

АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДОЛОГИИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ВОДНЫХ СРЕД

Олькова А. С.

CURRENT TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF THE METHODOLOGY OF BIOASSAY AQUATIC ENVIRONMENTS

Olkova A. S.

Аннотация

Введение: современная методология биотестирования развивается по следующим направлениям: создание и внедрение новых методик биотестирования, разработка специальных приборов для биотестирования, обнаружение новых информативных тест-функций лабораторных организмов, основанных на учете сублетальных эффектов, оценка и интерпретация результатов токсикологического анализа компонентов окружающей среды. **Методы и материалы:** в целях выявления методологических аспектов развития группы методов в исследованиях с использованием биотестирования проанализирован опыт мировых ученых. Предлагаемые подходы оптимизации методов биотестирования разработаны с использованием собственного накопленного материала токсикологических анализов. **Результаты:** предложено три направления для оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования. Во-первых, разработан алгоритм выбора биотестов, позволяющий использовать наиболее чувствительные методы. Второе направление оптимизации методов биотестирования — это контроль здоровья тест-культур в течение всего жизненного цикла особей биологического вида. Третья часть нашей работы — это создание системы тест-функций лабораторных животных, которые последовательно проявляются в течение токсикологического эксперимента. Система позволяет оценивать предлетальные, летальные, хронические и отсроченные токсикологические эффекты. **Заключение:** предложенные нами направления оптимизации биотестирования учитывают многофакторность получения объективных результатов токсикологических анализов. Три части оценки и оптимизации подходов биотестирования необходимо последовательно осуществлять на этапе планирования экологических исследований и продолжать внедрять в процессе исследований.

Ключевые слова: биотестирование, методология биотестирования, методы биотестирования, тест-функции, тест-организмы.

Введение

Водные объекты и другие компоненты окружающей среды часто загрязняются сложными смесями химических веществ, которые могут представлять угрозу для экосистем и здоровья

Abstract

Introduction: the modern methodology of bioassay is developing in the following areas: the development and implementation of new methods bioassays, the development of special devices for bioassay, the detection of new informative test functions based on the accounting of sublethal effects in laboratory organisms, the evaluation and interpretation of the results of toxicological analysis of environmental components. **Methods and materials:** the experience of world scientists has been analyzed in order to identify the methodological aspects of the development of a group of methods in studies using biotesting. New approaches to optimizing biotesting methods are developed using accumulated material of toxicological analyzes. **Results:** we offer three directions for evaluation and optimizing of approaches and methods bioassays. First, we propose an algorithm for selecting protocols of bioassay. The second direction of optimization of methods bioassays is the control of health in test cultures throughout the life cycle of individuals of a biological species. The third part of our work is the development of a system of test functions for laboratory animals that consistently evaluated during a toxicological experiment. The system allows to estimate pre-lethal, lethal, chronic and delayed toxicological effects. **Conclusion:** the proposed optimization of bioassay takes into account the multifactorial nature of obtaining objective results of toxicological analyzes. Researchers can consistently use three parts of evaluation and optimizing of approaches bioassay at the planning stage of environmental studies and continue to implement them in the research process.

Keywords: bioassay, bioassay methodology, methods of bioassay, test function, laboratory test-organism.

человека. На мировом уровне признано, что химический анализ водных сред необходимо совмещать с их биотестированием. В последнее время это общепризнанное положение сформулировано в принципах эффективно направленного ана-

лиза — Effect-directed analysis (EDA). В работе [15] декларируются положения EDA: тщательное планирование мониторинговых работ, важность условий пробоотбора и пробоподготовки, аналитическая идентификация токсикантов и целевой выбор наиболее чувствительных биотестов, необходимость стремления к автоматизации процедур анализа, в том числе биотестирования, что сократит количество внутрилабораторных ошибок.

Следующим ключевым принципом исследования токсичности водных сред является «батарея биотестов». За рубежом обычно используют не менее трех тест-организмов, например, низших ракообразных *Daphnia magna*, культуру одноклеточной водоросли *Desmodesmus subspicatus* и высшие водные растения *Lemna minor* [34]. Часто в «батарею биотестов» включают более трех методов [25, 28]. Современные европейские протоколы рекомендуют включать в набор биотестов так называемый FET-test (Fish embryo toxicity) на эмбриотоксичность, оцениваемую по реакциям икры рыбок данио *Danio rerio* [16, 20, 32].

В 2017 году впервые была проведена европейская демонстрационная программа (EDP), нацеленная на совместный мониторинг поллютантов, присутствующих в поверхностных водах в микродозах, и выявление их специфических эффектов методами биотестирования. Авторами [30] показаны выраженные эффекты эстрогенности фенилуксусной кислоты для эмбрионов рыб, токсичности для водорослей микродоз гербицидов при совместном присутствии других загрязнителей. Это масштабное исследование показало, что классические тесты по выживаемости организмов постепенно утрачивают свою актуальность. Их следует рекомендовать только для выявления степени токсичности сточных вод, водных экстрактов из отходов и других насыщенных токсикантами сред. На смену таким методам постепенно приходят биотесты по учету различных предлетальных эффектов.

К таким методам можно отнести анализ внутриклеточных и генетических изменений в клетках подопытных организмов [17]. Российские ученые активно пользуются аллиум-тестом — биотестированием по изменению митотического индекса клеток корневой меристемы лука *Allium cepa* [1, 12]. Китайские ученые в оценке

генотоксичности и мутагенности водных сред предложили метод транскриптомики отдельных клеток человека, что, безусловно, является новым направлением в биодиагностике [33]. Авторы характеризуют предлагаемый метод как экономически выгодный, однако пока это вызывает сомнения. Тем не менее, перспектива в области оценки безопасности водных сред для человека очевидна: при использовании других тест-организмов приходится полагаться на экстраполяцию полученных данных.

Тенденцию диагностики загрязнений по предлетальным эффектам организмов поддерживают биологические системы раннего предупреждения (Biological Early Warning Systems, BEWS), с помощью которых непрерывно отслеживают физиологические или поведенческие реакции организмов для обнаружения внезапного увеличения концентрации загрязняющих веществ [19, 21, 24]. Первые BEWS появились несколько десятилетий назад. Однако их широкое внедрение стало возможно относительно недавно благодаря развитию технологий биотестирования с одновременным снижением стоимости таких систем [29].

Приведенные примеры актуальных направлений использования методов биотестирования для оценки качества окружающей среды, в основном водных сред, демонстрируют современное формирование методологии биотестирования. Данная научная методология включает совокупность научно обоснованных подходов к содержанию и стандартизации тест-организмов, выбор тест-организмов в аспекте особенностей тестируемой среды и специфики токсикантов, объективную оценку наблюдаемых тест-функций, интерпретацию полученных ответных реакций. Недостаточное внимание к одному из методологических аспектов биотестирования, каждый из которых крайне многогранен, может привести к накоплению систематических ошибок, приводящих, как минимум, к получению малоинформативных данных и, в максимальном выражении, к общему недоверию методам биодиагностики из-за противоречивых результатов.

Методы и материалы

Основной задачей работы стало обобщение актуальных направлений научных исследований с использованием биотестирования, выявление

в них методологических аспектов развития группы методов. Для выполнения задачи проанализирован опыт мировых ученых в области биотестирования водных сред. С использованием собственного накопленного материала токсикологических анализов разработаны и апробированы новые подходы для оптимизации методов биотестирования, что стало предметом работы.

Результаты и обсуждение

Анализ тенденций научных исследований в области биотестирования. Осветить всё разнообразие научных исследований, направленных на вовлечение методов биотестирования в оценку качества и регулярный мониторинг водных сред и объектов невозможно. Анализ исследований в области биотестирования проводился с использованием нескольких наукометрических баз публикаций. Результаты поиска научных работ сами по себе являются ценным и интересным материалом для анализа, доказывающим актуальность ряда вопросов методологии биотестирования. На рис. 1 приведено сравнение количества научных публикаций по нескольким направлениям биотестирования, взятое за период 2013–2017 гг. из базы данных «Web of Science Core Collection».

Общее количество ответов на запрос «bioassay*» — 55805. Следует отметить, что в данную подборку, кроме результатов биотестирования водных сред, вошли и другие естественно-научные исследования. Конкретизация темы работы позволяет выделить интересы научной общественности по направлению биотестирования в природоохранной практике (рис. 1). Такой анализ позволил «кристаллизовать» аспекты раз-

вития методологии биотестирования для дальнейших предложений по оптимизации его подходов и методов.

Направления формирования методологии биотестирования:

- накопление банка методик биотестирования. Известны сотни методик биотестирования, многие из них допущены для целей государственного экологического контроля и мониторинга или аналогичных процедур во многих странах мира. Однако эта позитивная тенденция имеет и недостатки. Многообразие методик ставит перед исследователями вопрос их выбора в условиях конкретных практических задач. При этом многими разработчиками предлагаются биотесты с использованием новых организмов, порой не всегда доступных широкому кругу исследователей [26, 33];

- разработка доступного специализированного оборудования для биотестирования, что важно для автоматизации процесса. Однако современные приборы дорогостоящи и должны пройти сложную процедуру включения в федеральный реестр оборудования, иначе они останутся невостребованными. В этих условиях до сих пор популярны простейшие визуальные тест-методы;

- третье направление формирования методологии биотестирования — это поиск новых тест-функций «классических» тест-организмов. На пике популярности сегодня биотесты по оценке генетических нарушений, однако их внедрение в практику исследований и использование в системах мониторинга связано со многими сложностями, включающими недостаток квалифицированных специалистов, еще более дорогостоящее оборудование и отсутствие аттестованных методик;

- важным направлением развития методологии биотестирования является оценка и интерпретация результатов токсикологического анализа водных сред. Это направление является смежным с анализом комплексного загрязнения компонентов окружающей среды и их геохимическими особенностями, поэтому характеризуется повышенной сложностью в поиске закономерностей «доза-эффект» и «время-эффект» в условиях реальных экосистем. Ориентиром в этом направлении стали работы Никанорова, Жулидова, их соавторов, в которых доказана роль органи-

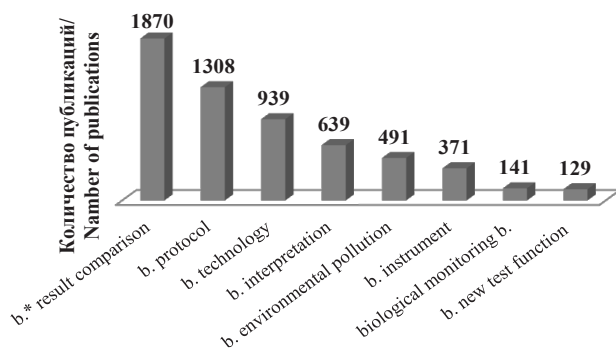


Рис. 1. Соотношение количества публикаций по теме «биотестирование» (b. — сокращение bioassay)

ческого вещества в формировании устойчивости водных экосистем от химического воздействия, показано положительное влияние биоаккумуляционных процессов для детоксикации вод, описаны эффекты лабильных и нелабильных форм токсикантов [7–9].

Мы предлагаем следующие направления оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования, отраженные на одноименной блок-схеме, учитывающей многофакторность получения объективных результатов экотоксикологических анализов (рис. 2).

Реализацию данной блок-схемы рекомендуется начинать с **выбора биотестов**. Алгоритм выбора должен основываться на ранжировании чувствительности биотестов, то есть конкретных методик биотестирования, к приоритетным загрязняющим веществам. Краткий алгоритм, как порядок действий исполнителей при экологических исследованиях, заключается в следующем:

1. Установление нелетальных и летальных доз исследуемого вещества по базовому биотесту, в качестве которого предлагаем использовать биотест по смертности *D. magna* — один из наиболее широко распространенных в мировой практике биотестирования. Определение среднелетальной концентрации токсиканта при этом не обязательно, если это не является задачей исследования. Такой подход значительно сокращает объем работы.

Ориентиром для выбора серии тестируемых концентраций могут быть результаты опубликованных научных работ в случае, если токсикант ранее подлежал изучению. В ином случае необходимо ориентироваться на действующие дозы гомологичных веществ (для органических соединений) или наиболее близких по генезису веществ (для неорганических). Запланированные дозы для тестирования необходимо вводить в природную воду, свойственную региону потенциального загрязнения, что позволит получить данные, адекватные естественному химическому фону природных вод. Использование дистиллированной воды не рекомендуется.

2. Выбор биотестов, доступных для дальнейшего использования при регулярном наблюдении за компонентами окружающей среды. Несмотря на рекомендации нормативного документа об использовании двух тест-организмов разных трофических групп [11], на данном этапе необходимо использовать все доступные методики биотестирования для определения наиболее чувствительных.

С помощью выбранных биотестов тестируются модельные водные среды с добавками нелетальных и летальных доз для базового биотеста (по дафниям). При необходимости для улавливания различий в чувствительности испытуемых биотестов оцениваются эффекты дополнительных доз приоритетных веществ. Контрольная



Рис. 2. Направления оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования

среда, используемая для моделирования, остается той же — подобранной изначально.

3. Сопоставление полученных результатов с определением уровня чувствительности биотестов и распределением их в ряду чувствительности. При этом рекомендуется в первую очередь ориентироваться на массовые концентрации исследуемого вещества, а не на кратность нормативным величинам (ПДК, ОДК и т. д.), если они имеются. Нормативные величины следует использовать для дальнейшей ориентации в степени загрязнения и отклике на него тест-организмов. Данное условие позволит исключить сложности и возможные несоответствия, вызванные разными значениями ПДК для вод различного назначения и почв, нормативы которых также зависят от назначения и типологии.

4. Установление хронических токсических эффектов по *D. magna* и/или *C. affinis*. Данная процедура является не обязательной и может быть использована для разграничения близкой чувствительности двух видов низших ракообразных либо для непосредственной оценки хронического токсического действия исследуемого вещества, если это входит в задачи исследования.

Данный алгоритм апробирован на нескольких веществах с получением рядов чувствительности, которые позволяют выбирать наиболее информативные биотесты. Использование такого подхода перед масштабными мониторинговыми исследованиями позволит экономить средства без снижения объективности и достоверности получаемых заключений.

Второй блок схемы включает **стандартизацию условий культивирования тест-организмов**. Каждая тест-культура в силу видовых особенностей требует разработки стандартных условий для ее содержания, позволяющих длительное время поддерживать ее здоровье. Под здоровьем культуры тест-организмов следует понимать ее способность длительно существовать в качестве модельной популяции со стабильной продолжительностью жизни особей и сохранением способности к самовоспроизводству при условии создания оптимальных абиотических и биотических факторов ее существования.

Для рассмотрения проблемы стандартизации условий культивирования тест-организмов и контроля их здоровья из всего перечня лаборатор-

ных культур в качестве экспериментальной модели были выбраны синхронизированные группы *D. magna*, с помощью которых выше предложено выполнять базовый биотест.

Несмотря на вековую историю культивирования, условия содержания этих рачков и проведения экспериментов не унифицированы. В мировой практике биотестирования встречаются разные рекомендации по культивированию *D. magna*. Американские ученые рекомендуют содержать дафний при плотности посадки 10 взрослых особей на литр культивационной воды [27]. В официальном протоколе биотестирования США предлагается выращивать культуру при плотности 20 особей на 1,6 л [31]. В международном стандарте ISO 6341:2012 плотность посадки рачков в воду в 2 раза выше: 20–25 особей на литр воды [18]. В России принят такой же вариант [14]. В научных работах предлагается: 1 особь на 150 мл [6], 5 особей на 100 мл [4]. Рекомендации по поддержанию температуры, уровня pH водной среды, освещенности также варьируют. При этом согласно экологическим законам известно [22], что от плотности популяции зависят смертность и плодовитость – две основных тест-функции *D. magna*, а также накопление биомассы, пищевое поведение и некоторые другие параметры.

Исследование влияния плотности модельной популяции *D. magna* на плодовитость и естественную смертность, а также влияние температуры культивирования на эти характеристики подробно описаны нами в работе [23]. В данной статье авторами представлены результаты исследований и рекомендации по стандартизации условий культивирования и контроля здоровья базового тест-организма *D. magna* с некоторыми выводами, в частности:

- продолжительность жизни и способность особей к размножению — универсальные критерии здоровья для многих животных. Для оценки состояния культуры *D. magna* можно использовать периоды созревания рачков, среднюю и максимальную продолжительность жизни и удельную плодовитость особей за весь жизненный цикл;
- пригодность культуры *D. magna* к биотестированию нужно определять не только по чувствительности к модельному токсиканту, поскольку

данный тест оценивает адекватность острых эффектов. При использовании культуры *D. magna* в хронических экспериментах предлагается 1 раз в год отслеживать коэффициент суточного прироста смертности в специально созданной модельной группе рачков. Этот параметр стабилен и равен 1,1 с вариацией менее 10 %. Значительные отклонения от параметра укажут на проблемы здоровья культуры;

- для более оперативной оценки состояния культуры *D. magna*, используемой в хронических экспериментах, предлагаем наблюдать за показателем «день появления первой молоди» у каждой новой синхронизированной культуры *D. magna*. Этот показатель может иметь индивидуальные пределы для каждой лаборатории и зависит от сезона года. Однако его отклонение от среднего значения более чем на 5 дней будет свидетельствовать о проблемах с воспроизводством культуры и снижением надёжности тест-функции «плодовитость»;

- оптимальная плотность посадки *D. magna* в среду обитания должна составлять 25 особей на 1 литр. Низкая плотность посадки приводит к высокой плодовитости, истощающей культуру. Эффект аналогичен культивированию в теплых условиях (25 °C), при которых происходит сокращение длины жизни рачков. Высокая плотность посадки вызывает задержку развития особей даже в условиях оптимальной температуры и достаточного питания.

Предложенные параметры стандартизации условий культивирования и состояния тест-организма *D. magna* можно адаптировать и для других лабораторных организмов, используя ведущий принцип: регулярное отслеживание параметров жизнедеятельности на протяжении всего жизненного цикла организмов.

Важным разделом оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования является третий блок предлагаемой схемы, включающей **определение спектра тест-функций организма**. На международном симпозиуме в октябре 2016 г. «Биодиагностика и оценка качества природной среды...» О. Ф. Филенко и В. А. Терехова в числе методологических проблем биотестирования обозначили «давнее противоречие между потребностью в быстрых оценках токсичности и экологической надёжностью этих оценок». «Ред-

ко, когда 2-3-суточные опыты адекватно характеризуют биологическую и экологическую угрозу конкретного загрязнения» [13]. Действительно, в ряде случаев при исследованиях на первое место выходит не скорость проведения биотеста, а подробность и объективность получаемой информации. Поэтому крайне необходимо развивать методы, позволяющие оценивать отдаленные токсикологические эффекты.

Не менее важно предложить пользователям методик биотестирования удобные во многих отношениях тест-организмы, имеющие многочисленные морфологические и физиологические ответы на токсическое действие веществ, которые поддаются строгому учету. Этим критериям удовлетворяют низшие ракообразные *D. magna*, поэтому для разработки системы последовательной оценки спектра тест-функций организма были выбраны дафнии, представленные выше как базовый тест-организм.

Для решения этой задачи 14 тест-функций *D. magna*, проявляющихся в разное время эксперимента, в зависимости от токсичности действующих веществ, были объединены в единую систему. В первую очередь были выбраны те реакции *D. magna*, которые относительно легко диагностируются и являются распространенными в мировой практике биотестирования (табл. 1). Тест-функции, основанные на изменении биохимических показателей рачков, напротив, не использовали по причине высокой трудоёмкости и необходимости более высокой квалификации исполнителей, а также дополнительных материальных затрат на материалы и реактивы.

Алгоритмы определения большинства этих 14 тест-функций являются общеизвестными либо понятными исходя из их названия, а также описаны в аттестованных или научно-исследовательских методиках и иных изданиях [2, 5, 14]. Модификация визуального учета двигательной активности предложена нами и апробирована в работе [10]. Эффекты диагностируются по тест-функциям, последовательно проявляющимся в течение эксперимента, разработанная шкала отражает время проявления тест-функций (рис. 3). В зависимости от установленных эффектов токсичность пробы может оцениваться не только качественно, но, по многим показателям, и коли-

Таблица 1

Перечень тест-функций, используемых для комплексной оценки токсичности водных сред

№ п/п	Тест-функция	Способ учёта	Необходимость специальных приборов	Необходимая экспозиция для учёта тест-функции
1	Смертность	Визуальный	Нет	96 ч
2	Двигательная активность	Визуальный	Нет	3–96 ч
3	Трофическая активность	Приборный	ИПС-03* или спектрофотометр	5 сут.
4	Задержка или стимуляция созревания особей (по выводковым камерам)	Визуальный + микроскопирование	Микроскоп	5–10 сут.
5	Уменьшение линейных размеров	Микроскопирование	Микроскоп с микрометром	10 и 25 сут.
6	Пигментация тела	Визуальный	Нет	25 сут.
7	Задержка появления первого потомства	Визуальный	Нет	7–12 сут.
8	Качество «молоди»	Визуальный + микроскопирование	Микроскоп с микрометром	25 сут.
9	Плодовитость	Визуальный	Нет	25 сут.
10	Доля абортивных яиц от общего количества молоди	Визуальный	Нет	Весь жизненный цикл
11	Средняя продолжительность жизни	Визуальный	Нет	Весь жизненный цикл
12	Смертность особей в поколениях F2 и F3	Визуальный	Нет	25 сут. жизни особей F2 и F3
13	Плодовитость в поколениях F2 и F3	Визуальный	Нет	25 сут. жизни особей F2 и F3
14	Доля абортивных яиц от числа молоди в поколениях F2 и F3	Визуальный	Нет	25 сут. жизни особей F2 и F3

* Измеритель плотности суспензии.

чественно, а также ранжироваться по интенсивности их проявления.

Проведение биотестирования по данной схеме в течение всего жизненного цикла условного первого поколения *D. magna* и 25 дней жизни

рачков второго и третьего поколений позволяет отслеживать три основных вида эффектов в зависимости от продолжительности контакта тестируемой водной среды и организма (по классификации С. А. Куценко [3]):



Рис. 3. Система последовательной оценки спектра тест-функций *D. magna* (БКР — безвредная кратность разбавления)

- летальный эффект, проявляющийся при острой интоксикации, развивающейся в результате действия веществ в течение ограниченного периода времени (составляет, как правило, до нескольких суток);

- нелетальные эффекты, проявляющиеся при подострой интоксикации, развивающейся в результате непрерывного во времени действия токсиканта(-ов) продолжительностью до нескольких десятков суток;

- хронические и отсроченные эффекты, проявляющиеся при хронической интоксикации, развивающейся в результате продолжительного действия токсиканта(-ов).

Такой подход позволит давать подробную характеристику исследуемых водных сред, новых веществ и материалов, прогнозировать их экотоксикологическое действие при попадании в окружающую среду.

Представленные три блока рассмотренной схемы при последовательной совместной реализации позволят оценить и оптимизировать подходы и методы биотестирования, разработать наиболее рациональный план экологических исследований или регулярных мониторинговых работ с использованием экотоксикологических методов.

Заключение

В данной работе проанализированы мировые тенденции развития группы методов биотестирования и учтены основные современные направления формирования методологии биотестирования. На основании этого разработана схема оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования, включающая три блока действий, отличающихся научной обоснованностью и доступностью их применения.

Предложенный алгоритм установления чувствительности биотестов позволяет сравнивать не столько разные тест-организмы, сколько конкретные методики проведения биотестирования. В результате это не требует от исполнителя дальнейшего решения по выбору тест-функции чувствительного вида, определении экспозиции и других параметров опыта. Это действие направлено на оценку методов биотестирования в условиях конкретных задач планируемых или выполняемых исследований.

Дальнейшая строгая стандартизация условий культивирования тест-организма направлена на высокие критерии качества тест-культур. На примере *D. magna* показан перечень регламентируемых параметров культивирования и контроля здоровья тест-культуры. Признаки, рекомендованные для оценки культуры *D. magna*, помогают отделять сезонные колебания состояния тест-организмов от систематического ухудшения их здоровья. Предложенные параметры стандартизации культивирования и контроля здоровья культуры могут быть адаптированы для большинства других тест-организмов.

В качестве оптимизации подходов биотестирования предложено не увеличение «батареи биотестов», а углубленное изучение различных ответных реакций одного, базового, тест-организма. При таком подходе оцениваются как тест-функции ранней диагностики, так и отсроченные во времени эффекты. Реализация подхода апробирована на примере *D. magna* – базового по ряду параметров тест-организма. Разработана система последовательной оценки спектра тест-функций *D. magna*. К ее достоинствам относим: возможность широкого внедрения в практику биотестирования, ранжирования степени токсичности тестируемых сред, оценку нелетальных, летальных, хронических и отсроченных эффектов тестируемых водных сред и веществ.

Таким образом, методология биотестирования продолжает развиваться. Многие современные разработки приводят к усложнению алгоритмов действий для исполнителей. Это не всегда обосновано, кроме того, не позволяет проводить массовое внедрение новых разработок. Предложенная блок-схема оценки и оптимизации подходов и методов биотестирования направлена на выбор наиболее информативных методов для сокращения времени работы исполнителя, контроль качества используемых тест-культур в целях получения достоверных результатов и ориентирована на использование базовых тест-организмов с наиболее доступными для учёта тест-функциями.

Литература

1. Белинская, Е. А., Мазина, С. Е., Зыкова, Г. В., Зволинский, В. П. (2017). Биотестирование стойких органических загрязнителей и полициклических ароматических углеводородов. *Успехи современной науки*, № 5 (1), сс. 35–43.

2. Воробьева, О. В., Филенко, О. Ф., Исакова, Е. Ф. (2013). Изменения плодовитости лабораторной культуры *D. magna*. *Перспективы науки*, № 9 (48), сс. 11–14.
3. Куценко, С. А. (2004). *Основы токсикологии*. СПб.: Фолиант, 720 с.
4. Лесников, Л. А., Мосиенко, Т. К. (1992). *Приемы биоиндикации, биотестирования при текущем надзоре за загрязненностью водных объектов и выявлении превышения их ассимилирующей способности*. СПб.: ГосНИОРХ, 79 с.
5. Маторин, Д. Н., Венедиктов, П. С. (2009). Биотестирование токсичности вод по скорости поглощения дафниями микроводорослей, регистрируемых с помощью флуоресценции хлорофилла. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*, № 3, сс. 28–33.
6. Мисейко, Г. Н., Тушкова, Г. И., Цхай, И. В. (2001) *Daphnia magna* (Crustacea Cladocera) как тест-объект в оптимальных условиях лабораторного культивирования. *Известия Алтайского государственного университета*, № 3, сс. 83–86.
7. Никаноров, А. М., Жулидов, А. В. (1991). *Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах*. Л.: Гидрометеиздат, 312 с.
8. Никаноров, А. М., Трунов, Н. М. (1999). *Внутриводные процессы и контроль качества природных вод*. СПб.: Гидрометеиздат, 150 с.
9. Никаноров, А. М., Хоружая, Т. А., Бражникова, Л. В., Жулидов А. В. (2000). *Мониторинг качества вод: оценка токсичности*. СПб.: Гидрометеиздат, 159 с.
10. Олькова, А. С., Санникова, Е. А., Будина, Д. В., Кутявина, Т. И., Зимонина, Н. М. (2017). Оценка токсичности природных и техногенных сред по двигательной активности *Daphnia magna*. [online]. *Современные проблемы науки и образования*, № 3. Доступно по ссылке: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26428> [дата обращения: 05.06.2017].
11. Минприроды России (2014). Приказ № 536 от 4 декабря 2014 г. *Об утверждении Критериев отнесения отходов к I–V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду*.
12. Синовец, С. Ю., Пяткова, С. В., Козьмин, Г. В. (2009). Экспериментальное обоснование использования аллюм-теста в радиологическом мониторинге. *Известия высших учебных заведений. Радиоэнергетика*, № 1, сс. 32–38.
13. Филенко, О. Ф., Терехова, В. А. (2016). Экологическое предназначение биотестирования. *Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы*. М.: МГУ, сс. 232–239.
14. ФР.1.39.2007.03222. (2007). *Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний*. М.: Акварос, 51 с.
15. Brack, W., Ait-Aissa, S., Burgess, R. M. (2016). Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments. An in-depth overview. *Science of The Total Environmental*, vol. 544, pp. 1073–1118.
16. Beuth Verlag (2009). DIN EN ISO 15088:2009-06. Water quality. Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (*Danio rerio*) (ISO 15088:2007) [online] Доступно по ссылке: <https://www.beuth.de/en/standard/din-en-iso-15088/113162875> [дата обращения 07.06.2018]
17. Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on nontarget organisms. *Science of the total environment*, vol. 346, pp. 87–98.
18. ISO 6341:2012. (2012). *Water quality. Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)*. Geneva: International Organization for Standardization, 22 p.
19. Kramer, K. J., Botterweg, J. (1991). Aquatic biological early warning systems: an overview. *Bioindicators and environmental management*. London: Academic Press, pp. 95–126.
20. Lammer, E., Carr, G. J., Wendler, K. (2009). Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*, № 149 (2), pp. 196–209.
21. Mikol, Y. B., Richardson, W. R., Van der Schalie, W. H. (2007). An online real-time biomonitor for contaminant surveillance in water supplies. *Journal american water works association*, № 99 (2), pp. 107–115.
22. Odum, E. P., Odum, H. T. (1953). *Fundamentals of Ecology*. Philadelphia: W. B. Saunders, 574 p.
23. Olkova, A. S., Kantor, G. Y., Kutjavina, T. I. Ashikhmina, T. Y. (2018). The importance of maintenance conditions of *Daphnia magna* Straus as a test organism for ecotoxicological analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(2), pp. 376–384.
24. Ostfeld, A., Salomons, E. (2004). Optimal layout of early warning detection stations for water distribution systems security. *Journal of water resources planning and management*, 130 (5), pp. 377–385.
25. Pandard, P., Devillers, J., Charissou, A. M., Poulsen, V. (2006). Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Science of the total environment*, vol. 363, pp. 114–125.
26. Passos, J. L., Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Barreto, R. W. (2010). Effects of *Corynespora cassiicola* on *Lantana camara*. *Planta Daninha*, vol. 28, pp. 229–237.
27. Poirier, D. G., Westlake, G. F., Abernethy, S. G. (1988). *Daphnia magna acute lethality toxicity test protocol*. Ontario: Queen's Printer for Ontario, 32 с.
28. Repetto, G., Jos, A., Hazen, M.J., Molero, M. L. (2001). A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol. *Toxicol in Vitro*, vol. 15, pp. 503–509.
29. Storey, M. V., Van der Gaag, B., Burns, B. P. (2011). Advances in on-line drinking water quality monitoring and early warning systems. *Water Research*, 45(2), pp. 741–747.
30. Tousova, Z., Oswald, P., Slobodnik, J., Blaha, L. (2017). European demonstration program on the effect-based and chemical identification and monitoring of organic pollutants in European surface waters. *Science of the total environment*, vol. 601–602, pp. 1849–1868.
31. Biesinger, K., Williams, L., van der Schalie, W. (1987). *Users Guide: Procedures for conducting *Daphnia magna* toxicity bioassays*. Las Vegas: US Environmental Protection Agency, 56 p.

32. Vincze, K., Graf, K., Scheil, V., Köhler, H.-R. (2014). Embryotoxic and proteotoxic effects of water and sediment from the Neckar River (Southern Germany) to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Sciences Europe*, vol. 26, pp. 26–30.

33. Xia, P., Zhang, X., Zhang, H., Wang, P. (2017). Benchmarking water quality from wastewater to drinking waters using reduced transcriptome of human cells. *Environmental science and technology*, vol. 51 (16), pp. 9318–9326.

34. Zovko, M., Vidaković-Cifrek, Ž., Cvetković, Ž., Bošnjir, J. (2015). Assessment of acrylamide toxicity using a battery of standardised bioassays. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, vol. 66, pp. 315–321.

References

1. Belinskaya, E. A., Mazina, S. E., Zykova, G. V., Zvolinskiy, V. P. (2017). Biotestirovaniye stoykikh organicheskikh zagryazniteley i politsiklicheskikh aromatcheskikh uglevodorodov [Biotesting of persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons]. *Uspekhi sovremennoy nauki*, 5 (1), pp. 35–43. (in Russian).

2. Vorobyeva, O. V., Filenko, O. F., Isakova, E. F. (2013). Izmeneniya plodovitosti laboratornoy kultury *D. magna* [Changes in the fertility of laboratory culture *D. magna*]. *Perspektivy nauki*, № 9 (48), pp. 11–14 (in Russian).

3. Kutsenko, S. A. (2004). *Osnovy toksikologii* [Basics of Toxicology]. SPb.: Foliant, 720 p. (in Russian).

4. Lesnikov, L. A., Mosiyenko, T. K. (1992). *Priyemy bioindikatsii, biotestirovaniya pri tekushchem nadzore za zagryaznennostyu vodnykh ob'yektov i vyyavlenii prevysheniya ikh assimiliruyushchey sposobnosti. Metodicheskiye ukazaniya* [Methods of bioindication, biotesting with the current supervision of the contamination of water bodies and the detection of excess of their assimilating ability. Methodical instructions]. SPb.: GosNIORKh, 79 p. (in Russian).

5. Matorin, D. N., Venediktov, P. S. (2009). Biotestirovaniye toksichnosti vod po skorosti pogloshcheniya dafniyami mikrovdorosley, registriruyemykh s pomoshchyu fluoretsentsii khlorofilla. [Biotesting of water toxicity by the rate of absorption of daphnia microalgae, recorded by fluorescence of chlorophyll]. *Vestnik Moskovskogo un-ta. Seriya 16. Biologiya*, № 3, p. 28–33. (in Russian).

6. Misyko, G. N., Tushkova, G. I., Tskhay, I. V. (2001). *Daphnia magna* (Crustacea Cladocera) kak test-obyekt v optimalnykh usloviyakh laboratornogo kultivirovaniya [Daphnia magna (Crustacea Cladocera) as a test object under optimal conditions of laboratory cultivation]. *Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta*, № 3, pp. 83–86. (in Russian).

7. Nikanorov, A. M., Zhulidov, A. V. (1991). *Biomonitoring metallov v presnovodnykh ekosistemakh* [Biomonitoring of metals in freshwater ecosystems]. L.: Gidrometeoizdat, 312 p. (in Russian).

8. Nikanorov, A. M., Trunov, N. M. (1999). *Vnutrivodoyemnyye protsessy i kontrol kachestva prirodnykh vod* [Intra-water processes and quality control of natural waters]. SPb.: Gidrometeoizdat, 150 p. (in Russian).

9. Nikanorov, A. M., Khoruzhaya, T. A., Brazhnikova, L. V., Zhulidov, A. V. (2000). *Monitoring kachestva vod: otsenka toksichnosti* [Monitoring of water quality: assessment of toxicity]. SPb.: Gidrometeoizdat, 159 p. (in Russian).

10. Olkova, A. S., Sannikova, E. A., Budina, D. V., Kutuyavina, T. I., Zimonina, N. M. (2017). Otsenka toksichnosti prirodnykh i tekhnogennykh sred po dvigatelnoy aktivnosti *Daphnia magna* [Assessment of the toxicity of natural and man-made media for motor activity *Daphnia magna*]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, № 3. [online] Available at: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26428> [accessed on 05.06.2017]. (in Russian).

11. Minprirody Rossii (2014). Prikaz № 536 ot 4 dekabrya 2014 g. Ob utverzhdenii Kriteriev otneseniya othodov k I-V klassam opasnosti po stepeni negativnogo vozdeystviya na okruzhayushchuyu sredu [On approval of the Criteria for classifying wastes as hazard classes I–V according to the degree of negative impact on the environment]. (in Russian).

12. Sinovets, S. Yu., Pyatkova, S. V., Kozmin, G. V. (2009). Eksperimentalnoye obosnovaniye ispolzovaniya allium-testa v radiologicheskom monitoringe [Experimental substantiation of the use of the allium test in radiological monitoring]. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Radioenergetika*, №1, p. 32–38. (in Russian).

13. Filenko, O. F., Terekhova, V. A. (2016). Ekologicheskoye prednaznacheniyе biotestirovaniya [Ecological purpose of biotesting]. In: *Biodiagnostika i otsenka kachestva prirodnoy sredy: podkhody, metody, kriterii i etalony sravneniya v ekotoksikologii*. M.: MGU, pp. 232–239. (in Russian).

14. FR.1.39.2007.03222. (2007). Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy [The methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and the change in the fertility of daphnia]. M.: Akvaros. (in Russian).

15. Brack, W., Ait-Aissa, S., Burgess, R. M. (2016). Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments. An in-depth overview. *Science of The Total Environment*, vol. 544, pp. 1073–1118.

16. Beuth Verlag (2009). DIN EN ISO 15088:2009-06. Water quality. Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (*Danio rerio*) (ISO 15088:2007) [online]. Доступно по ссылке: <https://www.beuth.de/en/standard/din-en-iso-15088/113162875> [дата обращения 07.06.2018].

17. Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on nontarget organisms. *Science of the total environment*, vol. 346, pp. 87–98.

18. ISO 6341:2012. (2012). Water quality. Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Geneva: International Organization for Standardization, 22 p.

19. Kramer, K. J., Botterweg, J. (1991). Aquatic biological early warning systems: an overview. Bioindicators and environmental management. London: Academic Press, pp. 95–126.

20. Lammer, E., Carr, G. J., Wendler, K. (2009). Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*, № 149 (2), pp. 196–209.

21. Mikol, Y. B., Richardson, W. R., van der Schalie, W. H. (2007). An online real-time biomonitor for contaminant

surveillance in water supplies. Journal american water works association, № 99 (2), pp.107–115.

22. Odum, E. P., Odum, H. T. (1953). Fundamentals of Ecology. Philadelphia: W. B. Saunders, 574 p.

23. Olkova, A. S., Kantor, G. Y., Kutyavina, T. I. Ashikhmina, T. Y. (2018). The importance of maintenance conditions of *Daphnia magna* Straus as a test organism for ecotoxicological analysis. Environmental Toxicology and Chemistry, 37(2), pp. 376–384.

24. Ostfeld, A., Salomons, E. (2004). Optimal layout of early warning detection stations for water distribution systems security. Journal of water resources planning and management, 130 (5), pp. 377–385.

25. Pandard, P., Devillers, J., Charissou, A. M., Poulsen, V. (2006). Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. Science of the total environment, vol. 363, pp. 114–125.

26. Passos, J. L., Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Barreto, R. W. (2010). Effects of *Corynespora cassiicola* on *Lantana camara*. Planta Daninha, vol. 28, pp. 229–237 Poirier, D. G., Westlake, G. F., Abernethy, S. G. (1988). *Daphnia magna* acute lethality toxicity test protocol. Ontario: Queen's Printer for Ontario, 32 c.

27. Repetto, G., Jos, A., Hazen, M. J., Molero, M. L. (2001). A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol. Toxicol in Vitro, vol. 15, pp. 503–509.

28. Storey, M. V., van der Gaag, B., Burns, B. P. (2011). Advances in on-line drinking water quality monitoring and early warning systems. Water Research, 45(2), pp. 741–747.

29. Tousova, Z., Oswald, P., Slobodnik, J., Blaha, L. (2017). European demonstration program on the effect-based

and chemical identification and monitoring of organic pollutants in European surface waters. Science of the total environment, vol. 601–602, pp. 1849–1868.

30. Biesinger, K., Williams, L., van der Schalie, W. (1987). Users Guide: Procedures for conducting *Daphnia magna* toxicity bioassays. Las Vegas: US Environmental Protection Agency, 56 p.

31. Vincze, K., Graf, K., Scheil, V., Köhler, H.-R. (2014). Embryotoxic and proteotoxic effects of water and sediment from the Neckar River (Southern Germany) to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Environmental Sciences Europe, vol. 26, pp. 26–30.

32. Xia, P., Zhang, X., Zhang, H., Wang, P. (2017). Benchmarking water quality from wastewater to drinking waters using reduced transcriptome of human cells. Environmental science and technology, vol. 51 (16), pp. 9318–9326.

33. Zovko, M., Vidaković-Cifrek, Ž., Cvetković, Ž., Bošnjir, J. (2015). Assessment of acrylamide toxicity using a battery of standardised bioassays. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, vol. 66, pp. 315–321

Автор

Олькова Анна Сергеевна, канд. техн. наук, доцент

Вятский государственный университет

E-mail: morgan-abend@mail.ru

Author

Olkova Anna Sergeevna, PhD in Engineering, assistant professor

Vyatka State University

E-mail: morgan-abend@mail.ru