

85. Жигилева О.Н. Паразиты рыб р. Туры в Тюмени и ее окрестностях // Экология фундаментальная и прикладная: Проблемы урбанизации: М-лы междунар. науч.-практ. конф. Екатеринбург, 3-4 февр. 2005. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2005. С. 126-128.

86. Румянцев Е.А. Паразиты рыб как экологические индикаторы эвтрофикации озер // Экология. 1997. № 5. С. 347-350.

87. Безух Н.И., Жигилева О.Н. Морфоэкологическая и паразитологическая характеристика язя (*Leuciscus idus*) из реки Обь в районе города Сургута // Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем: М-лы междунар. науч. конф. Ростов-н/Д., 2006. С. 28-30.

88. Жигилева О.Н., Безух Н.И. Оценка состояния популяции язя (*Leuciscus idus*) из реки Обь в районе нефтедобычи // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов-2: м-лы междунар. научн.-практ. конф. (расш.). Борок-Москва: Россельхозакадемия, 2007. С. 157-161.

Татьяна Ивановна МОИСЕЕНКО —
зав. отделом биогеохимии и экологии
Института геохимии и аналитической химии
им. В.И. Вернадского РАН,
зав. лабораторией качества вод, устойчивости
водных экосистем и экотоксикологии
Тюменского государственного университета,
доктор биологических наук, профессор
член-корреспондент РАН
moiseenko@geokhi.ru

Сергей Николаевич ГАШЕВ —
зав. кафедрой зоологии и ихтиологии,
доктор биологических наук, профессор
gsn-61@mail.ru

Галина Александровна ПЕТУХОВА —
профессор кафедры экологии и генетики,
доктор биологических наук

Андрей Васильевич ЕЛИФАНОВ —
доцент кафедры анатомии
и физиологии человека и животных,
кандидат биологических наук

Александр Германович СЕЛЮКОВ —
доцент кафедры зоологии и ихтиологии,
кандидат биологических наук

Тюменский государственный университет

УДК 57.084.1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД: ЧАСТЬ 2. БИОТЕСТИРОВАНИЕ

BIOLOGICAL METHODS OF WATERS QUALITY ESTIMATION: PART 2. BIOTESTING

АННОТАЦИЯ. Приводится критический анализ существующих подходов биологической оценки качества вод с использованием методов биотестирования. Обосновывается значимость этих методов для установления количественных

связей в системе «доза-эффект», а также для выяснения токсического воздействия отдельных загрязняющих веществ на разные группы организмов. Дается сравнительный анализ значимости критериев по состоянию индивидуумов. Представлены результаты практической апробации методов биотестирования как для отдельных водных объектов, так и поллютантов в Западной Сибири.

SUMMARY. The given article offers the critical analysis of existing approaches of water quality biological estimation with the application of biotesting methods. The importance of these methods for the establishment of quantitative realations in «dose – effect» system is stated, as well as for the identification of toxic influence of separate polluting substances on different groups of organisms. The comparative analysis of the criteria significance with reference to the condition of individuals is given. The results of practical testing of biotesting methods for separate water objects, and polluting substances in Western Siberia are presented.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Биотестирование, загрязнение, токсические эффекты, качество вод.

KEY WORDS. Biotesting, pollution, toxic effects, quality of waters.

В силу высокой научной и практической значимости проблема оценки качества вод привлекает большое количество исследователей. Система мониторинга качества вод в России, как и в большинстве других стран мира, позволяет только дать оценку превышения отдельных компонентов (чаще токсикантов) к их лимитирующим показателям — предельно-допустимым концентрациям (ПДК) для водных объектов, в основном подвергающихся воздействию стоков. ПДК (или критические уровни загрязнения) практически не учитывают специфику формирования качества вод, их зональные и ландшафтно-географические особенности, а также поведение антропогенно-привнесенных элементов в различных условиях, сопутствующие факторы, а также природную уязвимость водных экосистем к действию загрязнения и их комбинированные эффекты.

Загрязнение водного объекта оценивается на основе установления кратности превышения измеренных концентраций отдельных элементов и веществ к их ПДК или числа случаев с превышением ПДК. В Государственном докладе о состоянии окружающей среды [1], как и в ряде научных публикаций, на многих страницах идет констатация фактов, в какой водной системе и по каким элементам превышены ПДК. При этом не всегда ясно, сколько веществ и элементов было измерено в каждом конкретном случае, на фоне каких природных условий и в какой комбинации они оказывают вредное воздействие на биологические системы. И тем более неясно, насколько эти превышения опасны для живых организмов и жизнедеятельности человека.

ПДК достаточно условны и существенно различаются в различных странах, несмотря на унифицированные методы по их установлению. Например, в России [2], по сравнению с другими странами: Канада, США, страны ЕС [3], [4], [5], неоправданно низкие значения для Cu, V, Mn и др., тогда как нормативы для Cd, As, Pb и Al завышены. Не совпадают ПДК и по ряду токсичных органических соединений. ПДК не учитывают природные условия водного объекта, в водах которых действуют загрязняющие вещества. Известно, что токсичные свойства элементов зависят не только от их концентрации в воде, но от форм их нахождения, содержания кальция в воде, гумусовых кислот, рН, температуры, комбинаций с другими металлами [6]. ПДК не учитывают взаимодействие между элементами при комплексном загрязнении вод, в условиях которого токсичные свойства ряда элементов могут взаимно усиливаться или нивелироваться. Например, комбинация Zn, Cu и Cr для рыб во много раз токсичнее, чем каждый элемент в отдельности [7]. Приведенный анализ показывает значимость учета специфических физико-химических характеристик природных вод при нормиро-

вании содержания загрязняющих веществ. В России на большой территории (от Арктики до Аридной зоны) для всех типов вод используются одни и те же значения ПДК. Поэтому система ограничений загрязнения водоемов, основывающаяся на ПДК, не дает научной основы для объективной оценки качества вод и экологического состояния водоема. Более адекватную оценку качества вод как среды обитания дают биологические методы оценки качества вод.

Методические основы биотестирования качества вод. Биотестирование направлено на оценку потенциальной опасности поступающих в водоем загрязняющих веществ (или конкретных стоков, загрязненных вод) по данным экспериментальных лабораторных определений (*ex situ*). Этот метод позволяет выявить летальные и сублетальные концентрации потенциальных загрязняющих веществ, а также сточных вод производств или загрязненных вод из водоемов для живых организмов (тест-объектов) в лабораторных условиях.

В основе метода — экспериментальное установление концентраций загрязняющих веществ, которые вызывают наиболее значимые и легко определяемые нарушения у водных организмов — смертность, выживаемость, физиологические или патологические нарушения. Пороговое значение, вызывающее видимые отклонения от нормы у наиболее чувствительной группы организмов, принимается как ПДК опасного вещества [8], [9], [10]. В качестве биотестов используются организмы различных систематических групп: бактерии, водоросли, беспозвоночные, рыбы. Основная масса токсикологических исследований выполняется на уровне организмов. Эти опыты позволяют изучить воздействие отдельных токсичных веществ (или сточных вод) на гидробионтов различных систематических групп.

Бактерии включаются в минерализацию органического вещества и круговорот биогенных элементов. Они имеют короткий цикл жизни и быстро реагируют на изменения окружающей среды, что позволяет быстро выявить токсичные свойства веществ. В качестве критериев используют показатели ингибирования роста и дыхания микроорганизмов, энзимной активности и др. Для биоиндикации наиболее часто используются бактерии родов *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Tiobacillus*, *Citrobacter*. Токсичность тяжелых металлов или других сточных вод часто устанавливают по нитрификационной способности *Nitrobacter* и по люминесценции *Photobacterium phosphoreum*. Для установления мутагенных свойств используются биотесты на *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli* [9], [11], [12]

Водоросли широко используют в биотестировании качества вод. Это наиболее простой и легкодоступный тест. Наиболее часто используемые виды — *Selenastrum capricornutum*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus acutus*, *Anabaena flosaquae*, *Skelotonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*. Техника проведения биотестирования на водорослях отражена в [9], [10], [11], [13]. Регистрируют два наиболее распространенных параметра — число клеток и первичную продукцию в экспозиции с токсичным веществом и в контроле. Часто используют другие параметры, такие как морфология клеток, изменения их ультраструктуры, процессы фиксации азота и др.

Беспозвоночные также удобны в биотестировании. Они быстро адаптируются к лабораторным условиям и чувствительны к токсичным веществам. *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia affinis*, *C. reticulata*, *Gammarus fasciatus*, *Hyalella azteca*, *Pontoporeia affinis*, *Chironomus tentans*, *Orconectis nais*, *Crassostrea virginica* — распространенные тест-объекты для определения как острой, так и хронической токсичности вод. Для работы с дафниями применяют 24-часовой острый и 21-дневный хронический тесты, учитывают смерт-

ность и рассчитывают концентрацию вещества, вызывающую 50%-ную гибель особей (LC_{50}). В более продолжительных экспериментах определяют снижение воспроизводства организмов. В последние годы на беспозвоночных исследуются физиологические, морфологические и генетические последствия хронического воздействия токсикантов [9], [10], [11], [13].

Рыбы используются в тех случаях, когда необходимо понимание механизмов действия токсикантов. Для биотестирования среди пресноводных видов используются радужная форель (*Parasalmo mykiss*), золотая рыбка (*Carassius auratus*), карп (*Cyprinus carpio*), гуппи (*Poecilia reticulata*), черный толстоголов (*Pimephales promelas*). Для повышения чувствительности тест-объектов целесообразно использовать ранние стадии развития рыб — эмбрионов и личинок. Однако наиболее значимый результат может быть получен на молоди сиговых рыб [14], в отличие от более токсикорезистентных карповых — *C. auratus* и *C. carpio*. В остром эксперименте определяют летальную и полумлетальную концентрацию конкретных загрязняющих веществ. В хроническом эксперименте возможно выявление физиологических, биохимических, генетических и морфологических изменений у рыб под влиянием тех или иных токсичных веществ. Наиболее распространенными тестами являются такие показатели, как потребление кислорода, ритм сердцебиения, поведение, выживаемость, а также в длительных экспериментах — рост, созревание и успешность воспроизводства [9], [11], [15], [16]. Гистологический анализ и цитометрия кардиомиоцитов сердечной мышцы, клеток почек, нейронов головного и спинного мозга, эпителиоцитов кишечника, ооцитов и сперматоцитов в развивающихся гонадах предоставляет возможность количественной оценки протекающих изменений под влиянием интоксикации [17].

Niimi (1990) [18] предложено использовать более 13 биохимических тестов для выявления токсичных эффектов и стресса у рыб, например, ингибирование ряда ферментов и энзимов — оксигеназы, дегидрогеназы, холинэстеразы и др. Детальное описание протокола проведения и стандартизации условий постановки экспериментов на рыбах по биотестированию токсикантов приводится в [16].

К достоинствам биотестирования можно отнести сравнительно быстрое получение информации о токсичности отдельных веществ или сточных вод производств в целом. Информация, полученная на основе биотестирования и отраженная в нормативах ПДК, позволяет определить относительный вклад различных веществ в формирование экотоксикологической ситуации в водоеме. Однако неясно, насколько правомерен перенос полученных результатов экспериментов в лабораторных условиях на природные объекты. Поведение загрязняющих веществ в природных водоемах и их токсикологические свойства могут значительно отличаться от их действия в аквариумах; могут проявляться комбинированные, как синергетические, так и антагонистические эффекты. В лабораторных условиях сложно определить поступление ядов по пищевым цепям и их кумулятивные эффекты. К тому же отдельные организмы, используемые в эксперименте, имеют мало общего с природными популяциями и сообществами

Опыт использования биотестов для оценки загрязнения водоемов Западной Сибири. Для оценки качества загрязненных вод в регионе использовали различные модельные тест-объекты: водоросли, макрофиты, дафний, моллюсков и млекопитающих. Ответные реакции объектов оценивали по изменению численности особей, их жизнеспособности, плодовитости, изменению морфологических и физиолого-биохимических показателей [19].

В частности, с помощью модельных тест-объектов оценивали степень загрязненности воды в р. Ишим.

Растения. В качестве объекта для исследования были выбраны зеленые водоросли *Chlorella vulgaris* (ФР.1.39.2001.00284) [20]. Верховье р. Ишим, приуроченное к северным территориям Казахстана, зарегулировано рядом водохранилищ, на его водосборе расположены промышленные производства, загрязнения от которых поступают в русло реки и с речным стоком переносятся на территорию Тюменской области. Основными загрязняющими веществами являются нефтепродукты, фенолы и пестициды. На границе Казахстана с Тюменской областью отмечается повышенная концентрация нефтепродуктов (до 11 ПДК), фенолов (до 6 ПДК). В пределах Тюменской области загрязнение воды нарастает. Следует отметить, что р. Ишим является единственным транзитным водосток в юго-восточной аридной части области и источником хозяйственно-питьевого водоснабжения г. Ишим и 24 сел Ишимского, Абатского и Казанского районов [21].

В ходе эксперимента в качестве контроля использовали отстоянную питьевую воду, в некоторых вариантах использовали воду из створа р. Ишим в месте водозабора, воду из створа реки в 500 м выше места сброса сточных вод, воду из створа реки в месте сброса сточных вод, воду из створа реки в 500 м ниже места сброса сточных вод. Использовали разведение 1:1 и 1:4 для каждого варианта исследования. Отбор проб воды производился согласно ГОСТ Р 51592-2000 [22]. Эксперимент с *Ch. vulgaris* был поставлен в лабораторных условиях в течение 20 дней. Водоросли культивировали на жидкой питательной среде Прата. Общее количество клеток водорослей подсчитывали в камере Горяева.

В ходе проведенных экспериментов было показано, что снижается коэффициент прироста численности клеток хлореллы к 14 дню содержания в воде, взятой в месте сброса сточных вод и в воде в 500 м после сброса сточных вод. На основе анализа показателей жизнедеятельности водорослей определили классы качества вод по методике С.А. Окиюк [23]. Было установлено, что на протяжении всего эксперимента качество воды из створа реки в месте водозабора не изменилось. Вода относится к 1 классу качества и является чистой. Вода из реки в месте сброса сточных вод, а также вода из створа реки в 500 м выше сброса сточных вод и ниже сброса стоков относится к 3 классу качества вод (загрязненная вода).

В другом исследовании тестировали воду р. Пяку-Пур с использованием растений. Исследования проводили в районе пересечения этой реки нефтепроводом «НПС Суторминская — НПС Холмогоры». В месте отбора проб и выше по течению нет крупных населенных пунктов. На качество воды в р. Пяку-Пур оказывают влияние поверхностные стоки из мест нефтедобычи. Химический анализ воды показал превышение в ней ПДК по нефтепродуктам в 3-5 раз, по железу — в 300-320 раз, марганцу в 23-24 раза, фенолам — в 3 раза.

Вода была взята на расстоянии 500 м до нефтепровода, вверх по течению, в месте пересечения реки нефтепроводом, на расстоянии 500 м после нефтепровода, вниз по течению. В качестве тест-объектов использовали следующие растения: элодею (*Elodea canadensis*), традесканцию белоцветковую (*Tradescantia albiflora*), семена овсяницы луговой (*Festuca pratensis*), а также растение из природной среды — осоку береговую (*Carex riparia*). Все растения элодеи подбирали одного размера. Черенки элодеи брали длиной 5 см с верхушечной точкой роста, без корней и без боковых побегов. В ходе эксперимента у элодеи регистрировали следующие морфометрические показатели: длину главного побега; количество корней; длину корней; длину боковых побегов; количество боковых побегов. В ходе эксперимента у традесканции регистриро-

вали следующие морфометрические показатели: длину черенка; количество корней; длину корней; количество междоузлий; длину междоузлий. У семян овсяницы при проращивании в пробах тестируемой воды анализировали энергию прорастания, лабораторную всхожесть, выживаемость проростков, количество аномалий проростков. У осоки береговой, собранной в прибрежной зоне (на расстоянии не более 10 м от воды) регистрировали следующие морфометрические показатели: длину листьев; количество корней; длину корней. У всех проанализированных растений определяли содержание пигментов фотосинтеза в спиртовой вытяжке на спектрофотокалориметре «Sresol».

У элодеи, традесканции и овсяницы луговой, выращенных в пробах воды из реки до пересечения ее с нефтепроводом, увеличивается длина главного побега и общая концентрация пигментов фотосинтеза. При действии воды, взятой в месте пересечения реки нефтепроводом, увеличивается количество корней у элодеи, длина черенка у традесканции длина проростков овсяницы луговой, а также возрастает общая концентрация пигментов фотосинтеза у элодеи и традесканции. У элодеи и традесканции при выращивании в воде после нефтепровода увеличивается длина главного побега и концентрация всех пигментов фотосинтеза. В экспериментах на растениях показано, что токсичность речной воды увеличивается вниз по течению реки, от точки забора проб до нефтепровода, до точки забора проб после нефтепровода. У осоки речной, взятой из поймы р. Пяку-Пур, выявлено аналогичное снижение ряда морфофизиологических показателей, что связано с ростом степени загрязнения воды в реке после прохождения нефтепровода. Проведенный анализ в тестах на растениях указывает на загрязнение воды из р. Пяку-Пур.

Нами проведены исследования (табл. 1) на водных растениях (ряска малая — *Lemna minor*), прибрежной растительности (Осока прибрежная — *Carex riparia*, Ситник расходящийся — *Juncus effusus*, кипрей узколистный — *Epilobium angustifolium*) из районов протекания рек севера Тюменской области, р. Туры в г. Тюмени, ряда озер области. У растений исследовали размеры листочков у ряски и высоту растений, суммарную концентрацию пигментов фотосинтеза, количество мертвых клеток (при окрашивании раствором метиленовой сини). У ряски в корешках изучали частоту хромосомных нарушений, окрашивая препараты 2%-ным ацетоорсеином.

Таблица 1

Морфофизиологические показатели растений при действии проб воды из рек и озер Тюменской области

Показатели	Контроль	р. Тура после г. Тюмени	р. Малая Сосьва	р. Аган	оз. Калтыто
Содержание нефтепродуктов (мг/л)	0,00	5,71	12,33	9,27	10,85
Ряска малая (<i>Lemna minor</i>)					
Размер листочков (мм)	3,9±0,01	3,0±0,02*	2,5±0,01*	2,9±0,04*	2,7±0,02*
Суммарная концентрация пигментов фотосинтеза (мг/100 г)	12,4±0,05	8,7±0,08*	5,9±0,07*	6,9±0,08*	6,0±0,06*

Окончание табл. 1

Кол-во мертвых клеток (шт.)	0,5±0,05	6,8±0,12*	9,7±0,20*	7,6±0,17*	8,4±0,19*
Частота хромосомных перестроек	3,0±0,67	5,9±0,72*	7,8±0,80*	6,3±0,82*	7,5±0,59*
Осока речная					
Высота растений (см)	52,3±2,34	50,5±2,11	41,3±3,12*	45,0±3,45*	40,9±3,56*
Суммарная концентрация пигментов фотосинтеза (мг/100 г)	69,8±1,32	66,7±2,35	46,0±1,49*	50,2±2,78*	45,9±3,61*
Кол-во мертвых клеток (шт.)	1,1±0,36	4,5±0,47*	6,9±0,62*	5,8±0,82*	6,4±0,55*
Ситник обыкновенный					
Высота растений (см)	36,8±3,12	32,7±2,73	23,6±3,41*	21,5±2,84*	22,8±3,06*
Суммарная концентрация пигментов фотосинтеза (мг/100 г)	108,7±1,31	90,5±1,11*	74,6±1,28*	82,3±1,37*	77,9±2,07*
Кол-во мертвых клеток (шт.)	1,5±0,20	3,5±0,31*	7,6±0,45*	5,2±0,44*	6,0±0,38*
Кипрей узколистный					
Высота растений	138,6±3,45	125,4±2,44*	95,7±1,68*	112,6±2,64*	113,0±3,41*
Суммарная концентрация пигментов фотосинтеза (мг/100 г)	98,7±1,56	79,8±1,49*	66,2±2,33*	70,8±2,18*	67,4±2,39*
Кол-во мертвых клеток (шт.)	0,7±0,12	4,7±0,36*	7,9±0,49*	5,8±0,41*	6,3±0,40*

В условиях загрязнения нефтепродуктами у фитоиндикаторных видов происходило уменьшение показателей роста и функционирования. Выявлено мутагенное влияние загрязненных проб воды на растения. Следует отметить, что ситник и осока проявляли меньшую чувствительность к действию загрязняющих веществ в воде по сравнению с ряской и кипреем (табл. 1).

Полученные в ходе проведенных исследований результаты свидетельствуют о том, что прибрежная и водная растительность может быть успешно использована для биотестирования водных источников разного типа (рек, озер и т.д.).

Беспозвоночные животные. Наряду с растениями в качестве удобных модельных биотестов использовали животных, в частности беспозвоночных. В качестве тест-объектов выбрали дафний (*Daphnia magna* Straus) и моллюсков (*Planorbis planorbis*). Для анализа использовали воду из р. Ук, протекающей по югу области и являющейся притоком р. Тобол. Длина реки 43,5 км, площадь водосбора — 997 км². Основными источниками загрязнения являются хозяйственно-бытовые воды, смыв с сельскохозяйственных полей и сточные

воды спиртового завода. Количество NH_4 равно 1,6-2,7 ПДК, содержание фенолов по данным стационарных наблюдений составляет в среднем 1-74 ПДК (Ук), пестицидов-38,5 (ДДТ), 13 (α -ГХПЦ) ПДК (Ук). Максимальное загрязнение фенолами составило 480 ПДК, пестицидами — 10 ПДК. Пробы воды брали до места сброса сточных вод спиртзавода, после места сброса и в устье реки перед впадением в Тобол.

Было показано снижение выживаемости и плодовитости дафний в воде после сброса сточных вод спиртзавода и в особенности — в устье р. Ук. У моллюсков снижалась потенциальная и реальная плодовитость, двигательная активность животных, а количество потребляемого корма увеличивалось. Наиболее выраженные отклонения в жизнедеятельности моллюсков выявлены в воде из устья реки. Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности используемых животных к загрязняющим веществам, поступающим в реку со сточными водами спиртзавода и накоплении и медленной деградации этих веществ, а также поступлении загрязняющих веществ от прибрежных населенных пунктов.

Моллюсков использовали и при тестировании воды из р. Пяку-Пур. В ходе эксперимента у моллюсков регистрировали следующие показатели: выживаемость, потенциальную и реальную плодовитость, размеры раковины и вес животных, двигательную активность, количество потребляемой пищи. Исследования проводились в течение 30 суток.

Вода, взятая из реки в анализируемых точках, проявляла токсический эффект, изменяя ряд морфофизиологических показателей моллюсков: снижала потенциальную плодовитость, увеличивала количество потребляемой пищи, сначала увеличивала, а потом снижала двигательную активность животных. Степень выраженности токсического эффекта возрастает после пересечения реки нефтепроводом. Токсичность воды за 2 года исследований увеличилась, что связано с регулярным взмучиванием грунта при профилактических осмотрах обшивки подводного нефтепровода, а также, возможно, постепенным вымыванием токсических веществ из медленно деградирующей обшивки труб.

Позвоночные животные. В плане дальнейшей проработки этой проблемы: в целях изучения влияния из комплекса загрязняющих веществ именно сырой нефти на мелких млекопитающих в лабораторных условиях был проведен эксперимент, в ходе которого в пищевой рацион подопытной группы животных (беспородных белых мышей и беспородных белых крыс) систематически: через двое суток на третьи — добавлялась сырая нефть в весовом соотношении 1:0,01 (слабая концентрация нефти — около 1%), в питьевой воде создавалась концентрация нефти 0,001%. В качестве добавок в диете белых мышей в течение двух месяцев использовали нефть Южно-Балыкского месторождения (легкая, маловязкая, сернистая, парафиновая). В диету опытных белых крыс входила сырая нефть Северо-Хохряковского месторождения (маловязкая, малосернистая, парафиновая, с небольшим содержанием ароматических и наиболее токсичных моноциклических углеводородов) [24]. По завершении опытов все животные были забиты и подвергнуты детальному морфофизиологическому, гистологическому и цитогенетическому обследованию по общепринятым методикам [25], [26], [27].

В контрольной группе отмечены 3 генерации молодых особей. Среди забитых зверьков в конце эксперимента 50% контрольных самок были беременны. В группе, получавшей в пищевом рационе нефть, репродуктивные процессы полностью отсутствовали. Гибель животных в контрольной группе (без учета родившихся в ходе эксперимента) составила всего 13,3, в подопытной — 37,5%.

Отмечены и существенные отличия в поведении животных, получающих нефть, по сравнению с контрольными: они характеризовались меньшей подвижностью, вялостью; как правило, слабее контактировали с другими особями, не делали по-

пыток скрыться от наблюдателя. Если в контроле зверьки при воздействии низких температур собирались в одно гнездо, то экспериментальные животные такой реакции не проявляли — находились по одной, реже по две особи в гнезде.

Даже при внешнем осмотре экспериментальных зверьков были отмечены существенные морфологические отличия их от зверьков контрольной группы. Шерстный покров стал более редким: сквозь него просматривалась кожа, остевые волосы частично слипались, общий тон окраски стал более темным, несмотря на то, что животные постоянно чистили шерсть. У половины зверьков по всему телу образовались опухоли и язвы диаметром до 10 мм, у 30% зверьков отмечен некроз тканей кончика хвоста.

При сравнении морфофизиологических показателей белых мышей, получавших в пищевом рационе сырую нефть (время экспозиции 2 месяца), и контрольных отмечены достоверные различия по большинству рассматриваемых признаков. Имеет место увеличение индексов сердца, печени, почки, селезенки, тенденция к увеличению индекса надпочечника, достоверное снижение количества гемоглобина в крови у экспериментальных животных по сравнению с контрольными. Отдельные животные страдали от изъязвления кишечного эпителия. При этом необходимо отметить, что самки продемонстрировали большую чувствительность к нефти, чем самцы.

Гистологическое исследование печени белых мышей показало, что у 20% подопытных животных наблюдаются цирротические изменения в тканях печени, в некоторых случаях на печени отмечены язвы и участки с нетипичной окраской зеленого цвета. При микроскопическом изучении были обнаружены изменения как в объеме ядер, так и в размерах гепатоцитов. Сходные результаты были получены и для белых крыс после месячной диеты с добавлением сырой нефти, что свидетельствует об увеличении функциональной активности гепатоцитов. Об этом же может говорить и увеличение индекса печени в опыте, так как индукция микросомальных монооксидаз часто сопровождается образованием новых гладких мембран эндоплазматического ретикулума и увеличением массы печени.

Кормление белых крыс пищей, слабо загрязненной нефтью, вызывало увеличение массы почки в 1,8 раза, при этом увеличивались площади сечений проксимальных (в 1,67 раза) и дистальных (в 1,7 раза) канальцев нефрона. Просвет почечного тельца у опытных зверьков становился малоразличимым из-за переполнения петель капилляров форменными элементами крови. В прямых отделах нефрона наблюдалось набухание клеток. Просвет канальцев был плохо виден из-за размытой щеточной каемки. Ядра клеток увеличивались. Все это может свидетельствовать о неспецифической реакции органа на увеличение функциональной нагрузки на него при отсутствии признаков острого токсического воздействия.

Отмечено достоверное увеличение массы надпочечников экспериментальных белых крыс по сравнению с контролем. В наших экспериментах происходило изменение таких морфометрических показателей, как площадь сечения ядер, ширина зон надпочечника, доля расширенных капилляров, ядерно-плазматическое отношение и митотический индекс, косвенно свидетельствующих об активизации функций надпочечника и роли его гормонов в адаптации организма к условиям стресса.

Нефтяное загрязнение пищи даже в течение 30 дней вызывает у белых крыс существенные изменения морфологии лимфатических фолликулов селезенки: отмечено достоверное снижение содержания лимфоидных клеток на тестовую поверхность во всех исследуемых зонах белой пульпы. В периартериальной тимусзависимой зоне количество лимфоидных клеток на 21,3% ниже, чем в контроле, в тимуснезависимой мантийной они составили 62,9%, в маргинальной зоне опустошение достигло 18,2% по сравнению с контролем. Опустошение лим-

фатических фолликулов происходит за счет усиленной миграции Т- и В-лимфоцитов, осуществляющих роль «срочной помощи» в поддержании тканевого гомеостаза и в элиминации поврежденных или перерожденных клеток. Эти клетки играют существенную роль в регенерации тканей. Речь идет о трофической и пластической стимуляциях регенерирующих паренхиматозных клеток, о передаче им лимфоцитами дополнительного или необходимого пластического материала в виде нуклеиновых кислот и белков в условиях стресса.

В ходе эксперимента у крыс и мышей наблюдали нарушения процессов кроветворения. Полученные результаты демонстрируют наличие активной реакции системы эритрона костного мозга на нефтяное загрязнение, свидетельствуют об ингибирующем влиянии нефти на пролиферирующие кроветворные клетки, о повышении реактивности последних стадий кроветворения, о быстром переходе клеток последней генерации миелокариоцитов (оксифильных нормобластов) в ретикулоцитарный ряд.

Как у контрольных, так и у подопытных белых мышей отмечено неравномерное распределение Гомори-положительного нейросекреторного материала по заднему нейрогипофизу с концентрацией его вокруг капилляров. Однако у подопытных животных эта концентрация выражена более отчетливо, и содержание нейросекреторного материала в заднем нейрогипофизе ниже (2 балла по 5-балльной шкале), чем в контроле (4 балла). Все это позволяет предположить, что в процессе адаптации организма к условиям продолжительного нефтяного загрязнения слабой степени гипоталамические нонапептиды, выделяющиеся из заднего нейрогипофиза в общий кровоток, играют значительную роль.

Особый интерес представляют данные о генотоксическом действии сырой нефти, изучение которого проводили с помощью пикнотического теста: учитывали все типы дегенерации ядра, связанные с отставанием хроматиновой сети или отдельных ее составляющих от ядерной оболочки и слипанием ее в гомогенную массу. В наших экспериментах использовался пикнотический индекс клеток кишечного эпителия и печени беспородных белых крыс. В обоих случаях отмечено достоверное увеличение количества пикноморфных клеток и их доли у животных, получавших в рационе сырую нефть на протяжении одного месяца. При этом самки демонстрируют большую чувствительность к нефтяному загрязнению, чем самцы, как и в случае с морфофизиологическими показателями беспородных белых мышей, получавших нефть в диете в течение двух месяцев.

Понятным является и снижение при нефтяной диете коэффициента вариации пикнотического индекса клеток печени белых мышей, наименьшего у самок, несущих наибольшую физиологическую и функциональную нагрузку, при тенденции к повышению его в клетках кишечного эпителия, играющего роль своеобразного «расходного материала».

Сравнивая эффект, вызванный экспериментальным воздействием сырой нефти на организм животных в лабораторных условиях, и данные исследований влияния нефтяного загрязнения на морфофизиологические особенности мелких млекопитающих в природных биогеоценозах Среднего Приобья (см. ч. 1 настоящей статьи в настоящем журнале), можно констатировать однотипность реакций, имеющих место в том и другом случае.

Проведенные исследования позволяют констатировать, что именно сырая нефть вызывает неспецифическую реакцию организма мелких млекопитающих на загрязнение, являющееся стрессовым фактором для животных. Отмечается повышение интенсивности метаболизма, напряженности энергетического обмена, нарушения процессов кроветворения, усиление миграции лимфоцитов в кровоток, увеличение доли пикноморфных клеток в различных тканях, свидетельствующие

о прямом токсическом действии нефти и общем нарастании стрессовости ситуации, об адаптации организма (специфично протекающие у разных видов млекопитающих и у разных половозрастных групп одного вида), в которой активное участие принимает и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система.

Таким образом, исследования с применением методов биотестирования позволили оценить влияние на растения и животных разных таксономических групп как воды из природных источников с комплексным антропогенным загрязнением, так и отдельных поллютантов (например, сырой нефти), наиболее характерных в регионе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственный доклад о состоянии окружающей среды Российской Федерации в 2002 г. М.: Министерство природных ресурсов. 2003. 479 с.
2. Перечень рыбохозяйственных нормативов предельно-допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: Изд-во ВНИРО, 1999. 304 с.
3. Bioassay methods for aquatic organisms / Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (sixteenth edition). Washington: American Public Health Association, 1985.
4. Canadian Water Quality Guidelines. Ottawa, Ontario: Published by Canadian Council Ministry of Environment. 1994. 76 p.
5. Environmental Quality Objectives for Hazardous Substances in Aquatic Enviroment. Berlin: UMWELTBUNDESAMT, 2001. 186 p.
6. Моисеенко Т.И., Гашкина Н.А. Распределение микроэлементов в поверхностных водах суши и особенности их водной миграции // Водные ресурсы. 2007. № 4. Т. 34. С. 454-468.
7. McGeer, J.C., Szebedinszky, C., McDonald, D.G., Wood, C.M. The role of dissolved organic carbon in moderating the bioavailability and toxicity of Cu to rainbow trout during chronic waterbourne exposure // Comparative Biochemistry and Physiology. Part C. 2002. V. 133. P. 147-160.
8. Лесников Л.А. Система исследований для разработки рыбохозяйственных нормативов качества вод с учетом особенностей перенесения экспериментальных данных на природные водоемы / Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л. 1979. С. 301-309.
9. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение / Под ред. О.Ф. Филенко. М.: Изд-во ВНИРО, 1998.
10. Wong, P.T.S., Dixon, D.G. Bioassessment of Water Quality // Environ. Toxicol. and Water Quality. 1995. V. 10. P. 9-17
11. Bioassay methods for aquatic organisms / Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (sixteenth edition). Washington: American Public Health Association. 1985.
12. Bitton, G., Dutku, B.J. Review of microbial and biochemical toxicity screening procedures. 1989. 208 p.
13. Филенко О.Ф., Дмитриева А.Г., Исаева Е.Ф., Ипатова В.И., Прохоцкая В.Ю., Самойлова Т.А., Черномырдина А.В. Механизм реагирования водных организмов на воздействие токсичных веществ / Антропогенное влияние на водные экосистемы. М.: Изд-во МГУ, 2005. С. 70-93.
14. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н. Протекторное действие слабых импульсных магнитных полей в раннем онтогенезе тугуна *Coregonus tugin* (Pallas) в условиях хронического нефтяного загрязнения // Экология. 2006. № 5. С. 365-371.
15. Лукьяненко В.И. 1987. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая пром-ть. 320 с.
16. Chronic Toxicity Test Standard Using Daphnids in Renewal and Flowthrough System. Office of Testing and Evaluation and Office of Pesticides Toxic Substances. Washington: Environmental Protection Agency, 1980. 351 p.

17. Селюков А.Г., Солодилов А.И., Елькин В.П. Слабые взаимодействия и регомеостаз живых систем (прикладной аспект): монография. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2008. 192 с.
18. Niimi, A.J. Review of biochemical methods and other indicators to assess fish health in aquatic ecosystems containing toxic chemicals // J. Great Lakes Res. 1990. № 16. Pp. 529-541.
19. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.5-2000. Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. М., 2000. 36 с.
20. ФР.1.39.2001.00284 Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. М.: Акварос, 2001. 38 с.
21. Елизаров И.М. Качественная характеристика рек юга Тюменской области / 2-й Науч.-практ. семинар «Чистая вода». Тюмень, 1997. С. 7.
22. ГОСТ Р 51592-2000 Вода. Общие требования к отбору проб. 2000. 30 с.
23. Окиюк С.А. Качество поверхностных вод // Гидробиологический журнал. 1993. № 4. С. 62-75.
24. Гашев С.Н., Елифанов А.В., Соловьев В.С., Гашева Н.А. Влияние сырой нефти на морфофункциональное состояние организма беспородных белых мышей и крыс // Бюллетень МОИП. 1994. Т. 99. Вып. 6. С. 23-29.
25. Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск, 1968. 387 с.
26. Кононский А.И. Гистохимия. Киев, 1976.
27. Дарлингтон С.Д., Ла Кур Л.Ф. Хромосомы: Методы работы. М., 1980. 183 с.

Татьяна Ивановна МОИСЕЕНКО —
зав. отделом биогеохимии и экологии,
Института геохимии и аналитической химии
им. И.В. Вернадского РАН (г. Москва),
зав. лабораторией качества вод, устойчивости
водных экосистем и экотоксикологии
Тюменского государственного университета,
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН
moiseenko@geokhi.ru

Андрей Николаевич ШАРОВ —
ст. научный сотрудник лаборатории
эволюционной биогеохимии и геоэкологии,
Института геохимии и аналитической химии
им. И.В. Вернадского РАН (г. Москва),
кандидат биологических наук
sharov_an@mail.ru

УДК 574.52

ТРАНСФОРМАЦИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ БОЛЬШИХ ОЗЕР ПРИ ИЗМЕНЕНИИ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

TRANSFORMATIONS OF WATER ECOSYSTEMS OF THE LARGE LAKES UNDER ANTHROPOGENIC LOAD CHANGE

АННОТАЦИЯ. Основываясь на обобщении многолетних исследований крупных озер севера Европейской территории России (ЕТР): Ладожское, Онежское и Имандра, сделан ретроспективный анализ состояния сообществ экосистем; выявлены основные закономерности модификаций водных экосистем больших озер в условиях высоких антропогенных нагрузок и их снижения.