

ВЫБОР БИОТЕСТОВ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ МИНЕРАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ АЗОТА

Олькова А. С., Маханова Е. В.

SELECTION OF BIOASSAY FOR ECOLOGICAL RESEARCH OF WATER, POLLUTED BY MINERAL NITROGEN FORMS

Olkova A. S., Mahanova E. V.

Аннотация

Введение: в работе представлена апробация алгоритма выбора наиболее чувствительных биотестов на примере загрязнения природных вод минеральными формами азота. Подход отличается тем, что сравнивается информативность методов в условиях конкретного загрязнения, а не биологических видов тест-организмов. Биодиагностика выбранных токсикантов актуальна для многих поверхностных и подземных вод. Наличие ионов аммония в сверхнормативных дозах, указывает на свежее загрязнение и близость источника загрязнения. Нитраты без нитритов и аммония указывают на давнее загрязнение. Нитрит-ион — это конечный продукт окисления азотсодержащих органических веществ. **Методы и материалы:** исследование заключалось в биотестировании природной воды с возрастающими добавками нитритов, нитратов и ионов аммония. Тестировали растворы с внесением одного вещества и их смеси. Сравнивали чувствительность биотестов по смертности *Daphnia magna*, *Ceriodadhnia affinis*, хемотаксису *Paramecium caudatum*, изменению биолюминесценции *Escherichia coli*. **Результаты:** добавки 5 и 10 ПДК нитритов и нитратов не вызывали гибели *D. magna* и *C. affinis* более 50 %, но угнетали плодовитость рачков. Максимальный токсический эффект в дозах 5 и 10 ПДК отмечен для ионов аммония: плодовитость *D. magna* снизилась в 4,4 раза по сравнению с чистой водой, а для *C. affinis* эти дозы оказались летальными. При дальнейшем повышении концентраций действующих веществ чувствительность низших ракообразных ранжировали по времени гибели всех особей. По тест-системе «Эколюм» (*E. coli*) эффекты минеральных форм азота возрастали в ряду $(\text{NO}_2^-) < (\text{NO}_3^-) < (\text{NH}_4^+)$, причем нитраты стимулировали биолюминесценцию во всех испытанных дозах (от 5 до 100 ПДК). Тест по хемотаксису инфузорий *P. caudatum* был чувствительнее бактериального биотеста. При совместном внесении нитритов и ионов аммония, а также нитратов и ионов аммония тенденции чувствительности биотестов сохранились. Показано, что минеральные формы азота при совместном присутствии усиливают действие друг друга. **Заключение:** при отдельном загрязнении нитрат- и нитрит-ионами, а также комплексном загрязнении нитрат-ионами и ионами аммония соблюдается ряд чувствительности: биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм». При загрязнении ионами аммония, а также при комплексном загрязнении нитрит-ионами и ионами аммония рекомендуется ориентироваться на биотесты в порядке убывания чувствительности: биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм» > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum*.

Ключевые слова: биотестирование, чувствительность биотестов, загрязнение воды, нитрат-ион, нитрит-ион, аммоний.

Abstract

The paper presents testing of an algorithm for selecting the most sensitive bioassays based on the example of natural waters pollution with mineral forms of nitrogen. The approach is different in that it compares the informativeness of methods under the conditions of specific pollution, rather than biological species of test organisms. Biodiagnostics of selected toxicants is relevant for many surface and ground waters. The presence of ammonium ions in excess doses indicates fresh pollution and the proximity of a source of pollution. Nitrates without nitrites and ammonium indicate long-standing pollution. Nitrite ions represent a final product of oxidation of nitrogen-containing organic substances. The study consisted of a bioassay of natural water with increasing additions of nitrites, nitrates and ammonium ions. Solutions with one substance (as well as their mixtures) introduced were tested. The sensitivity of bioassays by the mortality of *Daphnia magna*, *Ceriodadhnia affinis*, chemotaxis of *Paramecium caudatum*, changes in the bioluminescence of *Escherichia coli* was compared. Additives of nitrites and nitrates in the doses of 5 and 10 MPC (maximum permissible concentrations) did not cause the death of more than 50 % *D. magna* and *C. affinis* organisms but inhibited the fertility of crustaceans. The maximum toxic effect in the doses of 5 and 10 MPC was established for ammonium ions: the fertility of *D. magna* decreased by 4.4 times compared to pure water, and for *C. affinis* those doses were lethal. With a further increase in concentrations of active substances, the sensitivity of crustaceans was ranked by the time of death of all individuals. According to the Ecolum test system (*E. coli*), effects of mineral forms of nitrogen increased in the following series: $(\text{NO}_2^-) < (\text{NO}_3^-) < (\text{NH}_4^+)$, with nitrates stimulating bioluminescence in all tested doses (from 5 to 100 MPC). The assay for chemotaxis of infusorians *P. caudatum* was more sensitive than the bacterial bioassay. Mixtures of nitrites and ammonium ions, as well as nitrates and ammonium ions have confirmed those trends. It is shown that mineral forms of nitrogen enhance the effect of each other in the joint presence. A series of bioassay sensitivity was built for separate pollution with nitrate and nitrite ions, as well as integrated pollution with nitrate ions and ammonium ions: bioassay for the mortality of *C. affinis* > bioassay for the mortality of *D. magna* > bioassay for changes in chemotaxis of *P. caudatum* > bioassay to reduce bioluminescence using the Ecolum test system. Upon pollution with ammonium ions or integrated pollution with nitrite ions and ammonium ions, it is recommended to use the following series of bioassays in order of decreasing sensitivity: bioassay for the mortality of *C. affinis* > bioassay for the mortality of *D. magna* > bioassay to reduce bioluminescence using the Ecolum test system > bioassay for changes in chemotaxis of *P. caudatum*.

Keywords: bioassay, bioassay sensitivity, water pollution, nitrate ion, nitrite ion, ammonium.

Введение

Огромное разнообразие используемых для диагностики состояния окружающей среды методов биотестирования как аттестованных, так и научно-исследовательских не решает проблему их выбора при планировании экологических исследований. На практике при выборе методов биотестирования (биотестов) всегда отталкиваются от тех культур организмов, которые есть в наличии у лаборатории или исследовательского коллектива. При этом необходимо иметь сведения о специфической чувствительности не только выбранных тест-организмов к предполагаемому приоритетному загрязнению водной среды, но и чувствительности конкретных биотестов, основанных на учете строго определенных реакций организмов.

Для решения этой практической задачи в работе [6] нами был предложен алгоритм выбора биотестов для экологических исследований. В наиболее кратком изложении он сводится к следующему:

1) установление нелетальных и летальных доз токсиканта по базовому биотесту (гибели *D. magna*);

2) выбор иных доступных биотестов и тестирование с их помощью нелетальных и летальных доз для *D. magna*;

3) дополнение исследований при необходимости опытами на установление хронических токсических воздействий; например, необходимость может возникать при загрязнении среды биогенными элементами или иными веществами, обладающими эффектами стимуляции в «острых» опытах;

4) сопоставление полученных результатов по разным биотестам и распределение их в ряду чувствительности к интересующему токсиканту.

Представленная работа посвящена апробации алгоритма выбора биотестов для экологических исследований территорий, природные воды которых регулярно загрязняются минеральным техногенным азотом. К этим поллютантам относят нитраты, нитриты, ионы аммония. По положениям глобальной системы мониторинга окружающей среды (ГСМОС/GEMS) нитраты и нитриты входят в план-программы обязательного наблюдения за химическим составом питьевых вод, а также относятся к наиболее важным показате-

лям степени загрязнения и трофического статуса природных водоемов [15].

Самыми распространенными антропогенными источниками поступления минерального азота в окружающую среду, в частности природные водоемы и водотоки, являются заводы по производству минеральных удобрений, а также те объекты химической промышленности, которые используют азотную кислоту как сырье. Например, в Кировской области данная проблема свойственна поверхностным водным объектам зоны воздействия комплекса предприятий г. Кирово-Чепецка Кировской области. Отходы и сточные воды этих предприятий химической отрасли влияют на качество воды в притоках Вятки — основной водной артерии Кировской области [3].

Растениеводство как главный потребитель азотных удобрений на фоне промывного режима почв является основным антропогенным источником соединений азота в водных объектах. В европейских странах отмечается высокая опасность загрязнения подземных вод из-за потребностей сельского хозяйства в минеральных азотных удобрениях [16]. По сей день наиболее эффективной мерой предотвращения чрезмерного загрязнения поверхностных и подземных вод минеральными формами азота является сохранение естественных геохимических барьеров, например, водно-болотных угодий [20].

В результате указанных источников загрязнения поверхностные и подземные воды нередко содержат минеральный азот выше регламентированных природоохранных норм. Вместе с фосфатами минеральные соли азота становятся пусковым механизмом эвтрофикации водоемов. Поступление в воды минеральных азотных удобрений приводит к размножению наиболее негативной для водоемов флоры — цианобактерий, выделяющих специфические токсины [14]. Также при исследовании водных объектов Ямало-Ненецкого автономного округа было показано, что в воде озер, не имеющих прямого поступления в них сточных и фильтрационных вод, снижается уровень рН вследствие кислотных осадков, формирующихся под влиянием выбросов азота и серы [1]. В поверхностных водных объектах минеральные формы азота далее накапливаются в донных отложениях, влияя на бентосные организмы [18].

При токсикологическом анализе природных и сточных вод, загрязненных минеральными солями азота в различных сочетаниях могут наблюдаться проблемы с трактовкой получаемых результатов. Азот, как биогенный элемент, в относительно низких дозах вызывает стимуляцию оцениваемых реакций живых организмов. При дальнейшем же повышении концентрации неминуемо наступают эффекты угнетения тест-функций. Такая инверсия ответных реакций требует одновременного использования нескольких тест-организмов, обладающих разной чувствительностью к обсуждаемому загрязнению. Следовательно, установление ответных реакций и рядов чувствительности наиболее распространенных биотестов является актуальным исследованием.

Целью работы были испытания четырех аттестованных биотестов для ранжирования их по степени чувствительности к загрязнению природных и техногенных вод минеральными формами азота.

Методы и материалы

В большинстве аккредитованных лабораторий наибольшей популярностью пользуются биотесты по смертности низших ракообразных, а также так называемые экспресс-биотесты, в которых оцениваются различные реакции микроорганизмов. Согласно этой тенденции и для достижения цели работы нами были выбраны следующие методы биотестирования:

- биотест по смертности и плодовитости *Daphnia magna* Straus (1820) [10];
- биотест по смертности и плодовитости *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (1900) [9];
- биотест по оценке хемотаксиса *Paramecium caudatum* Ehrenberg (1838) [11];
- биолюминесцентный биотест с использованием препарата «Эколюм» на основе условно непатогенного штамма *Escherichia coli* Migula (1895) [7].

Два вида низших ракообразных выбраны намеренно: в силу физиологических особенностей и различного предпочтения к уровню сапробности водоемов их чувствительность к загрязнению может различаться. Тесты с использованием водорослей не были включены в этот список, поскольку для растений усвоение минеральных форм азота является биологической потребностью.

Для установления чувствительности указанных биотестов проводили модельные опыты. В артезианскую воду питьевого качества вносили нитрат натрия, нитрит натрия и хлорид аммония в разных концентрациях и сочетаниях. Эксперименты проводились в два этапа. Во-первых, были протестированы воды с добавками нелетальных и летальных доз выбранных токсикантов в условиях их индивидуального внесения. Затем провели аналогичные модельные эксперименты с совместным внесением нитратов и ионов аммония, а также нитритов и ионов аммония. При расчете добавок содержание природных азотных форм учитывалось.

Указанные соли в качестве модельных токсикантов были выбраны не случайно. В природоохранных нормативах указано, что ПДК_{рх} (рыбохозяйственный норматив) для нитратов 40 мг/дм³, у нитритов и ионов аммония значительно ниже, то есть строже — 0,08 мг/дм³ и 0,5 мг/дм³ соответственно, а для натрия и хлорид-ионов допустимо высокое содержание — 120 и 350 мг/дм³ соответственно [8]. Следовательно, после диссоциации испытуемых солей действие азотных форм на живые организмы будет превышать эффекты сопутствующих им ионов.

Утвержденные ПДК для различных форм минерального азота в водах были ориентиром для выбора действующих концентраций.

Результаты и обсуждение

Моделирование индивидуального токсического действия азотсодержащих минеральных веществ. В первую очередь тестировались относительно низкие дозы загрязнения, не оказывающие летального действия на тест-организмы. Добавки производились в чистую воду до ее загрязнения на уровне 5 и 10 ПДК в расчете на действующий ион. Контрольной средой была исходная вода без добавок. Расчеты основывались на ПДК для водоемов рыбохозяйственного назначения, так как план исследования включал биотестирование на гидробионтах, а также биолюминесцентной тест-системе «Эколюм» [8].

Низшие ракообразные *D. magna* и *C. affinis*, несмотря на близкое видовое родство, проявили разную чувствительность к минеральному азоту. Наиболее яркая разница наблюдалась при тестировании воды, загрязненной ионами ам-

мония. Для цериодафний концентрации равные 5 и 10 ПДКрх оказались летальными, поэтому опыт с исследованием действия ионов аммония (NH_4^+) на *C. affinis* был продолжен с уменьшением доз до 1 и 2,5 ПДКрх. Поскольку соединения азота — одно из наиболее распространенных видов загрязнения биогенными элементами, то биотесты по смертности ракообразных *D. magna* и *C. affinis* сразу же были дополнены испытаниями на хроническую токсичность с фиксацией плодовитости и некоторых других тест-функций (табл. 1, 2).

Загрязнение воды на уровне, достаточно часто встречающемся в поверхностных водах (5 и 10 ПДК), привело к ярким ответным реакциям *D. magna*. Особенно показательны эффекты в отношении плодовитости организмов: несмотря на биогенную природу азота в большинстве вариантов наблюдалось снижение фертильности рачков (табл. 1). Нитрат-ионы оказывали наименьший эффект: доза в 5 ПДКрх угнетала размножение, но данные оказались недостоверны. На втором месте по влиянию на плодовитость расположились нитрит-ионы, снизившие показатель в 2,6 (5 ПДКрх) и 2,2 (10 ПДКрх) раза. К максимальному подавлению размножения *D. magna* привели добавки ионов аммония.

В качестве дополнительных показателей состояния тест-организмов *D. magna* в течение эксперимента фиксировали количество абортивных яиц и мертворожденной молодежи. Данные эффекты не были массовыми в вариантах опыта, поэтому приводим учтенные факты в целом на вариант (сумма по трем параллельным определениям). Количество мертворожденной молодежи

было единичным во всех вариантах либо не наблюдалось. Наибольшее количество абортивных яиц отмечено при загрязнении воды ионами аммония (NH_4^+).

В биотесте по ответным реакциям цериодафний учитывали только гибель (табл. 2).

Как было сказано выше, *C. affinis* оказались чувствительнее ко всем формам азота, чем *D. magna*. Максимальный эффект ионов аммония сохранился и в этой серии экспериментов. Минимальная тестируемая концентрация аммония (1 ПДК) не оказала влияния в хроническом опыте по показателю снижения плодовитости, но наблюдалась высокая смертность взрослых особей. Она достигла критического уровня в 20 %, что в соответствии с используемой методикой интерпретируется как хронический токсический эффект по показателю гибели. Повышение дозы аммонийного азота до 2,5 ПДК уже приводило к достоверному угнетению способности к размножению цериодафний в 1,7 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контролем, но смертность оставалась на уровне случайной — 10 %.

C. affinis по сравнению с *D. magna* проявили большую чувствительность к нитрат-ионам, чем к нитритам. Количество молодежи в расчете на одну самку при воздействии (NO_3^-) снижается в 3,8 (5 ПДКрх) и 3,1 (10 ПДКрх) раза, тогда как негативный эффект (NO_2^-) ниже, — не более чем в 2 раза без достоверных различий между дозами.

Полученные результаты свидетельствуют о повышенной чувствительности *C. affinis* к минеральным формам азота. Это подтверждается и литературными сведениями. Имеются данные

Таблица 1

Реакции *D. magna* на загрязнение вод нитрат-, нитрит-ионами и ионами аммония

Показатели	Вариант						
	Контроль	Нитрат ион (NO_3^-)		Нитрит ион (NO_2^-)		Ион аммония (NH_4^+)	
		5 ПДКрх	10 ПДКрх	5 ПДКрх	10 ПДКрх	5 ПДКрх	10 ПДКрх
Смертность, % к контролю**	0	5	5	7,5	0	2,5	5
Плодовитость, шт./1 самку.	9,3±0,7	7,3±1,1	5,7±0,1*	3,6±1,1*	4,2±0,1*	2,9±0,5*	2,1±0,2*
Абортивные яйца, шт./вариант	0	5	1	8	6	4	12
Мертвая молодежь, шт./вариант	0	1	4	0	1	1	0

* Различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ** погрешность в пределах норматива методики [10].

Таблица 2

Реакции *C. affinis* на загрязнение вод нитрат-, нитрит-ионами и ионами аммония

Показатели	Вариант						
	Контроль	Нитрат ион (NO ₃ ⁻)		Нитрит ион (NO ₂ ⁻)		Ион аммония (NH ₄ ⁺)	
		5 ПДКрх	10 ПДКрх	5 ПДКрх	10 ПДКрх	2,5 ПДКрх	1 ПДКрх
Смертность, % к контролю**	0	10	0	0	0	10	20
Плодовитость, шт./ 1 самку	25,3±3,4	6,7±2,2*	8,3±3,5*	13,3±5,7*	12,7±5,9*	14,6±4,3*	24,7±8,0

* Различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ** погрешность в пределах норматива методики [9].

о целесообразности использования *C. affinis* для контроля различного загрязнения вод, в том числе эвтрофицированных водоемов [2, 17].

Эксперимент был продолжен с использованием экспресс-биотестов, в которых оцениваются предлетальные тест-функции. Тестировались растворы с добавками солей азота, концентрации которых не были летальными для дафний (табл. 3, 4).

Согласно биотесту с использованием бактериального препарата «Эколюм» токсичность минерального азота возрастала в следующем ряду: (NO₂⁻) < (NO₃⁻) < (NH₄⁺). В ответ на действие нитрат- и нитрит-ионов наблюдалась стимуляция билюминесценции, что отражено в табл. 3 отрицательными значениями индексов токсичности. При биотестировании природных вод с богатым минеральным составом такие эффекты крайне сложно интерпретировать. Именно поэтому необходимо ориентироваться на ответные реакции нескольких организмов в конкретных биотестах, основываясь на фактах о чувствительности и устойчивости каждого из них.

Используемые нами экспресс-методики биотестирования позволяют ранжировать токсичность в зависимости от значений индексов токсичности. В биотесте по тест системе «Эколюм» действие нитрит- и нитрат-ионов характеризова-

лось I группой токсичности (пробы не токсичны), а ионов аммония — III группой токсичности (пробы сильно токсичны).

Общие тенденции в ответных реакциях инфузорий *P. caudatum* на загрязнение водной среды минеральными формами азота сохранились (табл. 4).

Инфузории, как и бактериальный препарат «Эколюм», отреагировали стимуляцией на добавки нитрат- и нитрит-ионов в концентрациях равных 5 и 10 ПДКрх. Это объяснимо тем, что многие простейшие, в том числе *P. caudatum*, являются обитателями водоемов с высоким индексом сапробности, свидетельствующем об относительной насыщенности воды органическими веществами, способными поставлять при разложении, кроме прочего, и минеральный азот [4]. Снижение способности к хемотаксису наблюдалось в воде с аммонийным загрязнением. Однако эффект оказался слабее, чем при тестировании с помощью бактериальной тест-системы «Эколюм». В итоге растворы соли аммония были отнесены ко II группе токсичности из трех возможных — «умеренная степень токсичности».

Далее решали задачу по поиску доз, летальных для низших ракообразных. Для этого тестировали растворы с изучаемыми веществами в диапазоне доз от 25 до 100 ПДКрх. Эти же рас-

Таблица 3

Влияние минеральных форм азота на бактериальную тест-систему «Эколюм»

Концентрация действующего вещества (ПДКрх)	Вариант		
	Нитрат-ион (NO ₃ ⁻)	Нитрит-ион (NO ₂ ⁻)	Ион аммония (NH ₄ ⁺)
5	(-2,3) ± 1,1 I группа	(-155,2) ± 8,8 I группа	66,1 ± 1,9 III группа
10	(-15,3) ± 5,7 I группа	(-181,3) ± 10,8 I группа	70,9 ± 2,3 III группа

Примечание: I группа — образец не токсичен, II — образец токсичен; III группа — образец сильно токсичен [7].

творы оценили с помощью экспресс-биотестов (табл. 5).

Загрязнение воды минеральным азотом в концентрациях от 25 до 100 ПДК по действующим ионам в большинстве вариантов опыта оказалось летальным для дафний *D. magna* и *C. affinis*. В одном варианте — 25 ПДКрх по нитрат-иону — в конце 96-часового опыта несколько рачков *D. magna* остались живы. В остальных тестируемых вариантах варьировало только время наступления 100 %-ной гибели рачков, указанное в табл. 5. Наблюдалось закономерное уменьшение экспозиции, приводящее к полной гибели подопытных дафний, в ответ на увеличение концентрации действующих веществ.

У *C. affinis* также учитывали время наступления гибели всех особей. При сравнении летальных экспозиций *C. affinis* и *D. magna* подтвердилась большая чувствительность *C. affinis* к загрязнению минеральными формами азота (табл. 5).

Инфузории и бактерии проявили большую устойчивость в условиях азотного загрязнения. В биотесте по реакции «Эколюм» эффект стимуляции при воздействии нитрат-ионов сохранялся в диапазоне доз от 25 до 100 ПДКрх, а также при дополнительном тестировании растворов, содержащих 150 и 200 ПДК. Этот эффект сохранялся и при внесении загрязнения в дистиллированную воду (в основном опыте растворы готовили на артезианской воде). Дополнительный опыт с дистиллированной водой подтвердил, что эффект стимуляции в ответ на нитраты — это специфическая реакция используемой тест-системы, а не эффекты совместного действия веществ, присутствующие природным водам. Отметим, что добавки (NO_3^-) в дистиллированную воду, аналогичные сделанным в природную воду, в дистилляте вызывали еще более усиленную стимуляцию све-

чения бактерий. Например, показатель токсичности при тестировании раствора, содержащего 100 ПДКрх нитрата, в дистиллированной воде был равен $(-244,6) \pm 27,7$, а в питьевой воде $(-113,9) \pm 10,3$.

Инфузории *P. caudatum* в эксперименте с нитратами проявили большую чувствительность по сравнению с тест-системой «Эколюм». Хемотаксис простейших закономерно угнетался в ответ на добавки в воду 50 ПДКрх нитрата натрия и больших доз. Положительные индексы токсичности интерпретировать гораздо проще, потому при нитратном загрязнении инфузории оказываются более предпочтительными, чем бактериальная тест-система.

Ответные реакции на нитрит-ионы у инфузорий *P. caudatum* и бактериального препарата «Эколюм» оказались близкими. Наблюдался закономерный рост индексов токсичности в ответ на повышение концентраций токсикантов, однако модельные растворы, содержащие 25–100 ПДКрх, относились по классификации используемых методик к I группе токсичности. При биотестировании проб с добавками 150 и 200 ПДКрх токсичность возросла до II группы токсичности для «Эколюм» ($24,9 \pm 7,1$ и $26,0 \pm 2,5$ соответственно). В эксперименте с использованием инфузорий II группой характеризовался только раствор с 200 ПДКрх нитритов ($0,44 \pm 0,06$). Наибольшее снижение оцениваемых ответных реакций организмов регистрировалось при биотестировании растворов соли аммония. Большинство образцов характеризовались III группой токсичности для обоих тест-организмов.

Сравнение реакций низших ракообразных *D. magna* и *C. affinis* в биотестах по их гибели и ответов микроорганизмов по методикам с оценкой предлетальных функций показало, что тесты с использованием дафний чувствительнее к

Таблица 4

Влияние минеральных форм азота на хемотаксис инфузорий *P. caudatum*

Концентрация действующего вещества (ПДКрх)	Вариант		
	Нитрат ион (NO_3^-)	Нитрит ион (NO_2^-)	Ион аммония (NH_4^+)
5	$(-0,21) \pm 0,08$ I группа	$(-0,16) \pm 0,05$ I группа	$0,44 \pm 0,02$ II группа
10	$(-0,29) \pm 0,03$ I группа	$(-0,11) \pm 0,04$ I группа	$0,53 \pm 0,03$ II группа

Примечание: I группа — допустимая степень токсичности, II группа — умеренная степень токсичности, III — высокая степень токсичности [11].

чем в контроле. Причиной этого может быть повышенная смертность взрослых особей в исследуемых пробах, увеличение жизненного пространства, что стимулирует размножение дафний даже при условии коррекции объема корма. Влияние плотности посадки дафний на их основные тест-функции показано в работе [19].

Наличие эффекта стимуляции рождаемости молоди отличает воздействие комплекса азотсодержащих веществ от влияния растворов с одним действующим ионом. С одной стороны, стимуляция в установленных пределах может быть диагностическим признаком такого комплексного загрязнения. С другой стороны, явления стимуляции всегда крайне сложно интерпретировать, так как наличие органического вещества в пробах, микроэлементов, природных колоний водорослей (некоторые виды которых проникают через фильтр «белая лента») могут приводить к увеличению потомства.

В этом случае наличие таких патологических отклонений, как абортивные яйца и мертворожденная молодь, отмеченные только в опытных образцах, могут помочь в диагностике загрязнения.

Для сравнения чувствительности тест-организмов аналогичные опыты были проведены с цериодафниями. В первую очередь установили, что для данных тест-организмов добавки по 5 и 10 ПДК двух разных форм минерального азота в тестируемую среду являются летальными. Поэтому далее было принято решение тестировать смеси веществ в разбавлении до 2,5 и 1 ПДК каждого из действующих ионов. Результаты эксперимента отражены в табл. 7.

Дозы в 2,5 ПДКрх по двум действующим ионам оказались для цериодафний токсичными как по показателю гибели взрослых особей, так и по угнетению плодовитости. В этих вариантах рачки не смогли оставить потомство. Снижение концентрации до 1 ПДКрх позволило 80% особей выжить в обоих тестируемых вариантах, а также оставить потомство. Количество потомства было достоверно ниже, чем в контроле, то есть эффект стимуляции плодовитости комплексом минеральных форм азота у цериодафний не проявился. Это также делает их более предпочтительными тест-организмами для оценки токсичности водных сред, потенциально загрязненных минеральным азотом.

Таблица 6

Реакции *D. magna* на загрязнение вод комплексом азотсодержащих веществ (экспозиция 24 дня)

Показатели	Вариант				
	Контроль	Нитрат-ион и ион аммония		Нитрит-ион и ион аммония	
		5 ПДКрх	10 ПДКрх	5 ПДКрх	10 ПДКрх
Смертность дафний в опыте, в % к контролю	0	40	42,5	100	100
Среднее количество потомства, шт./ 1 самку.	17,1±0,2	31,8±4,1*	48,0±2,4*	36,6±1,5*	0
Абортивные яйца, шт./вариант	0	6	8	10	0
Мертворожденные особи, шт./вариант	0	3	4	5	0

Различия достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,05$); ** погрешность показателя в пределах норматива методики [10].

Таблица 7

Реакции *C. affinis* на загрязнение вод комплексом азотсодержащих веществ (экспозиция 12 дней)

Показатели	Вариант				
	Контроль	Нитрат-ион и ион аммония		Нитрит-ион и ион аммония	
		2,5 ПДК	1 ПДК	2,5 ПДК	1 ПДК
Смертность дафний в опыте, в % к контролю	0	70	20	60	20
Среднее количество потомства, шт./ 1 самку.	14,7±2,9	0	8,1±1,4*	0	6,5±0,9*

* Различия достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,05$), ** погрешность в пределах норматива методики [9].

Согласно принятой схеме эксперимента далее тестировались концентрации, оказывающие летальный эффект на низших ракообразных, в биотестах по *P. caudatum* и тест-системе «Эколюм» (табл. 8).

При воздействии на организмы смеси нитрат-ионов и ионов аммония в биотесте по тест-системе «Эколюм» наблюдали инверсию ответной реакции: дозы веществ, равные 1 и 2,5 ПДК действующих ионов оказывали стимулирующий эффект на биолюминесценцию, тогда как дозы 5 и 10 ПДК вызывали угнетение свечения бактерий. Выше отмечалось, что инверсия ответных реакций нежелательна, так как усложняет интерпретацию результатов биотестирования. В то же время реакция на аналогичные растворы *P. caudatum* находится в прямой корреляционной зависимости от возрастающих доз ($r = 0,92$). По этой причине по чувствительности к обсуждаемой смеси веществ выигрывает биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum*.

Смесь действующих веществ нитрита натрия и хлорида аммония не вызывала инверсии ответной реакции у тест-системы «Эколюм». Напротив, реакция бактериального теста оказалась более выраженной по сравнению с *P. caudatum*: при добавке 1 ПДК проба была отнесена ко II группе токсичности, а последующие возрастающие концентрации — к III группе токсичности. Аналогичные растворы в биотесте на инфузориях относились только к I и II группе, поэтому в ряду чувствительности биотестов при данном сочетании веществ биолюминесцентный тест оказывается предпочтительней.

Заключение

При моделировании загрязнения природной воды питьевого качества минеральными формами азота (ионы аммония, нитрат-ионы, нитрит-ионы) в условиях их индивидуального внесения, а также сочетания выявлено:

- 5 и 10 ПДКрх всех исследуемых форм азота при индивидуальном внесении не оказывали острого токсического действия на *D. magna*, но достоверно угнетали плодовитость особей спустя 25 дней опыта. Эти же дозы веществ действовали на *C. affinis* сильнее: отмечено угнетение плодовитости *C. affinis* до 3,8 раз по сравнению с контролем, а влияние ионов аммония в дозах 5

и 10 ПДКрх оказалось для цериодафний летальным;

- в интервале летальных доз по действующему иону (25–100 ПДКрх) биотесты на двух видах низших ракообразных ранжировали по времени наступления гибели, которое для *C. affinis* в каждой серии опытов было меньше, чем для *D. magna*. Например, время гибели всех особей *D. magna* при воздействии на них 25 ПДКрх ионов аммония 2 часа, а цериодафний — всего 15 минут;

- для бактерий «Эколюм» 5 и 10 ПДК нитрат- и нитрит-ионов оказывали стимулирующее действие на биолюминесценцию, и только действие ионов аммония значительно угнетало тест-функцию (III группа токсичности). Дальнейшее увеличение тестируемых доз подтвердило, что сила воздействия минеральных форм азота для «Эколюм» возрастала в ряду: $(\text{NO}_2^-) < (\text{NO}_3^-) < (\text{NH}_4^+)$;

- реакция инфузорий *P. caudatum* на загрязнение водной среды ионами аммония также оказалась наиболее значительной (II группа токсичности для 5 и 10 ПДК);

- в итоге при индивидуальном воздействии минеральных форм азота на гидробионты были построены 2 ряда уменьшения чувствительности биотестов:

1) при загрязнении нитрат- и нитрит-ионами соблюдается ряд:

биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм»;

2) при загрязнении ионами аммония выявлен следующий ряд:

биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм» > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum*;

- при исследовании комплексного воздействия нитрит-ионов и ионов аммония, а также нитрат-ионов и ионов аммония основные закономерности подтвердились с усилением токсического влияния веществ в смеси. Как и при анализе индивидуального действия исследуемых веществ, было составлено два ряда уменьшения чувствительности биотестов:

1) при комплексном загрязнении нитрат-ионами и ионами аммония соблюдается ряд:

Результаты экспресс-биотестов вод, загрязненных комплексом азотсодержащих веществ

Биотест	Вариант							
	Нитрат-ион и ион аммония, ПДК _{рх}				Нитрит-ион и ион аммония, ПДК _{рх}			
	1	2,5	5	10	1	2,5	5	10
Изменение хемотаксиса <i>P. caudatum</i> , у.е. / группа токсичности	0,19±0,07 I группа	0,22±0,05 I группа	0,56±0,10 II группа	0,65±0,12 II группа	0,32±0,09 I группа	0,45±0,11 II группа	0,72±0,2 III группа	0,81±0,15 III группа
Биолюминесценция «Эколюм», у.е. / группа токсичности	0 (-25,8±7,9) I группа	0 (-8,4±1,6) I группа	6,0±8,7 I группа	12,1±1,0 I группа	25,7±5,1 II группа	60,9±9,2 III группа	97,9±0,5 III группа	97,7±0,4 III группа

Примечание: обозначение групп токсичности указано в примечаниях к таблицам 3 и 4.

биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм»;

2) при комплексном загрязнении нитрит-ионами и ионами аммония соблюдается ряд:

биотест по гибели *C. affinis* > биотест по гибели *D. magna* > биолюминесцентный биотест по тест-системе «Эколюм» > биотест по изменению хемотаксиса *P. caudatum*.

Таким образом, диагностику загрязнения био-генными элементами необходимо дополнять методами биотестирования с предварительным выявлением наиболее чувствительных биотестов.

Литература

1. Агбалян, Е. В., Хорошавин, В. Ю. и Шинкарук, Е. В. (2015). Оценка устойчивости озерных экосистем Ямало-Ненецкого автономного округа к кислотным выпадениям. Вестник Тюменского государственного университета, т. 1, № 1 (1), сс. 45–54.

2. Александрова, В. В. (2013). Анализ корреляционной зависимости выживаемости и плодовитости тест-объекта *Ceriodaphnia affinis* с химическим составом воды. Вестник Нижневартского государственного университета, № 3, сс. 60–63.

3. Ашихмина, Т. Я., Дабах, Е. В., Кантор, Г. Я., Лемешко, А. П., Скугорева, С. Г. и Адамович, Т. А. (2010). Изучение состояния природного комплекса в зоне влияния Кирово-Чепецкого химического комбината. Теоретическая и прикладная экология, № 3, сс. 18–26.

4. Виноходов, Д. О. (2007). Научные основы биотестирования с использованием инфузорий. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. СПб.: Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 353 с.

5. Квашин, С. В. и Кошечева, Г. С. (2006). Загрязнение питьевой воды Приишимья минеральными соединениями азота. Сибирский экологический журнал, т. 13, № 5, сс. 685–693.

6. Олькова, А. С. (2018) Актуальные направления развития методологии биотестирования водных сред. Вода и экология: проблемы и решения, № 2 (74), сс. 40–50.

7. Министерство природных ресурсов Российской Федерации (2010). ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11–04. Т.16.1:2:3:3.8–04. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». М.: Нера-С, 30 с.

8. Федеральное агентство по рыболовству (2010). Приказ № 20 от 18 января 2010 г. об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.: Росрыболовство, 369 с.

9. Акварос (2007) ФР 1.39.2007.03221. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. М.: Акварос, 54 с.

10. Акварос (2007). ФР 1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Акварос, 51 с.

11. Спектр-М (2015). ФР 1.39.2015.19242. ПНД Ф Т 16.2:2.2–98 Методика определения токсичности проб природных, питьевых, хозяйственно-питьевых, хозяйственно-бытовых сточных, очищенных сточных, сточных, талых, технологических вод экспресс-методом с применением прибора серии «Биотестер». СПб.: ООО «СПЕКТР-М», 21 с.

12. Хохряков, А. В., Студенок, А. Г., Ольховский, А. М. и Студенок, Г. А. (2005). Количественная оценка вклада взрывных работ в загрязнение дренажных вод карьеров соединениями азота. Известия высших учебных заведений. Горный журнал, № 6, сс. 29–31.

13. Delkash, M., Al-Faraj, F. A. M., Scholz, M. (2018). Impacts of anthropogenic land use changes on nutrient concentrations in surface waterbodies: a review. *Clean – Soil Air Water*, vol. 46, issue 5, article No. 1800051. <https://doi.org/10.1002/clean.201800051>

14. Erratt, K. J., Creed, I. F., Trick, Ch. G. (2018). Comparative effects of ammonium, nitrate and urea on growth and photosynthetic efficiency of three bloom-forming cyanobacteria. *Freshwater Biology*, vol. 63, issue 7, pp. 626–638. <https://doi.org/10.1111/fwb.13099>

15. Galloway, J. N. (1995). Acid deposition: perspectives in time and space. *Water, Air and Soil Pollution*, vol. 85, issue 1, pp. 15–24. <https://doi.org/10.1007/BF00483685>

16. Hashemi, F., Olesen, J. E., Jabloun, M., Hansen, A. L. (2018). Reducing uncertainty of estimated nitrogen load reductions to aquatic systems through spatially targeting agricultural mitigation measures using groundwater nitrogen reduction. *Journal of Environmental Management*, vol. 218, pp. 451–464. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.078

17. Kalinkina, N. M., Berezina, N. A., Sidorova, A. I., Belkina, N. A., Morozov, A. K. (2013). Toxicity bioassay of bottom sediments in large water bodies in Northwestern Russia with the use of crustaceans. *Water Resources*, vol. 40, issue 6, pp. 657–666. <https://doi.org/10.1134/S0097807813060055>

18. Ke, X., Bao, Q., Qi, Y., Huang, X., Zhang, H. (2018). Toxicity assessment of sediments from the Liaohe River Protected Area (China) under the influence of ammonia nitrogen, heavy metals and organic contaminants. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 59, pp. 34–42. doi: 10.1016/j.etap.2018.02.008

19. 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. doi: 10.1002/etc.3956

20. Uuemaa, E., Palliser, C. C., Hughes, A. O., Tanner, C. C. (2018). Effectiveness of a natural headwater wetland for reducing agricultural nitrogen loads. *Water*, vol. 10, issue 3, article No. 287. <https://doi.org/10.3390/w10030287>

21. Zhang, L., Xiong, D.-M., Li, B., Zhao, Z.-G., Fang, W., Yang, K., Fan, Q.-X. (2012). Toxicity of ammonia and nitrite to yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Journal of Applied Ichthyology*, vol. 28, issue 1, pp. 82–86. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01720.x>

References

1. Agbalyan, E. V., Khoroshavin, V. Yu., Shinkaruk, E. V. (2015). Otsenka ustoychivosti ozernykh ekosistem Yamalo-Nenetskogo avtonomnogo okruga k kislotnym vypadeniyam [Assessment of the sustainability of the lake ecosystems of Yamalo-Nenets Autonomous District to acidic deposition]. *UT Research Journal*, vol. 1, No. 1 (1), pp. 45–54 (in Russian).

2. Aleksandrova, V. V. (2013). Analiz korrelyatsionnoy zavisimosti vyzhivayemosti i plodovitosti test-obyekta *Ceriodaphnia affinis* s khimicheskim sostavom vody [The analysis of correlation between survival rate & fertility of *Ceriodaphnia affinis* and chemical composition of water]. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*, No. 3, pp. 60–63 (in Russian).

3. Ashikhmina, T. Ya., Dabakh, E. V., Kantor, G. Ya., Lemeshko, A. P., Skugoreva, S. G., Adamovich, T. A. (2010). Izucheniye sostoyaniya prirodnogo kompleksa v zone vliyaniya Kirovo-Chepetskogo khimicheskogo kombinata [Research of the state of the natural complex within the zone of influence of Kirovo-Chepetsk chemical plant]. *Theoretical and Applied Ecology*, No. 3, pp. 18–26 (in Russian).

4. Vinokhodov, D. O. (2007). Nauchnye osnovy biotestirovaniya s ispolzovaniyem infuzoriy [Scientific fundamentals of bioassay using ciliates]. DSc Thesis in Biology. Saint Petersburg: Saint Petersburg State Institute of Technology, 353 p. (in Russian).

5. Kvashnin, S. V., Koshcheeva, G. S. (2006). Zagryazneniye pitevoy vody Priishimya mineralnymi soyedineniyami azota [Pollution of drinking water near the Ishym River with mineral compounds of nitrogen]. *Sibirskiy Ekologicheskiy Zhurnal (Siberian Journal of Ecology)*, vol. 13, No. 5, pp. 685–693 (in Russian).

6. Olkova, A. S. (2018). Aktualnye napravleniya razvitiya metodologii biotestirovaniya vodnykh sred [Current trends in the development of the methodology of bioassay aquatic environments]. *Water and Ecology: Problems and Solutions*, No. 2 (74), pp. 40–50 (in Russian).

7. Ministry of Mineral Resources and Environment of the Russian Federation (2010). PND F T 14.1:2:3:4.11-04. T.16.1:2:3:3.8-04. Metodika opredeleniya integralnoy toksichnosti poverkhnostnykh, v tom chisle morskikh, gruntovykh, pitevykh, stochnykh vod, vodnykh ekstraktov pochv, otkhodov, osadkov stochnykh vod po izmeneniyu bakterialnoy bioluminesentsii test-sistemoy “Ekolyum” [Environmental Regulatory Document PND F T 14.1:2:3:4.11-04. T.16.1:2:3:3.8-04. Method for determining the integrated toxicity of surface waters, including marine, ground, drinking, waste waters, water extracts from soils, waste, sewage sludge by changes in bacterial bioluminescence using the Ecolum test-system]. Moscow: Nera-S, 30 p. (in Russian).

8. Federal Agency for Fisheries (2010). Prikaz No. 20 ot 18 yanvarya 2010 g. Ob utverzhenii normativov kachestva vody vodnykh obyektov rybokhozyaystvennogo znacheniya, v tom chisle normativov predelno dopustimyykh kontsentratsiy vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh obyektov rybokhozyaystvennogo znacheniya [Order No. 20 dd. 18.01.2010. Concerning approval of water quality standards for fishery water bodies, including maximum permissible concentrations of hazardous substances in waters of fishery water bodies]. Moscow: Rosrybolovstvo, 369 p. (in Russian).

9. Akvaros (2007) FR 1.39.2007.03221. Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti tseriodafniy [Federal Register FR 1.39.2007.03221. Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, and waste by mortality and changes in fertility of *Ceriodaphnias*]. Moscow: Akvaros, 54 p. (in Russian).

10. Akvaros (2007). FR 1.39.2007.03222. Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy [Federal Register FR 1.39.2007.03222. Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, and waste by mortality and changes in fertility of daphnias]. Moscow: Akvaros, 51 p. (in Russian).

11. Spektr-M (2015). FR 1.39.2015.19242. PND F T 16.2:2.2-98. Metodika opredeleniya toksichnosti prob prirodnnykh, pitevykh, khozyaystvenno-pitevykh, khozyaystvenno-bytovykh stochnykh, ochishchennykh stochnykh, stochnykh, talykh, tekhnologicheskikh vod ekspres-metodom s primeneniym pribora serii “Biotester” [Federal Register FR 1.39.2015.19242. Environmental Regulatory Document PND F T 16.2:2.2-98. Methodology for determining the toxicity of samples of natural, drinking, domestic and drinking, household waste, treated sewage, waste, thawed, technological water by

the express method using the Biotester device]. Saint Petersburg: SPEKTR-M, 21 p. (in Russian).

12. Khokhryakov, A. V., Studyonok, A. G., Olkhovsky, A. M., Studyonok, G. A. (2005). Kolichestvennaya otsenka vklada vzryvnykh rabot v zagryazneniye drenaznykh vod karyerov soyedineniyami azota [Quantitative assessment of the contribution of blasting to the pollution of drainage waters of quarries with nitrogen compounds]. *News of the Higher Institutions. Mining Journal*, No. 6, pp. 29–31 (in Russian).

13. Delkash, M., Al-Faraj, F. A. M., Scholz, M. (2018). Impacts of anthropogenic land use changes on nutrient concentrations in surface waterbodies: a review. *Clean – Soil Air Water*, vol. 46, issue 5, article No. 1800051. <https://doi.org/10.1002/clen.201800051>

14. Erratt, K. J., Creed, I. F., Trick, Ch. G. (2018). Comparative effects of ammonium, nitrate and urea on growth and photosynthetic efficiency of three bloom-forming cyanobacteria. *Freshwater Biology*, vol. 63, issue 7, pp. 626–638. <https://doi.org/10.1111/fwb.13099>

15. Galloway, J. N. (1995). Acid deposition: perspectives in time and space. *Water, Air and Soil Pollution*, vol. 85, issue 1, pp. 15–24. <https://doi.org/10.1007/BF00483685>

16. Hashemi, F., Olesen, J. E., Jabloun, M., Hansen, A. L. (2018). Reducing uncertainty of estimated nitrogen load reductions to aquatic systems through spatially targeting agricultural mitigation measures using groundwater nitrogen reduction. *Journal of Environmental Management*, vol. 218, pp. 451–464. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.078

17. Kalinkina, N. M., Berezina, N. A., Sidorova, A. I., Belkina, N. A. Morozov, A. K. (2013). Toxicity bioassay of bottom sediments in large water bodies in Northwestern Russia with the use of crustaceans. *Water Resources*, vol. 40, issue 6, pp. 657–666. <https://doi.org/10.1134/S0097807813060055>

18. Ke, X., Bao, Q., Qi, Y., Huang, X., Zhang, H. (2018). Toxicity assessment of sediments from the Liaohhe River Protected Area (China) under the influence of ammonia nitrogen, heavy metals and organic contaminants. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 59, pp. 34–42. doi: 10.1016/j.etap.2018.02.008

19. 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. doi: 10.1002/etc.3956

20. Uuema, E., Palliser, C. C., Hughes, A. O., Tanner, C. C. (2018). Effectiveness of a natural headwater wetland for reducing agricultural nitrogen loads. *Water*, vol. 10, issue 3, article No. 287. <https://doi.org/10.3390/w10030287>

21. Zhang, L., Xiong, D.-M., Li, B., Zhao, Z.-G., Fang, W., Yang, K., Fan, Q.-X. (2012). Toxicity of ammonia and nitrite to yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Journal of Applied Ichthyology*, vol. 28, issue. 1, pp. 82–86. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01720.x>

Авторы

Анна Сергеевна Олькова, канд. техн. наук, доцент
Вятский государственный университет, г. Киров, Россия
E-mail: morgan-abend@mail.ru

Елена Владимировна Маханова, канд. техн. наук,
доцент

Вятская государственная сельскохозяйственная академия, г. Киров, Россия

E-mail: elena-makhanova@yandex.ru

Authors

Anna Sergeevna Olkova, Dr. of Engineering, Associate Professor

Vyatka State University, Kirov, Russia

E-mail: morgan-abend@mail.ru

Elena Vladimirovna Mahanova, Dr. of Engineering, Associate Professor

Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russia

E-mail: elena-makhanova@yandex.ru