

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ВОДНОЙ СРЕДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ВОДОРОСЛЕЙ

Маторин Д.Н., Осипов В.А., Куликова Н.А., Алексеев А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;
matorin@biophys.msu.ru; Якутский государственного университет

Для мониторинга загрязнений необходимы методы, позволяющие проводить диагностику на ранних стадиях антропогенных воздействий до появления видимых нарушений экосистемы. Степень загрязнения объектов водной среды осуществляется преимущественно путем определения содержания в них отдельных токсических веществ аналитическими методами и сравнения его с законодательно установленными для этих веществ предельно допустимыми концентрациями (ПДК). Однако контроль загрязнения среды с помощью этих методов не может гарантировать экологической безопасности выбросов даже при соблюдении показателей ПДК. Это связано с тем, что, во-первых, нормами охвачена только очень незначительная часть из многих сотен химических соединений, содержащихся в промышленных выбросах, а разработка ПДК для всех загрязнителей и непрерывный контроль их содержания практически неосуществимы. И во-вторых, даже сведения о концентрации абсолютно всех загрязняющих веществ не дадут необходимой экологической информации, так как важны не сами уровни загрязнения, а те биологические эффекты, которые они могут вызвать и о которых не может дать информации самый точный химический анализ, поскольку нормативы ПДК не учитывают изменения токсичности загрязнителей за счет эффектов синергизма при действии нескольких загрязнителей. Эти нормативы не отражают также зависимости токсического действия загрязнителей от физических факторов среды, и не учитывают процессы химической трансформации загрязнителей в окружающей среде или в ходе очистки выбросов от конкретных загрязнителей. Такая трансформация увеличивает число не идентифицированных соединений, попадающих в окружающую среду, отдельные из которых могут оказаться значительно более токсичными, чем исходные загрязнители. Таким образом, существующую практику контроля за загрязнением среды нельзя признать удовлетворительной, поскольку во многих случаях, соблюдение действующих норм создает лишь видимость благополучия при неприемлемом загрязнении окружающей среды. Интегральную информацию о токсичности среды могут дать только методы биотестирования, основанные на регистрации ответов биологических

систем. Методы биотестирования могут использоваться для непрерывного мониторинга качества воды и для быстрого обнаружения появления в среде токсических загрязнений. Аналитические методы могут привлекаться для выявления химической природы загрязнений после получения положительного сигнала при биотестировании среды на интегральную токсичность. Совместное применение биотестирования и аналитических методов позволит также установить достаточно ли удалить из среды вещества, для которых превышены ПДК, или же токсичность обусловлена синергическим действием тех веществ, для которых ПДК не превышена, либо связана с появлением новых неконтролируемых веществ, образовавшимися в результате химических превращений исходных загрязнителей.

Методы биотестирования должны быть информативными, высокочувствительными и работать в режиме реального времени. Водоросли лежат в основе водных экосистем и поэтому могут быть использованы в качестве биоиндикаторов водных сред. Преимуществом использования в биотестировании фотосинтетиков является их высокая чувствительность к загрязнителям. Свет является для них не только источником энергии, но и активным повреждающим фактором, причем процессы повреждения резко активируются при нарушении загрязнителями самых различных стадий метаболизма. Такая активация обусловлена уменьшением использования энергии света в реакциях фотосинтеза или замедлением репарации светового повреждения клеточных структур, связанной с синтезом белков, входящих в реакционный центр фотосистемы 2.

На кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработан метод биотестирования, основанный на регистрации быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла в клетках микроводорослей. Данный метод выявляет присутствие загрязнителей по острому токсическому действию их на клетку, регистрируемому по изменению параметров люминесценции при инкубации на повышенной освещенности. Использование повышенной интенсивности позволяет не только обнаруживать вещества, которые прямо подавляют реакции фотосинтеза (гербициды и др. фитотоксические вещества), но также расширяет спектр за счет веществ, действующих на синтез белка и другие процессы в клетке. Регистрация на свету первичных изменений фотосинтетического аппарата, наиболее чувствительного к повреждающим воздействиям, позволяет сократить время инкубации до 1-3 часов, по сравнению с 1-10 сутками при

оценке токсичности по снижению скорости роста. Испытания метода на ряде модельных токсикантов (ионы Cu, Hg, Cd, Cr, Zn, гербициды и др.) показали, что чувствительность его находится на уровне ПДК для этих веществ.). С использованием метода проведено исследование детоксицирующих свойств гуминовых веществ различного генезиса по отношению к тяжелым металлам, гербицидам и ПАУ (Perminova et al. 2001a,b, Yudov M.V et al. 2005).

Регистрация люминесценции хлорофилла была применена также для биотестирования воды путем регистрации пищевой активности планктонных ракообразных (дафний) по скорости уменьшения интенсивности свечения, обусловленного выеданием водорослей. Эксперименты показали, что снижение пищевой активности происходит значительно раньше и при более низких концентрациях токсикантов, чем удается зарегистрировать принятые в санитарной гидробиологии показатели токсичности, такие как уменьшение подвижности дафний или их гибель. Таким образом, появляется возможность в одном тесте определять токсичность воды сразу для двух важнейших компонентов водных экосистем - микроводорослей, являющихся первичными продуцентами органического вещества, и планктонных ракообразных, основных потребителей этого вещества, являющихся, в свою очередь, пищей для рыб и других организмов более высоких трофических уровней.

Комплексный биотест с использованием водорослей и дафний может быть внедрен в сети экологического мониторинга для контроля токсичности водных стоков предприятий для входного контроля токсичности сточных вод поступающих на биологическую очистку, с целью предотвращения отравления активного ила и ухудшения качества очистки, для контроля за качеством очистки на выходе водоочистных сооружений, для периодического обследования состояния загрязнения отдельных экологически неблагополучных водоемов. Конечной целью внедрения методов биотестирования должно стать создание автоматических станций биомониторинга качества воды. На кафедре биофизики МГУ разработан портативный тестер-флуорометр для биотестирования и оценки состояния микроводорослей в условиях загрязнений. Аппаратура апробирована в работах по мониторингу на реке Москва, на оз.Иссык-Куль, при индикация загрязнений остатками диоксинов в заливе Нячанг (Южный Вьетнам). Полученные результаты позволили показать, что функциональное состояние фотосинтезирующих организмов является чувствительнейшим интегральным сенсором

состояния внешней среды. Работа проводилась при финансовой поддержке Российско-Вьетнамского Тропического Центра РАН и Гранту KR964.

ЛИТЕРАТУРА

Филенко О.Ф., Изд. МГУ, 1989. Методы биотестирования качества водной среды. Маторин Д.Н., Венедиктов П.С., Макевнина М.Г. (1975). Применение метода регистрации длительного послесвечения зеленых растений для определения загрязненности фитотоксическими веществами объектов внешней среды. Биол. науки, 12, 122-125

Маторин Д.Н. Венедиктов П.С. (1990) Люминесценция хлорофилла в культурах микроводорослей и природных популяциях фитопланктона. Итоги науки и техн. ВИНТИ, сер. биофизика, 1990, 40., 49-100.

Vavilin D.V, Polynov V.A., Matorin D.N., Venediktov P.S. (1995) The sublethal concentrations of copper stimulate photosystem II photoinhibition in *Chlorella pyrenoidosa*. J. Plant Physiol, 146(5-6), 609-613

Perminova, I.V., Gretschishcheva, N. Yu., Petrosyn, V.S., Anisimova, M.A., Kulikova, N.A., Lebedeva, G.F., Matorin, D.N. Venediktov P.S. (2001). Impact of humic substances on the toxicity of xenobiotic organic compounds. Chapter 14. In: Humic substances and chemical contaminants. USA, Madison, WI. Eds: M.H.B. Hayes, C.E. Clapp, N. Senesi, P.R. Bloom and P.M. Jardine. pp. 275-287.

Perminova I.V., Grechishcheva N.Yu., Kovalevskii D.V., Kudryavtsev A.V., Petrosyan V.S., Matorin D.N. (2001) Quantification and prediction of the detoxifying effects of humic substances related to their chemical binding to polycyclic aromatic hydrocarbons. Environ. Toxicol. Chem. 35, 3841-3848.

Graevskaya E.E., Antal T.K., Matorin D.N., Pogosyan S.I., Rubin. A. B. Study of chloride mercury and chloride methylmercury effect on diatoms *Thalassiosira weissflogii* by chlorophyll fluorescence analysis. J.1Y France, 2003, 107. P 569-572

Павлов Д.С., Смуров А.В., Ильяш Л.В., Маторин Д.Н., Клоев Н.А., Котелевцев С.В., Румак В.С. Современное состояние коралловых рифов залива Нячанг (Южный Вьетнам) и возможные причины неблагополучия среды обитания склерактиний. Биология моря, 2004, том 30, № 1.

Yudov M.V., Zhilin D.M., Pankova A.P., Rusanov A.G., Perminova I.V., Petrosyan V.S., Matorin D.N. (2005) Synthesis, metal-binding properties and detoxifying ability of sulphonated humic acids. Chapter 24. In: Use of

ПРИНЦИПЫ ЭМБРИОМОНИТОРИНГА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Мелехова О.П.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет

Понятие «экологическое качество» среды подразумевает сохранение экологического равновесия в природе (относительной устойчивости видового состава экосистем и состава сред жизни), которое обеспечивает сохранение биоразнообразия и здоровье человека.

Традиционно оценка качества водной среды основывается на данных химического и дозиметрического анализа. В прикладной экологии при оценке антропогенного воздействия на среду широко распространено понятие о предельно допустимых концентрациях различных веществ-загрязнителей, являющихся побочными продуктами хозяйственной деятельности человека. Предельно допустимой считается такая концентрация вещества (или доза воздействия физического фактора, как вибрация, шум, излучение и пр.), которая в течение длительного применения не вызывает негативного воздействия на здоровье человека или на состояние природной среды.

Предельно-допустимые концентрации (ПДК) определяют экспериментально на животных для каждого вещества в отдельности, варьируя дозы и прослеживая эффект в течение длительного срока. Руководствуясь таблицами ПДК и ПДУ, определяют аналитическими методами экологическое качество среды, и в том числе питьевой воды. В источниках питьевой воды определяют также наличие взвешенных частиц, цвет и запах, биологическое загрязнение (в основном, патогенными микроорганизмами). Однако такой подход является недостаточным по нескольким причинам (Криволуцкий и др., 1987). В последние годы все шире внедряются в практику методы биоиндикации и биотестирования (В.М. Захаров, Д.М. Кларк, 1993; О.Ф. Филенко, ред. 1986).

Антропогенные загрязнения действуют на живые организмы, и в том числе на человека, в самых разных сочетаниях, комплексно. Их интегральное действие можно оценить только по реакции живых организмов или сообществ. Прогноз действия загрязненной воды, химических добавок в пище или загрязненного воздуха на человека также более правомочен, если в оценку токсичности входят не только