

УДК 502.051

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ПРИРОДНЫХ ВОД МЕТОДОМ
БИОТЕСТИРОВАНИЯ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ**

© 2013 В.В. Александрова

Нижевартовский государственный университет

Поступила в редакцию 15.05.2013

В статье предложена инновационная методика биотестирования и прибор «Экспресс-биотестор» для биотестирования в полевых условиях. Дано описание прибора, методика его применения, параметры и время тестирования. Рекомендованы сезоны года, а также даны рекомендации по использованию прибора в разных природных объектах.

Ключевые слова: *методика биотестирования, тест-объект, «Экспресс-биотестор», Daphnia magna, Ceriodaphnia affinis*

Оценка качества природных и сточных вод в настоящее время проводится по результатам химических анализов проб воды, а так же по результатам биотестирования проб воды в лабораторных условиях. И тот, и другой метод имеет ряд недостатков. Недостатками оценки качества природных и сточных вод по результатам химического анализа является то, что для разных регионов характерна фоновая концентрация разных химических веществ, к примеру, высокие концентрации в воде водоемов Нижевартовского района гуминовых кислот, ионов аммония, железа и марганца, а также части фенолов, образующихся при разложении растительных остатков, не зависят от антропогенной нагрузки и вызваны влиянием природных факторов, в частности, условиями формирования водотоков на территории района. Химический анализ проб воды не отражает характера взаимодействия веществ, а также не учитывается влияние температурного фактора. Цель биотестирования водной среды – выявление на гидробионтах степени и характера токсичности воды, загрязненной биологически опасными веществами и оценка возможной опасности этой воды, для водных и других организмов. Для тестирования вод природных водоемов главное требование – чувствительность тест-объектов к микроколичествам токсикантов, характерных для естественных вод [1]. Выбор стандартных условий проведения испытаний также немаловажен, как и выбор тест-объектов. При постановке опыта следует обязательно установить и учесть действующие факторы и диапазоны их изменения. К числу таких факторов следует отнести, в первую очередь, концентрацию токсиканта, продолжительность экспозиции тест-организмов в токсической среде и температуру воды, т.е. факторы,

присутствующие в каждом эксперименте и практически неустраняемые [2].

При выборе длительности опытов необходимо учитывать биологию тест-объектов, характер действия исследуемого вещества, цель и задачи биотестирования. Наиболее часто используются тесты по критериям выживаемости и плодовитости. Популяционный смысл критерия выживаемости заключается в том, что любая популяция неоднородна в отношении чувствительности к токсиканту, в ней есть особи резистентные и толерантные, и токсикант в плане дальнейшей судьбы популяции действует как фактор отбора. Одним из главных критериев благополучия, с точки зрения популяции, является соотношение между рождаемостью и смертностью. Учесть его в естественных условиях очень трудно, но оно отчетливо может быть охарактеризовано в опытах на синхронизированной тест-культуре беспозвоночных животных с коротким жизненным циклом.

Главные достоинства биотестирования – простота и доступность приемов их постановки, высокая чувствительность тест-организмов к минимальным концентрациям токсических агентов, быстрота, отсутствие надобности в дорогостоящих реактивах и оборудовании. Одним из недостатков лабораторного биотестирования является то, что тестирование вод проводят в лабораторных условиях в краткосрочных и хронических экспериментах на изолированных популяциях организмов по ограниченному набору физиологических и поведенческих реакций, для отдельных факторов без какого-либо учета их возможного взаимодействия. При лабораторном тестировании обеспечивается набор оптимальных факторов для тест-объектов при том, что в естественных условиях возможны вариации абиотических и биотических факторов.

В течение шести лет 2004-2010 гг. проводилось обследование р. Обь методом хронического биотестирования на тест-объектах *C. Affinis* в лабораторных условиях. Были обследованы точки: 500

Александрова Виктория Викторовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии. E-mail: aleksandrovavv2006@yandex.ru

м выше сброса устья протоки Б. Рязанка, 500 м ниже сброса устья протоки Б. Рязанка. Данные участки выбраны с целью отслеживания негативного влияния городских и промышленных стоков на воды р. Обь. Первая точка находится выше по течению, вторая ниже по течению относительно г. Нижневартовска. В период исследования проб воды р. Обь превышение ПДК отмечалось по таким показателям как: нефтепродукты, аммоний, медь, железо, фенолы, а также по таким показателям как ХПК, АПАВ. Нефтепродукты выше нормативов ПДК определялись редко (в 20% отобранных проб), превышение норм было незначительным 0,006-0,007 мг/л. Превышение нормативов ПДК по аммоний-иону отмечено в 42% случаев. В 62% проб меди определялось от 0,002 до 0,005 мг/л, аналогичное превышение уровней ПДК регистрировалось по содержанию количества фенолов от 0,002 до 0,004 мг/л. Количество железа в тестируемой воде в 100% случаев превышало допустимые пределы. Превышение нормативов ПДК по марганцу отмечено в 100% случаев за исследованный период, резкие скачки количества марганца в водах р. Обь преимущественно отмечаются в зимний период в первых кварталах года.

Корреляционную зависимость количества молодых тест-объекта *C. affinis* с количеством химических веществ в исследуемых пробах проводили с использованием функции КОРРЕЛ программы Excel. Связь между показателями биотестирования и химического анализа воды может быть отрицательной и положительной: когда значения одной переменной убывают, значения другой возрастают, это показывает отрицательный коэффициент корреляции. При положительной корреляции при увеличении одного параметра второй тоже увеличивается. Достоверность коррелятивной зависимости определяли, рассчитывая *t*-критерий и сравнивая его с табличным (*t* st) значением. При $t > t_{st}$ для данной доверительной вероятности наличие корреляции можно считать статистически достоверным [3]. Рассчитывалась как частная корреляция, так и множественная. Корреляционная зависимость токсичности по критериям выживаемости, проб воды р. Обь с результатами химических анализов составила: железо ($r=0,09$), марганец ($r=0,29$), аммоний ($r=0,11$), медь ($r=0,07$), нефтепродукты ($r=0,02$), фенолы ($r=0,06$), цинк ($r=0,02$), хлориды ($r=0,1$), нитраты ($r=0,01$), нитриты ($r=0,09$). Показатели положительно коррелируют с результатами биотестирования. Отрицательная корреляция отмечена лишь с фосфатами ($r = -0,03$).

Корреляционная зависимость хронической токсичности по критериям плодовитости проб воды р. Обь с результатами химических анализов составила: железо ($r = -0,2$), марганец ($r=0,2$), аммоний ($r = -0,1$), медь ($r = -0,07$), нефтепродукты ($r = -0,07$), фенолы ($r=0,03$), цинк ($r=0,01$), нитраты ($r=0,04$), нитриты ($r = -0,07$), фосфаты ($r=0,04$), хлориды ($r=0,01$). Кроме того, рассчитывалась множественная коррелятивная зависимость токсичности проб воды по показателю плодовитости с такими химическими веществами, как марганец и цинк.

Показатель множественной корреляции составил $r=0,4$, показатель достоверен, так как полученный коэффициент больше максимального из парных или частных коэффициентов корреляции $0,4 > 0,01; 0,2; -0,06$.

В связи с вышеизложенным встает вопрос о необходимости корректировки методики лабораторного биотестирования природных и сточных вод. Для решения данного вопроса предлагается использовать дополнительные методы, позволяющие адекватно интерпретировать результаты химического анализа и результаты лабораторного биотестирования. В данной статье описывается инновационная методика биотестирования, предложен прибор для осуществления биотестирования в полевых условиях. Предложены способы интерпретации результатов. Методика биотестирования с использованием «Экспресс-биотестора» основана на стандартной методике, однако особенность ее в том, что вывод о токсичности воды делается на основании сравнения результатов лабораторного биотестирования проб воды, полевого биотестирования воды с использованием «Экспресс-биотестора» непосредственно в водном объекте, с контрольными результатами.

Основной частью прибора «Экспресс-биотестор» является цилиндрический пластиковый сосуд вместимостью 300 мл. Он снабжен закрывающейся сверху крышкой. Высота емкости 10 см, на высоте 6 см по окружности емкость имеет отверстия диаметром 0,5 мм. К прибору прикреплен трос длиной 1,5 м, к верхней части троса прикреплен буй, способный удерживать вес 1 кг. Величина сосуда может варьировать в зависимости от размеров тест-объектов и целей эксперимента. Методика полевого биотестирования качества воды с использованием «Экспресс-биотестора» непосредственно в водном объекте заключается в следующем: крышка прибора открывается и емкость заливается культивационной водой, уровень воды составляет 6 см и не должен достигать отверстий, после чего в культивационную воду помещаются 10 тест-объектов *Daphnia magna* либо *Ceriodaphnia affinis* 24-часового возраста (разница между возрастом рачков не должна составлять более 8 часов, что определяется по размеру рачков и обеспечивается синхронизированным культивированием), либо другой тест-объект. Крышка прибора закрывается. Прибор с тест-объектами помещается непосредственно в водный объект на нужную глубину (глубина погружения регулируется длиной веревки) и в выбранном месте. Буй остается на поверхности воды, благодаря чему прибор можно будет легко обнаружить. При необходимости можно использовать груз. Отверстия в стенках емкости обеспечивают попадание и циркуляцию природной воды тестируемого водного объекта в «Экспресс-биотесторе», следовательно, тест-объекты окажутся в тестируемой среде. После окончания процедуры тестирования, а также при проведении процедуры регистрации выживаемости и плодовитости тест-объектов «Экспресс-био-тестор» вынимается из водного объекта, лишняя вода через отверстия

сливается, остается количество воды, необходимое для поддержания жизнедеятельности тест-объектов. Подсчет выживших особей, родившейся молоди, а также анализ результатов можно делать как в полевых условиях, так и в лаборатории. При необходимости продолжения опыта прибор возвращается в исходную точку.

Параметры и время тестирования можно выбрать в зависимости от целей тестирования и биологии тест-объекта. Если это острая токсичность, то показания можно снимать через 1 час, 24 часа, 48 часов, если определяется хроническая токсичность, то подсчет выживших особей и регистрация выметанной молоди должна производиться раз в сутки. При проведении биотестирования с использованием тест-объекта *Ceriodaphnia affinis* учет смертности цериодафний в опыте целесообразно проводить через каждый час до конца первого дня опыта, а затем 2 раза в сутки ежедневно до истечения 48 часов. Продолжительность хронического опыта на тест-объекте *Ceriodaphnia affinis* 7-10 суток, опыт считается законченным, если в контроле выживает 80% испытуемых цериодафний, а 60% и более из них дают три поколения молоди (первый помет при удовлетворительных условиях на 3-4 день и каждый следующий через 36-48 часов; при соблюдении удовлетворительных условий обычно происходит три помета за 7-10 суток эксперимента).

Отметим, что использование прибора возможно в летний период, а также поздней весной и ранней осенью. В озерах и стоячих водоемах возможно использование прибора без дополнительных

приспособлений, в реках с сильным течением рекомендуется использование груза или троса с креплением на берегу, для устранения потери прибора. Прибор спускается в воду на тросе, и может работать на разных глубинах. Наиболее успешно применять прибор при биотестировании вод на поверхности и на глубинах, не превышающих 1,5 м. «Экспресс-биотестор» может применяться для работы с лодки или судна, его необходимо опускать в воду в вертикальном направлении.

Использование «Экспресс-биотестора» устраняет недостатки биотестирования проб воды в лабораторных условиях в весенне-летний и летне-осенний период. Применение методики биотестирования с использованием прибора «Экспресс-биотестор» непосредственно в полевых условиях исключает необходимость консервирования проб воды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Брагинский, Л.П. Экспериментальное тестирование токсичности водной среды и повышение чувствительности биологических тестов / Л.П. Брагинский, В.Д. Береза, Т.И. Биргер и др. // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. – Л.: Наука, 1979. С. 324-336.
2. Брагинский, Л.П. Острая токсичность тяжёлых металлов для водных беспозвоночных при различных температурных условиях / Л.П. Брагинский, Э.П. Щербань // Гидробиол. журнал. 1978. №6. С. 86-92.
3. Елисеева, И.И. Статистика: учебник / И.И. Елисеева, А.В. Изотов, Е.Б. Капранова и др. – М.: КНОРУС, 2006. 552 с.

DETERMINATION THE QUALITY OF NATURAL WATERS BY THE METHOD OF BIOTESTING IN FIELD CONDITIONS

© 2013 V.V. Aleksandrova

Nizhnevartovsk State University

In article the innovative technique of biotesting and the device "Express-biotestor" for biotesting in field conditions is offered. The device description, technique of its application, parameters and testing time is given. Seasons of year are recommended, and also recommendations about device use in different natural objects are made.

Key words: biotesting technique, test object, "Express-biotestor", *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*