



УДК 574.5; 574.6

## Оценка качества вод некоторых рек г. Иркутска методами биологического контроля

О. А. Бархатова ([barhat@geogr.isu.ru](mailto:barhat@geogr.isu.ru))

М. Н. Саксонов ([msaksonov@mail.ru](mailto:msaksonov@mail.ru))

А. Э. Балаян ([7balla@mail.ru](mailto:7balla@mail.ru))

Д. О. Таран ([stomd@mail.ru](mailto:stomd@mail.ru))

**Аннотация.** Предложена и проведена апробация системы экспрессных приемов биологического анализа воды, включающая методы биотестирования по выживаемости дафний, инфузорий и изменению уровня флуоресценции хлорофилла клеток водорослей, а также метод обнаружения низких концентраций эмульсии нефтепродуктов, нефтяных углеводородов по поведенческой реакции дафний для оценки качества проб воды четырех рек, протекающих по территории г. Иркутска.

**Ключевые слова:** биотестирование, тест-система, качество воды, дафнии, инфузории, микроводоросли, выживаемость, поведенческая реакция, флуоресценция хлорофилла, хемотаксис.

### Введение

В настоящее время новые биологические подходы, в частности биотестирование, вводятся в практику мониторинга поверхностных вод суши. Биотестирование направлено на оценку суммарного токсического действия всего комплекса загрязняющих веществ, содержащихся в водной среде, с помощью тест-объектов.

Биотестирование предполагает использование в контролируемых (лабораторных) условиях биологических тест-объектов для выявления и оценки действия факторов окружающей среды (в том числе и токсических) на организм, его отдельную функцию или систему организмов [6; 11]. Ясно, что количественный химический анализ какой-либо примеси в воде сам по себе не дает ответа на главный вопрос о ее опасности для биоты. Именно поэтому в нашей стране и за рубежом сейчас ведутся активные поиски методов интегральной оценки качества водной среды, среди которых первостепенное значение приобретает биотестирование.

Задача биотестирования – установить наличие токсичности (острого или хронического токсического действия). Идентификация природы загрязняющих веществ не является задачей биотестирования, однако последнее позволяет получить оценку реальных токсических свойств воды.

Основой биотестирования является выбор чувствительных тест-организмов, удобных для лабораторного культивирования. Для биотестирования используют лабораторные и выделенные из природных водных объектов культуры гидробионтов.

На настоящий момент базовым является понятие тест-объекта, под которым понимают чувствительный биологический элемент, способный реагировать на внешние воздействия, т. е. изменения параметров среды обитания. В данном ключе в качестве тест-объектов могут быть представлены любые уровни организации живого: ферментные системы, рецепторный аппарат, изолированные органеллы, клетки, ткани и отдельные органы многоклеточных организмов, целостные организмы (одно- и многоклеточные), одного или нескольких биологических видов.

Для выявления токсичности природной воды необходимо использовать не один, а несколько тест-организмов с различной чувствительностью, поскольку природная вода содержит комплекс различных загрязняющих веществ. То есть надежный контроль токсичности загрязненности природных вод можно обеспечить, используя систему биотестов. Существует два подхода к набору тест-организмов [6]: 1) система биотестирования должна содержать широкий набор организмов, представляющих все трофические уровни водной экосистемы; 2) набор методик должен быть минимальным, тест-организмы должны быть простыми, удобными в работе и достаточно чувствительны к контролируемому загрязняющему веществу. Универсальный набор методик биотестирования, рассчитанный на оценку интегральной токсичности, обусловленной присутствием в воде всех загрязняющих веществ, теоретически невозможно разработать. С введением каждого дополнительного тест-объекта надежность схемы испытаний повышается, однако, бесконечное расширение ассортимента обязательных объектов невозможно. В связи с этим для каждого предлагаемого метода должно быть определено строгое целевое назначение, обозначена область применения и очевидные преимущества перед рекомендованными ранее [10]. По данным о сравнительной чувствительности не только различных тест-систем, но и о чувствительности тест-показателей одного и того же тест-объекта можно составить оптимальный набор методик для биотестирования природной воды на конкретном участке водного объекта в случае, если известны источники загрязнения или приоритетные загрязняющие вещества.

Целью настоящей работы было определение токсичности воды рек, протекающих по территории г. Иркутска, с использованием ряда методов биотестирования воды и сравнение чувствительности этих методов.

### **Объекты, тест-объекты и методы исследования**

В качестве исследуемых объектов были выбраны реки: Ушаковка, Иркут, Кая, Ручей.

*Река Ушаковка.* Бассейн реки расположен на Иркутско-Черемховской равнине. Кроме г. Иркутска, на Ушаковке (от истока к устью) находятся

посёлки Горячие Ключи, Добролёт, Поливаниха, Кукша, Худяково, Пивовариха, много садоводств. В Иркутске на берегах реки располагаются предприятия (ОАО «Иркутский завод тяжёлого машиностроения», фабрика «Узоры»), рынки («Фортуна», «Ушаковский»), садоводческие объединения и сельскохозяйственные угодья. В контрольном створе по данным Иркутского управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (ИУГМС), вода Ушаковки относится к 3-му классу, разряд «а», загрязнённая.

**Река Иркут.** Река в Бурятии и Иркутской области, левый приток Ангары. Основными источниками загрязнения р. Иркут являются сточные воды ОАО «Иркутскмебель» и ее притоки Олха и Кая. Качество воды, по данным ИУГМС, в контрольном створе р. Иркут соответствует 3-му классу, разряд «а», загрязнённая.

**Река Кая.** Небольшая река в Иркутской области с широкой заболоченной поймой, правый приток Иркуты. Берёт начало в Олхинском плато, протекает через пос. Маркова и впадает в Иркут на территории Иркутска. Неподальку от устья реки расположена крупная железнодорожная станция ВСЖД – Кая. Река Кая загрязнена сточными водами сельскохозяйственных предприятий, садоводств, сбросами канализационных сооружений пос. Маркова, КНС-24, ОАО «Масложиркомбинат «Иркутский».

В настоящее время реку особенно сильно загрязняет канализационный коллектор пос. Маркова, очистные сооружения которого не работают с 1993 г. Сломанный коллектор расположен в нескольких метрах от берега реки и постоянно выбрасывает канализационные отходы посёлка в грунт, откуда они в свою очередь попадают в Каю. Вдоль берега расположено несколько зловонных небольших водоемов, которые заливают огороды местных жителей. За все годы, что не работает коллектор, в реку вливаются тонны фекалий, откуда они в свою очередь подаются в Иркут, а из него в Ангару – в самый центр Иркутска. Администрация Маркова уже несколько лет добивается того, чтобы ремонт коллектора вошёл в областную программу софинансирования. В водоеме производятся выбросы такого крупного предприятия, как ОАО «Масложиркомбинат «Иркутский», и других более мелких предприятий. В контрольном створе качество воды р. Каи по данным ИУГМС – «очень загрязнённая». Данный створ р. Каи, по результатам наблюдений 2010 г. включен в приоритетный список водных объектов, требующих первоочередного осуществления водоохранных мероприятий.

**Ручей.** Протекает в Свердловском районе г. Иркутска. Берет своё начало за пределами городской черты и проходит через спальные районы города между микрорайонами Первомайский и Университетский. Загрязнителями являются в основном канализационные и автотранспортные выбросы, что обуславливает токсичность данного водоёма.

В исследовании воды указанных рек были использованы в качестве тест-объектов и тест-функций:

- лабораторная культура *Daphnia magna* Straus (выживаемость, поведенческая реакция дафний в присутствии нефтепродуктов);

- лабораторная монокультура *Paramecium caudatum* Ehrenberg (выживаемость, реакция хемотаксиса);
- лабораторная культура зеленых протококковых водорослей *Scenedesmus quadricauda* (изменение уровня флуоресценции хлорофилла).

Методы биотестирования воды по выживаемости дафний, инфузорий и изменению уровня флуоресценции хлорофилла клеток водорослей применяются для государственного экологического контроля и входят в Федеральный реестр РФ [9, 10]. Включенный в набор метод, основанный на реакции хемотаксиса инфузорий, пока не нашел широкого применения в практике биотестирования. Способ обнаружения низких концентраций эмульсии нефтепродуктов, нефтяных углеводородов по поведенческой реакции дафний является авторским и защищен патентом [7; 8].

**Методика биотестирования по смертности дафний** основана на определении смертности дафний (*Daphnia magna* Straus) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль) [3]. Критерием острой токсичности служит гибель 50 % и более дафний за 96 ч в исследуемой воде при условии, что в контрольном эксперименте гибель не превышает 10 %. В краткосрочных экспериментах по определению острого токсического действия устанавливают: острую токсичность или вызывающую гибель 50 % и более тест-организмов.

**Методика биотестирования по выживаемости парameций** основана на определении смертности парameций (*Paramecium caudatum*) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контролем [5]. Острое токсическое действие исследуемой пробы на парameций определяют по их смертности (летальности) за определенный период экспозиции. Критерием острой токсичности служит гибель 50 % и более парameций за 24 часа в исследуемой пробе, при условии, что в контроле гибель не превышает 10 %. При определении острой токсичности устанавливают: среднюю летальную кратность разбавления пробы, вызывающую гибель 50 % тест-объектов за 24-часовую экспозицию.

**Методика биотестирования по изменению частоты сердцебиения дафний** основана на изменении сердцебиения дафний при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль) [2].

**Методика биотестирования по реакции хемотаксиса парameций** основана на установлении различий между количеством инфузорий в опытной пробе и контрольной пробе [1]. Оценка токсичности производится путем определения функциональной активности и счета простейших в динамике с помощью оптической техники. Для регистрации скорости перехода инфузорий из одной капли в другую в норме проводят наблюдения за парameциями в двух каплях (по 0,1 см<sup>3</sup>) контрольного раствора (питательная среда и кипяченая вода 1:1), соединенными перемычкой. В одну из

них помещают 10 инфузорий. Считают число переходов в течение часа. Затем на предметное стекло наносят одну контрольную (питательная среда + вода), вторую – опытную каплю (жидкая фаза опытной системы), которые соединяют тонкой перемычкой. В каплю опытного раствора помещают 10 инфузорий. Наблюдают за скоростью перехода парameций из опытного раствора в контрольный. Эксперимент проводят в трех повторностях. На 10, 20, 30, 45, 60-й мин фиксируют количество парameций в контроле и опыте. Нетоксичными являются пробы, в которых активность инфузорий не превысила 20 %, токсичными пробами являются те, в которых активность инфузорий составила от 20 до 50 %, и остротоксичными – превысила 50 %.

**Методика биотестирования по изменению уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей** основана на регистрации снижения уровня флуоресценции хлорофилла клеток водорослей под воздействием токсических веществ, присутствующих в тестируемой воде (опыт), по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль) [4]. Критерием острой токсичности является подавление уровня флуоресценции хлорофилла водорослей на 50 % и более по сравнению с контролем в течение 72-часовой экспозиции. В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливают: острую токсичность или ингибирующую кратность разбавления вод, вызывающую снижение уровня флуоресценции хлорофилла клеток водорослей на 50 % и более по сравнению с контролем за 72 ч экспозиции; безвредную кратность разбавления вод, вызывающую снижение уровня флуоресценции хлорофилла клеток водорослей не более чем на 20 % по сравнению с контролем за 72 ч экспозиции.

**Оценка токсичности анализируемых проб, основанная на регистрации реакции всплытия дафний.** Ранее нами было показано, что в присутствии эмульсий нефтепродуктов происходит всплытие дафний на поверхность воды. Причем эта реакция для некоторых нефтепродуктов на 4–7 порядков выше, чем выживаемость рачков [7]. По этой тест-реакции за критерий токсичности принимали всплытие дафний в поверхностный слой опытных сред. Наблюдения за их состоянием проводили непрерывно в течение первого часа воздействия токсикантов, через каждые 15 минут второго часа, затем ежечасно до конца наблюдений. Эффект регистрировали при соблюдении следующих условий: рачки всплывают в поверхностный слой опытных сред и находятся там на протяжении всего эксперимента, при легком прикосновении струей воды или покачивании стакана не опускаются в толщу инкубационных сред [8].

## **Результаты и обсуждение**

В начале экспериментов определяли рН воды из всех исследованных водотоков. Данный показатель изменялся незначительно и был благоприятен для жизни тест-объектов.

При оценке токсичности проб воды по выживаемости дафний при 96-часовой экспозиции было получено, что все исследуемые пробы не оказывали на рачков негативного действия. Выживаемость во всех вариантах опыта составляла 100 %. Следует отметить, что во всех пробах воды не наблюдали необратимого подъема рачков на границу раздела вода – воздух, что свидетельствовало об отсутствии в воде эмульсий нефтепродуктов.

Эксперименты по влиянию исследуемых проб на изменение частоты сердцебиения дафний показали, что пробы воды не оказывали заметного влияния на эту физиологическую реакцию. Отклонение от контроля составляло не более 20 %, т. е. пробы являлись не токсичными для данного тест-объекта.

При изучении токсичности проб воды по выживаемости парameций при 24 ч экспозиции получено, что данные пробы также не являются токсичными, в конце опыта фиксировали выживаемость 100 %.

Методики по хемотаксису инфузорий и изменению уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей оказались более чувствительными.

Результаты биотестирования по изменению хемотаксиса инфузорий (рис. 1 и 2) свидетельствуют, что все исследованные пробы показали большую токсичность в нижних створах во все сезоны. Токсичность вод, отобранных в осенний период, незначительно снизилась по сравнению с пробами, отобранными летом, а весенние пробы оказались токсичнее по сравнению с пробами, взятыми в другие сезоны. Наиболее токсичными оказались пробы воды рек Каи и Ручей.

Эксперименты по изменению флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых пробах показали следующее (рис. 3–6). Пробы воды всех исследованных рек в летний период в верхних створах, кроме Иркутка, обладали острой токсичностью. В пробах воды, отобранных в осенний период, токсичность существенно снизилась по сравнению с летними пробами. При разведении в 2 раза все пробы показали малую токсичность, кроме проб вод р. Ручей в летний сезон. В весенних пробах отмечалась повышенная токсичность по сравнению с другими сезонами.

Можно отметить, что эксперименты по изменению флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых весенних пробах показали, что почти все пробы воды рек как в верхних, так и в нижних створах обладали острой токсичностью (рис. 7). Токсичность воды спадала лишь при разбавлении в 4 раза, а в некоторых случаях и в 10 раз. Наибольшая токсичность фиксировалась на реках Кае и Ушаковке.

При сравнении двух используемых методов биотестирования можно отметить более высокую чувствительность флуоресцентного метода. Особенно это заметно при рассмотрении результатов биотестирования проб воды, взятых в верхних створах рек (см. рис. 1 и 3). Несомненными достоинствами метода, основанного на реакции хемотаксиса парameций, являются экспрессность и простота.

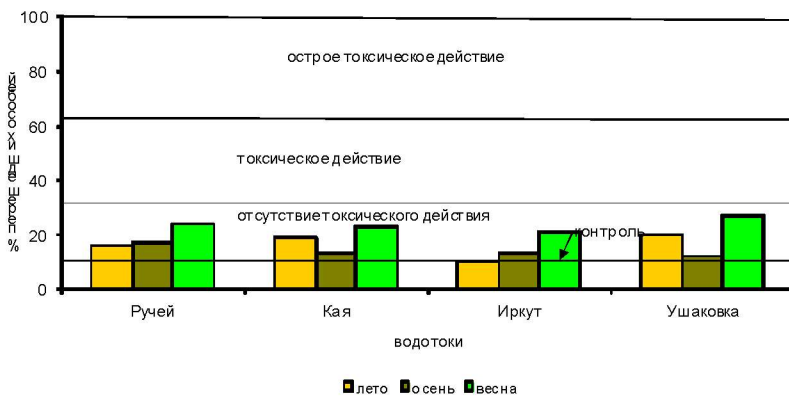


Рис. 1. Реакция хемотаксиса инфузорий в исследуемых пробах воды (верхние створы)

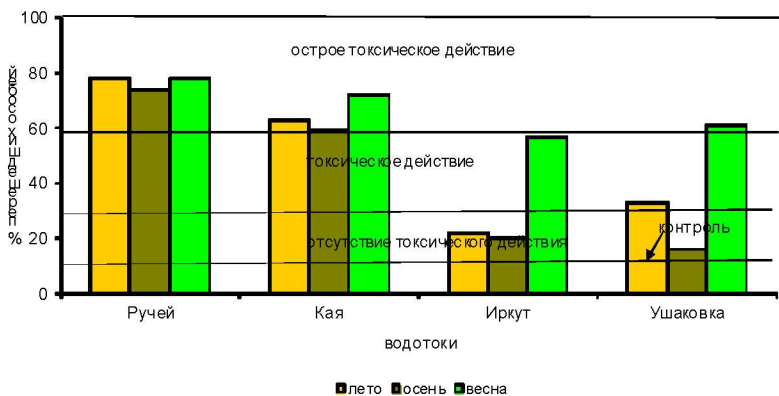


Рис. 2. Реакция хемотаксиса инфузорий в исследуемых пробах воды (нижние створы)

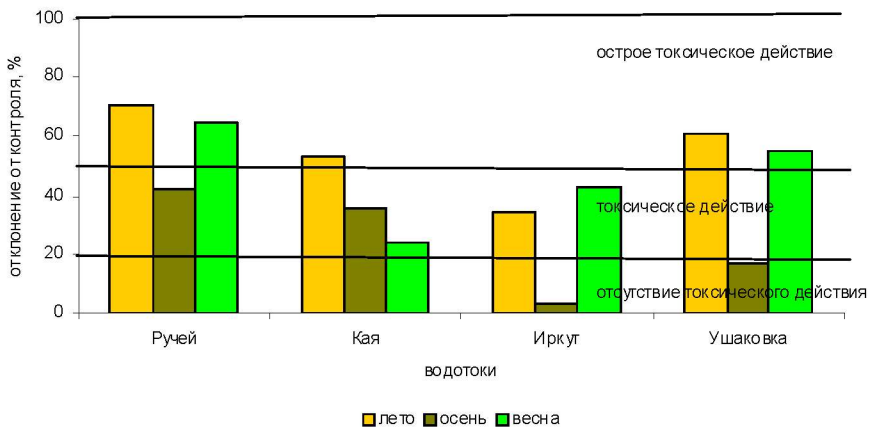


Рис. 3. Изменение уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых пробах воды в верхних створах (без разбавления)

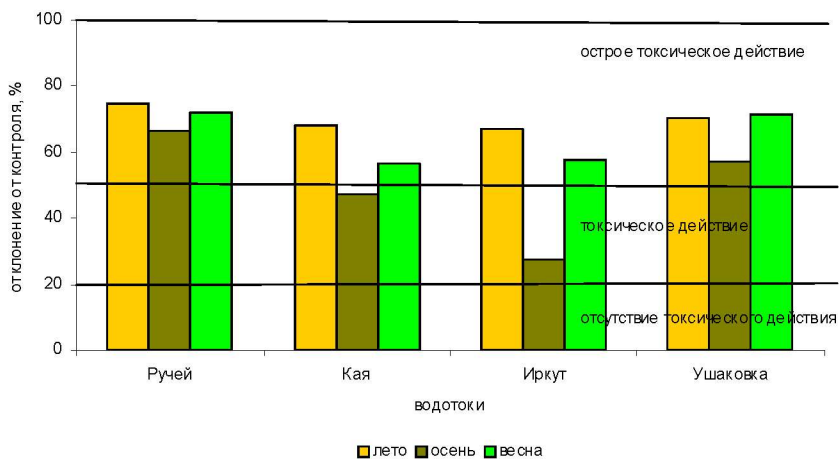


Рис. 4. Изменение уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых пробах воды в нижних створах (без разбавления)

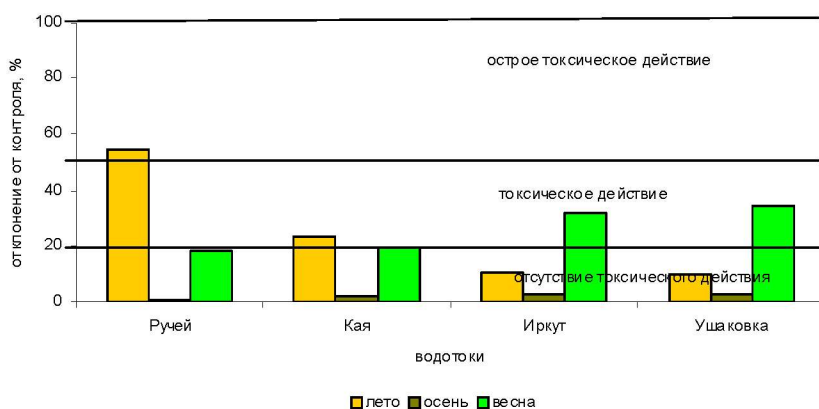


Рис. 5. Изменение уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых пробах воды в верхних створах (разбавление в 2 раза)

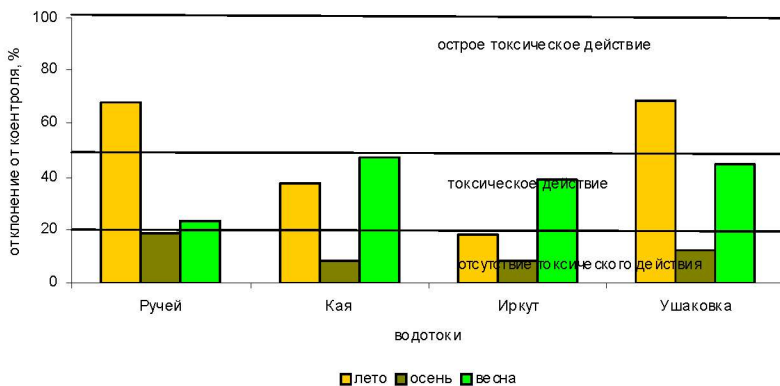


Рис. 6. Изменение уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых пробах воды в нижних створах (разбавление в 2 раза)



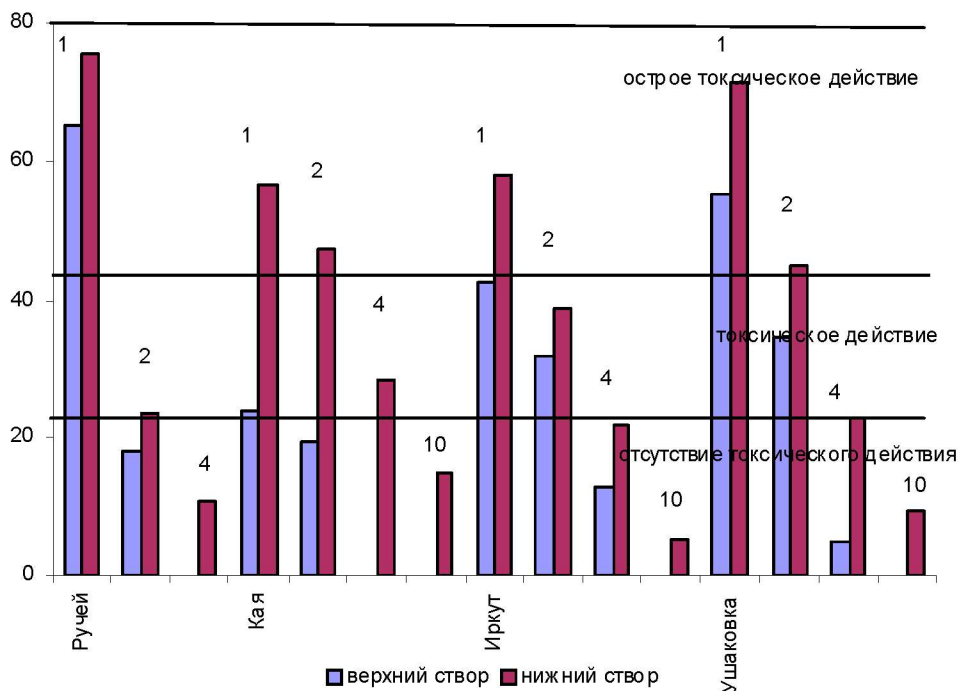


Рис. 7. Изменение уровня флуоресценции хлорофилла микроводорослей в исследуемых весенних пробах воды  
 1 – без разбавления, 2 – разбавление в 2 раза;  
 4 – разбавление в 4 раза; 10 – разбавление в 10 раз

## Выводы

В результате проделанной работы были сделаны выводы:

1) проведено определение токсичности проб воды четырех рек, протекающих по территории г. Иркутска, методами биотестирования: по выживаемости дафний и парameций, по изменению частоты сердцебиения дафний, по изменению реакции хемотаксиса парameций и уровня флуоресценции хлорофилла водорослей;

2) показано, что методы биотестирования, основанные на выживаемости дафний и парameций, на изменении частоты сердцебиения дафний, оказались малочувствительны для исследованных проб воды. Значительно большей чувствительностью отличались методы биотестирования по изменению уровня флуоресценции хлорофилла водорослей и реакции хемотаксиса инфузорий. Флуоресцентный метод биотестирования отличается высокой чувствительностью, хорошей воспроизводимостью, наличием качественной аппаратуры. К достоинствам реакции хемотаксиса инфузорий в первую очередь следует отнести её экспрессность;

3) обнаружено, что токсичность проб воды, отобранных в низовьях рек, выше, чем токсичность проб, взятых в верховьях этих рек, при этом наиболее токсичными оказались пробы воды рек Ушаковки и Ручей;

4) выявлено снижение токсичности проб водных объектов, отобранных в осенний период, по сравнению с летними пробами. Вероятно, это обусловлено снижением хозяйственной деятельности, которая активно проводится на территории водосборных бассейнов рек в летний период, а также снижением температур воды, что способствует уменьшению растворимости токсикантов;

5) отмечено повышение токсичности вод исследуемых водотоков в весенний период по сравнению с пробами, отобранными в другие сезоны. Возможно, это связано с большим поступлением токсикантов в результате таяния снежного покрова, в котором накапливались загрязнения атмосферного воздуха за весь зимний период.

*Работа частично выполнялась при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № 14.В37.21.1931 от 14.10.2012 и Программы стратегического развития федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет» на 2012–2016 годы.*

### Список литературы

1. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). – ВНИЦ: Экология, 2002 – 56 с.
2. Колупаев Б. И. Чувствительность тест-функций как основа для выбора биотестов на токсичность водной среды / Б. И. Колупаев // Гидробиол. журн. – 1989. – № 25. – С. 52 – 54.
3. 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. – 48 с.
4. Методика определения токсичности воды, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флюоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей // ФР.1.39.2007.03223. – М. : АКВАРОС, 2007<sub>2</sub>. – 48 с.
5. Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg // ФР.1.39.2006.02506, ПНДФ Т 14.1:2:3.13–06, 16.1:2. 3:3.10–06. – М. : Акварос, 2006. – С. 48.
6. Мониторинг качества вод: Оценка токсичности / А. М. Никаноров [и др.] – СПб. : Гидрометиздат, 2000. – 156 с.
7. Патент № 2152612 РФ, С 1 7 G 01 N 33/18 Способ биотестирования нефтепродуктов / А. Э. Балаян, Д. И. Стом, М. Н. Саксонов. – № 96114126/04; Заявл. 96114126; Опубл. 10. 07. 2000, Бюлл. № 19.
8. Токсикологическая оценка нефтезагрязненных вод с помощью ракообразных / Д. И. Стом, А. Э. Балаян, М. Н. Саксонов, Д. В. Лозовой // Сиб. экол. журн. – 2003. – № 5. – С. 565–567.

9. Теоретические основы биотестирования /отв. ред. В. И. Лукьяненко. – Волгоград, 1983. – 156 с.

10. Филенко О. В. Биологические методы в контроле качества окружающей среды / О. В. Филенко // Экол. системы и приборы. – 2007. – № 6. – С. 18–20.

11. Филенко О. Ф. Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / О. Ф. Филенко. – М., 1990. – 36 с.

## The evaluation of water quality of some rivers of Irkutsk with help methods of biological control

O. A. Barhatova, M. N. Saksoov, A. E. Balayan, D. O. Taran

**Annotation.** The testing of the system of the express low-tech methods of biological water analysis, including biological testing methods for survival of *Daphnia*, ciliates, and changes in the level of chlorophyll fluorescence of algal cells, as well as the method of detection of low concentrations of oil emulsion, petroleum hydrocarbons on the behavioral response of *Daphnia* to assess the quality of water samples of four rivers flowing through the territory of Irkutsk have been proposed and conducted.

**Key words:** biological testing, the test system, water quality, water fleas, ciliates, microalgae, survival, behavioral responses, chlorophyll fluorescence, chemotaxis.

*Бархатова Оксана Анатольевна*  
кандидат биологических наук, доцент  
Иркутский государственный университет  
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1  
тел. (3952) 52–10–90

*Barhatova Oksana Anatoliyevna*  
Ph. D. in Biological Sciencis,  
Associate Professor  
Irkutsk State University  
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003  
tel.: (3952) 52–10–90

*Саксонов Михаил Наумович,*  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
НИИ биологии при ИГУ  
664003, Иркутск, ул. Ленина, 3  
тел. (3952) 34–34–37

*Saksonov Mikhail Naumovich*  
Ph. D. in Biological Sciencis,  
Leading Research Scientist  
Scientific Research Institute of Biology  
Irkutsk State University  
3, Lenina st., Irkutsk, 664003  
tel.: (3952) 34–34–37

*Балаян Алла Эдуардовна*  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
НИИ биологии при ИГУ  
664003, Иркутск, ул. Ленина, 3,  
тел. (3952) 34–34–37

*Balayn Alla Eduardovna*  
Ph. D. in Biological Sciencis,  
Leading Research Scientist,  
Scientific Research Institute of Biology,  
Irkutsk State University  
3, Lenina st., Irkutsk, 664003  
tel.: (3952) 34–34–37

*Таран Денис Олегович*  
кандидат биологических наук,  
НИИ биологии при ИГУ  
664003, Иркутск, ул. Ленина, 3,  
тел. (3952) 34–34–37

*Taran Denis Olegovich*  
Ph. D. in Biological Sciencis,  
Research Scientist,  
Scientific Research Institute of Biology  
Irkutsk State University  
3, Lenina st., Irkutsk, 664003  
tel.: (3952) 34–34–37