

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное агентство по образованию
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова
Кафедра физиологии человека и животных

Биотестирование

Биологические методы определения
токсичности водной среды

Методические указания

Рекомендовано
Научно-методическим советом университета
для студентов специальности Экология
и направления Экология и природопользование

Ярославль 2006

УДК 615.9 : 574

ББК Е 081я73

Б 63

*Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2006 года*

Рецензент
кафедра физиологии человека и животных
Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова

Составители : канд. биол. наук, доцент Е.В. Рябухина,
ст. науч. сотр. С.Л. Зарубин

Биотестирование. Биологические методы определения токсичности водной среды : метод. указания / Сост. Е.В. Рябухина, С.Л. Зарубин ; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль : ЯрГУ, 2006. – 64 с.

Предназначено для студентов факультета биологии и экологии, обучающихся по специальности 013100 Экология, направлению 511100 Экология и природопользование (дисциплина «Биотестирование», блок СД), очной формы обучения.

Ил. 5. Табл. 16.

УДК 615.9 : 574

ББК Е 081я73

© Ярославский государственный университет, 2006

© Е.В. Рябухина, С.Л. Зарубин, 2006

Тема 1. Токсикологический контроль качества водной среды методами биотестирования

1.1. Метод определения токсичности водной среды по смертности и изменению плодовитости цериодафний

1.2. Назначение и область применения методики

Биотестирование проводят для определения острой и хронической токсичности питьевых, грунтовых, поверхностных, сточных вод, воды в контрольном и других створах водопользования с целью проверки соответствия качества воды нормативным требованиям (сточная вода на сбросе не должна оказывать острого токсического действия, а вода в контрольном и других створах водопользования – хронического токсического действия на тест-объекты («Правила охраны поверхностных вод», 1991 г., п. 5.7), а также водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов в лабораторных условиях с использованием в качестве тест-объекта низших ракообразных – цериодафний.

Результаты биотестирования учитывают при установлении величин предельно допустимых сбросов (ПДС) загрязняющих веществ в водные объекты.

1.3. Принцип методики

Методика основана на определении смертности и изменений в плодовитости цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*, *Cladocera*, *Crustacea*) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

Острые опыты проводятся в краткосрочном эксперименте для предварительной оценки степени токсичности и выявления остротоксичной концентрации вещества или кратности разбавления сточных вод для снижения их токсичности.

Острое токсическое действие исследуемой воды (среды) на цериодафний определяется по их смертности (летальности) за определенный период экспозиции. **Критерием острой токсичности** служит гибель 50% и более цериодафний за 48 часов в исследуемой воде при условии, что в контроле гибель не превышает 10%.

В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливают:

- **среднюю летальную концентрацию** отдельных веществ (**кратность разбавления** вод), вызывающую гибель 50% и более тест-организмов (**ЛК₅₀₋₄₈**, **ЛКР₅₀₋₄₈**);

- **безвредную** (не вызывающую эффекта острой токсичности) концентрацию отдельных веществ (**кратность разбавления** вод), вызывающую гибель не более 10% тест-организмов (**БК₁₀₋₄₈**, **БКР₁₀₋₄₈**).

Подострые опыты применяются для выявления путей действия токсиканта на гидробионтов и механизмов отравления организма, с тем чтобы выбрать адекватный метод определения пороговой концентрации исследуемого вещества в хроническом опыте. В подостром эксперименте учитывается ряд показателей, позволяющих оценить состояние различных систем организма гидробионта (размножение и плодовитость, питание, число сердцебиений, рост и линька особей). Продолжительность опытов – от 7 до 30 суток.

Хронические опыты – это заключительный этап токсикологического исследования. Его задача – выявление пороговых концентраций веществ, зоны их токсического действия и максимальных недействующих (безвредных) концентраций, необходимых для установления ПДК токсических веществ, а также выявление минимальной кратности разбавления исследуемых вод, при которой хроническое токсическое действие не проявляется.

Хроническое токсическое действие исследуемой воды на цериодафний определяется по смертности и изменению их плодовитости за период 7 и более суток (до появления третьего помета мо-

лоди в контроле) в исследуемой воде по сравнению с контролем. Продолжительность эксперимента зависит от задач исследования и может составлять от 7 суток до 3-х месяцев и более.

Показателем плодовитости является среднее количество молодежи, выметанной в течение биотестирования, в пересчете на одну выжившую исходную самку. **Критерием хронической токсичности** служит гибель 20% и более тест-организмов и (или) достоверное отклонение в плодовитости из числа выживших самок по сравнению с контролем.

Метод оценки пороговой и предельно допустимой концентраций определяется данными подострого опыта, при этом используют физиолого-биохимические показатели, характеризующие функциональное состояние избирательно поражаемых систем и органов.

1.4. Характеристика тест-объекта

1. Систематическое положение, местообитание. В качестве тест-объекта используется вид *Ceriodaphnia affinis*. Относится к низшим ракообразным, отряду ветвистоусых (*Cladocera*), семейству дафнид (*Daphniidae*), роду цериодафний (*Ceriodaphnia*).

Этот вид распространен по всему земному шару. Цериодафния обитает в водоемах всех типов в Европе, Северной Африке, Азии, Южной Америке. Населяет неглубокие, преимущественно небольшие озера, пруды, садки, реки и разнообразные маленькие водоемы, а также каменистые лужи побережий полярных морей. В маленьких водоемах этот вид встречается реже, чем другие цериодафнии. В больших, глубоких водохранилищах и озерах встречаются единично. В Европе встречаются только в литоральном планктоне, на открытых местах, между зарослей тростника и между растениями над заиленным дном.

2. Морфология. Тело цериодафний овальное, заключено в хитиновую прозрачную раковинку, створки раковины на брюшной стороне не соединены, образуют щель. Тело нечетко сегментировано на головной, грудной и брюшной (абдоминальный) отделы. Впереди, под головным отделом, находятся две маленькие антеннулы, вооруженные осязательными щетинками. По бокам головы расположены две задние сильно развитые антенны, служащие для скачкообразного передвижения в толще воды. В грудном отделе