контроля класса опасности и степени экотоксичности объектов окружающей среды, так и в рамках научных проектов различных фондов и экологических экспертиз. За прошедшие годы накоплен большой опыт в применении современных биотест-систем к оценке токсичности природных сред - почв, вод, донных отложений, в определении степени опасности отходов различных производств, традиционных поллютантов, отходов и продуктов новых технологий. Разработаны и внедрены широко востребованные методики биотестирования, проводится обучение специалистов и студентов навыкам работы с тест-культурами.

Реализуемая в лабораториях МГУ программа краткосрочного повышения квалификации экологов «Технологии биотестирования экологическом контроле природных и техногенных объектов» (72 час.) пользуется популярностью. Как правило, два раза в год ЛЭТАП проводит набор в группы как преподавателей и аспирантов университетов и институтов, так и специалистов экоаналитических лабораторий и центров.

Мы рады новым предложениям, открыты к сотрудничеству и обмену опытом.  
Наши контакты : 8 495 930 03 50 ; [letap.msu@gmail.com](mailto:letap.msu@gmail.com) ; [www.letap-msu.ru](http://www.letap-msu.ru)



**ООО «Европолitest»** - молодая компания, созданная в 2009 году молодыми и энергичными специалистами, обладающими большим опытом в области производства и комплексного оснащения лабораторий различного профиля лабораторно-аналитическим, испытательным, общелабораторным оборудованием, лабораторной мебелью и сопутствующей продукцией.

Уникальным предложением ООО "Европолitest" на российском рынке является профессионализм и углубленные знания в области биотестирования. Сегодня деятельность компании не ограничивается только сферой экотоксикологии, но и расширяется на сферу токсикологии кормов и пищевых добавок. Совместно с к.т.н Черемных Е.Г. разработан и активно внедряется в лабораторную практику автоматизированный программно-технический комплекс «БиоЛаТ», способный значительно снизить трудоемкость оценки интегральной токсичности проб в комбикормовой отрасли, повысить точность и сходимость биотестов на инфузориях.

ООО «Европолitest» уделяет большое внимание внедрению в производственный процесс разработок российских ученых, инвестирует средства в производство оборудования, в основе которого лежат запатентованные методы и инженерные решения наших разработчиков. Уже не первый год развивается плодотворное сотрудничество с ФГОУ ВПО «Сибирский Федеральный Университет» в области производства и продвижения оборудования для экологического мониторинга. Это оборудование, разработанное под руководством профессора Григорьева Ю.С. в Красноярском государственном университете, доказало высокую эффективность и заслужило признание в лабораториях госконтроля (ЦЛАТИ, ЦГиЭ, ЦГМС, ЦСМ и др.) при оценке токсичности проб природных сред и отходов. Немаловажным достоинством этого типа оборудования является широкая и всесторонняя сервисная и методическая поддержка пользователей, осуществляемая ООО «Европолitest».

Благодаря высокому качеству и надежности, выпускаемое нашей компанией оборудование завоевало доверие и признание токсикологов и гидробиологов по всей России: на сегодняшний день успешно установлено и работает более 1000



приборов, производимых ООО «Европолитест». В списке наших постоянных клиентов промышленные предприятия и государственные учреждения РФ.

Спектр предлагаемого ООО «Европолитест» оборудования:

- Климатостаты серий: P2, B2, B3, B4;
- Лаборатория для биотестирования вод (ЛБТ),
- Флуориметр «Фотон-10»,
  - Комплекс для автоматизированного биотестирования «БиоЛаТ» (ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности»),
- Лабораторный флуориметр «ЕФМА»
  - Качественная лабораторная мебель и дополнительное приборное обеспечение в области постановки биотестов.

Также ООО "Европолитест" проводит ежегодные курсы повышения квалификации для специалистов в сфере экотоксикологии с выдачей свидетельства государственного образца от ФГОУ ВПО «Сибирский Федеральный Университет».

Сайт компании: [www.биотестирование.рф](http://www.биотестирование.рф)



## Издательство ГЕОС

издание и распространение  
научной литературы

**Издательство ГЕОС сотрудничает  
с Российским фондом фундаментальных исследований и другими  
фондами, издает книги, брошюры любых обрезных форматов  
в твердой и мягкой обложке с черно-белыми и цветными  
иллюстрациями, полноцветные журналы и буклеты**

### *Издательство ГЕОС:*

- составляет сметы издательских проектов;
- готовит рукописи к изданию (набор, литературное, техническое и художественное редактирование, верстку, изготовление оригинал-макетов) (за 1–4 месяца);
- гарантирует высококачественную печать (за 2–8 недель) на лучших сортах отечественной и импортной бумаги;
- осуществляет распространение книг в России и за рубежом, рассылает их рекламу по ведущим научным учреждениям, университетам, библиотекам, книготорговым организациям!

Цены оптимальные. Звоните, приходите и убедитесь!

119017, Москва, Пыжевский пер. 7, ГИН РАН, ком. 332, Кураленко Н.П.,  
Чистякова И.А.

Тел./факс: (495) 959-35-16. 8-926-222-30-91

E-mail: [geos-books@yandex.ru](mailto:geos-books@yandex.ru),

<http://www.geos-books.ru>

**Научное издание**

**Биодиагностика  
и оценка качества природной среды:  
подходы, методы, критерии и эталоны  
сравнения в экотоксикологии**

**Материалы международного симпозиума и школы,  
МГУ 25–28 октября 2016 г.**

Подписано к печати 14.10.2016.

Формат 70x100 1/16. Бумага офсетная № 1, 80 г/м<sup>2</sup>

Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Уч.-изд. л. 25,0. Тираж 100 экз.

ООО “Издательство ГЕОС”

129315, Москва, 1-й Амбулаторный пр-д, 7/3-114.

Тел./факс: (495) 959-35-16, (499) 152-19-14, 8-926-222-30-91.

E-mail: [geos-books@yandex.ru](mailto:geos-books@yandex.ru),

[www.geos-books.ru](http://www.geos-books.ru)

Отпечатано с готового оригинал-макета в ООО “Чебоксарская типография № 1”  
428019, г.Чебоксары, пр. И.Яковлева, 15.



Экстир

