

Дисциплина
«БИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ»

Лекция № 8. Основы биотестирования

Структура биологического мониторинга



Биотестирование - биологическая оценка качества среды по реакции тест-объектов, помещенных в испытываемую среду

Биотестирование - процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов

Суть метода

Тест-объект

Лабораторная среда (условно нетоксичная)

Тестируемая среда (условно токсичная)

Эксперимент (выдерживание тест-объекта в среде)

Результаты в лабораторной среде

Сравнение результатов методами статистики

Результаты в тестируемой среде

Итоговое заключение: **ТОКСИЧНО - НЕТОКСИЧНО**

Биоиндикация	Биотестирование	Токсикология
Группа методов	Группа методов	Научная дисциплина
Фундаментальное и прикладное направление	Преимущественно прикладное направление	Фундаментальное и прикладное направление
Описание существующих фактов	Активный эксперимент	Активный эксперимент
Экологическая терминология	Токсикологическая терминология	Собственная терминология
Вопрос о норме и патологии решается по разному	Эталонная среда принимается за норму	Норма и патология оценивается по форме кривой
Итоговая цель: оценка реального состояния экосистем в градиентах естественных и антропогенных факторов. Разработка экологических нормативов	Итоговая цель: оценка степени токсичности среды и выражение ее в относительных единицах	Итоговая цель: выявление в чистом виде функциональной связи между конкретным фактором и конкретной биологической реакцией. Разработка санитарно-гигиенических нормативов

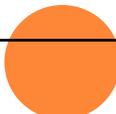


Основные достоинства биотестирования

1. Интегральная оценка степени загрязненности среды
2. Возможность экспресс тестирования
3. Высокая чувствительность
4. Дешевизна?

Выбор контролируемой среды

Свойство	Вода!	Воздух	Почва
Однородность	+	+	-
Удобство взятия и транспортировки пробы	+	-	+
Удобство культивирования в среде	+	-	+
Возможность «разбавления» среды	+	-	-



тест-объект – аналог лабораторного аналитического прибора

Выбор тест-объекта:

- возможность культивирования тест-объекта в лабораторных условиях;
- возможность создания оптимальной среды для тест-объекта;
- массовость, морфо-генетическая гомогенность тест-объектов;
- чувствительность тест-объекта;
- воспроизводимость результатов.

В исследовательских целях согласно данным Агентства окружающей среды США (EPA) биотестирование осуществляется с использованием более 100 тест-объектов и около 5000 тест-реакций

Тест-реакции (функции)

Интергальные
(выживаемость, рост,
плодовитость, биомасса)

Частные
(физиологические,
биохимические,
гистологические параметры)

Оперативность, чувствительность

Экологический реализм теста, возможность экстраполяции на другие
объекты и уровни



Частные тест-функции

1. **Биохимический подход** (измерение адаптационного стресса – концентрации свободных радикалов, измерение ферментативной активности)
2. **Генетический подход** (оценка генетических нарушений на генном, хромосомном и геномном уровне)
3. **Морфологический подход**
4. **Физиологический подход** (энергетический обмен, дыхание и др.)
5. **Этологический подход** (оценка двигательной реакции на стрессовый фактор)
6. **Биофизический подход** (оценка фотосинтетической активности и биолюминесценции)
7. **Иммунологический подход** (изучение реакций врожденного и приобретенного иммунитета).

Выбор тест-функции – возможность аппаратного измерения параметра.



Продолжительность эксперимента

Острые биотесты (acute tests), выполняемые на различных тест-объектах по показателям выживаемости, длятся от нескольких минут до 24-96 ч.

Краткосрочные (short-term chronic tests) хронические тесты длятся в течение 7 суток и заканчиваются, как правило, после получения первого поколения тест-объектов.

Хронические тесты (chronic tests) - тест-объекты с относительно длинным жизненным циклом.

Терминология

Токсичность (toxicity) - свойство химических веществ проявлять повреждающее или летальное действие на живые организмы. Токсическим эффектом в биотестировании является ЛЮБОЕ отклонение от эталона

Летальные концентрации (LD или ЛК – 100/50).
Эффективные концентрации (ЭК -100/50)

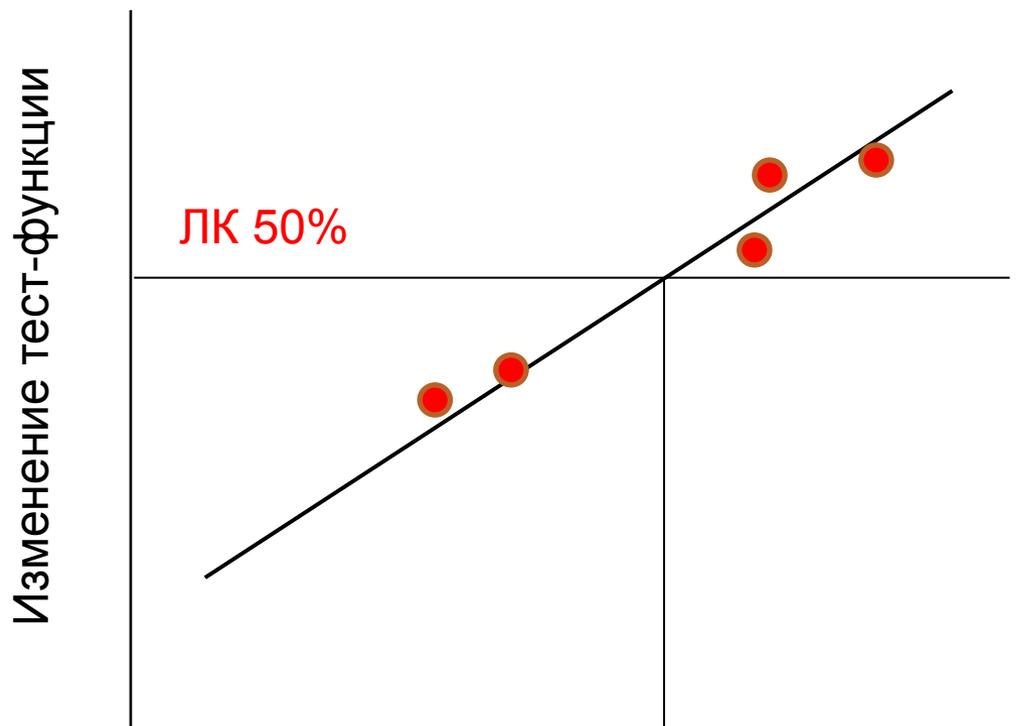
Принцип кратного разбавлений среды



Калибровка чувствительности тест-объекта

Диапазон реагирования тест-объекта – нормированный интервал концентраций, в котором находится средняя летальная или средняя эффективная концентрация эталонного вещества.

Эксперимент с эталонным токсикантом - $K_2Cr_2O_7$



Логарифмы концентраций
модельного токсиканта



Методика биотестирования по снижению уровня биолюминесценции бактерий *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford

Методика биотестирования по снижению прироста количества инфузорий *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenberg) Schewiakoff

Методика биотестирования по угнетению роста одноклеточных пресноводных водорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb

Методика биотестирования по гибели ракообразных *Daphnia magna* Straus

Методика биотестирования по гибели ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

Методика биотестирования по выживаемости и плодовитости ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

Методика биотестирования по гибели рыб *Poecillia reticulata* Peters

Методика биотестирования по угнетению роста одноклеточных морских водорослей *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin

Методика биотестирования по гибели ракообразных *Artemia salina* L.

Методика биотестирования по гибели рыб *Poecillia reticulata* Peters



Методика биотестирования по гибели ракообразных *Daphnia magna* Straus

Тест-объект: *Daphnia magna*

Тест-функция: **выживаемость**

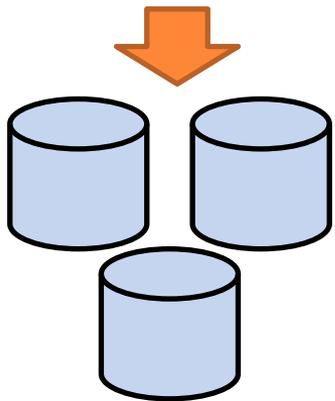
Продолжительность: **96 часов**

Критерий токсичности: **гибель более 50% дафний в опыте по отношению к контролю**

Погрешность при $P=0,95$, составляют $\pm 66\%$.

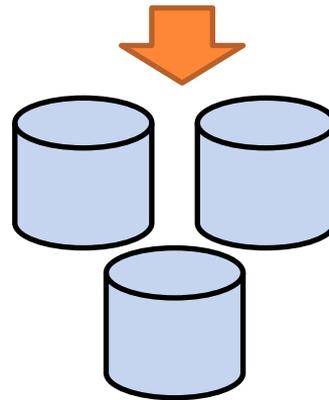


по 10 экз. 1-2-х суточных дафний



Контроль

96 часов



Опыт

$$A = \frac{\bar{X}_k - \bar{X}_{on}}{\bar{X}_k} \cdot 100$$

если $A > 50$ – токсично!

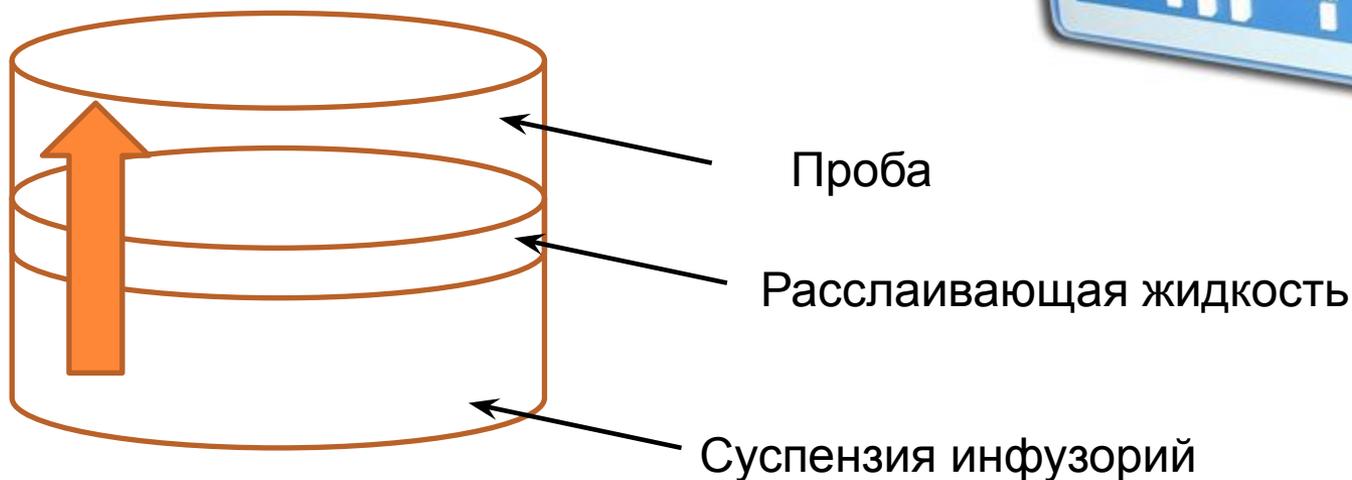


ФР.1.31.2005.01881 Методика определения токсичности проб вод (природных, хозяйственно-питьевых, промышленных сточных) экспресс-методом с применением прибора «БИОТЕСТЕР».

Тест-объект: *Paramecium caudatum*

Тест-функция: реакция хемотаксиса

Продолжительность: 30 минут



Методика биотестирования по снижению уровня билюминесценции бактерий *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford

BIOTOX

прибор экологического контроля

Поиск[Главная](#)[О Компании](#)[Задать Вопрос](#)[Контакты](#)

- › Сертификаты
- › Загрузить
- › Руководство
- › Принцип работы
- › Методики
- › Поставка и цены
- › FAQ



Экспресс анализ
ТОКСИЧНОСТИ

Имя пользователя: *

Пароль: *

ВОЙТИ

[Забыли пароль?](#)

Биотокс™ На Службе Экологии!



«Оценка качества этиловых спиртов, водок и алкогольной продукции. Экспресс-метод с использованием бактериальной биолюминесценции».
(Методические рекомендации №01.017-07).

«Методика определения токсичности химических веществ, полимеров, материалов и изделий с помощью бактериального теста «Эколюм».
(Методические рекомендации №01.018-07).

Методические указания 1.1.037-95 «Биотестирование продукции из полимерных и других материалов»

...Сущность методики состоит в исследовании острой токсичности вытяжки из испытываемых изделий с применением клеточного тест-объекта.

В качестве тест-объекта используется сперма крупного рогатого скота, замороженная в парах жидкого азота. Гранулы замороженной бычьей спермы получают на станциях искусственного осеменения и хранят в сосудах Дьюара, наполненных жидким азотом.

В основе метода лежит исследование изменений зависимости двигательной активности сперматозоидов от времени под воздействием химических соединений, содержащихся в вытяжке из исследуемых образцов.



Особенности биотестирования почв

Почва – методически сложный объект для биотестирования в силу чрезвычайно гетерогенности и наличия большого количеством питательных элементов. Результат экспериментального тестирования почв во многом определяется процедурой подготовки проб к биологическому исследованию, условиями биотестирования и выбором тест-организма (Терехова, 2011. Почвоведение)



Биотестирование водных вытяжек
(тест-объекты – гидробионты)



Биотестирование почвы
(тест-объекты – высшие растения)

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer). (Красноярский государственный университет).

ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06. Методика определения токсичности водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. (Красноярский государственный университет).

Проблема оценка малорастворимых токсичных соединений





Abstract

ISO 22030:2005 describes a method for determining the inhibition of the growth and reproductive capability of higher plants by soils under controlled conditions. Two species are recommended: a rapid-cycling variant of turnip rape (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) and oat (*Avena sativa*). The duration of test should be sufficient to include chronic endpoints that demonstrate the reproductive capability of the test plants.

By using natural test soils, e.g. from **contaminated sites or remediated** soils, and by comparing the development of the test plants in these soils with **reference or standard control soils**, the test is applicable to assess soil quality, especially the function of the soil **as a habitat for plants**.

This method can be modified to allow use of the chronic plant assay for the testing of chemicals incorporated into soil. By preparing a dilution series of a test substance in standard control soils, the same endpoints can be measured to assess the chronic toxicity of chemicals.

This method is not applicable to volatile substances, i.e. substances for which Henry's constant or the air/water partition coefficient is greater than 1, or for which the vapour pressure exceeds 0,0133 Pa at 25 °C.



Биотестирование воздуха

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТА "ЭКОЛЮМ" МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ N 01.020-07



Электроаспиратор

Пропускание
пробы воздуха
через фильтры

Смыв фильтрата в
дистиллированную
воду

Применение
стандартных методов
биотестирования по
реакции гидробионтов



Регламентация биотестирования в нормативных актах РФ

10 января 2002 года N 7-ФЗ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН
ОБ ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Глава XI. КОНТРОЛЬ В ОБЛАСТИ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
(ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ)

Статья 64. Задачи контроля в области охраны окружающей среды (экологического контроля)

1. Контроль в области охраны окружающей среды (экологический контроль) проводится в целях обеспечения органами государственной власти Российской Федерации, органами государственной власти субъектов Российской Федерации, органами местного самоуправления, юридическими и физическими лицами исполнения законодательства в области охраны окружающей среды, соблюдения требований, в том числе нормативов и нормативных документов, в области охраны окружающей среды, а также обеспечения экологической безопасности.

2. В Российской Федерации осуществляется государственный, производственный и общественный контроль в области охраны окружающей среды.

(в ред. Федерального закона от 24.06.2008 N 93-ФЗ)

Биоиндикация

Биотестирование



Мониторинг

Контроль



ПРАВИЛА ОХРАНЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД (УТВ. ГОСКОМПРИРОДЫ СССР 21.02.1991) (ПРИЛОЖЕНИЕ К ПИСЬМУ ГОСКОМПРИРОДЫ СССР ОТ 26.04.1991 N 5/15-12) (по состоянию на 7 октября 2006 года)

3. Охрана водных объектов возвратных (сточных) вод и различных хозяйственной деятельности

3.1. Установленные условия сброса возвратных (сточных) вод и водоохранные требования к различным видам хозяйственной деятельности должны обеспечить нормативное качество воды в контрольных створах водного объекта или, при их превышении, сохранение состава и свойств воды, сложившихся под влиянием природных процессов.

3.2. Запрещается сбрасывать в водные объекты:

- возвратные (сточные) воды, содержащие вещества или продукты трансформации веществ в воде, для которых не установлены ПДК или ОДУ, а также вещества, для которых отсутствуют методы аналитического контроля, за исключением тех веществ, что содержатся в воде водного объекта;
- возвратные (сточные) воды, которые с учетом их состава и местных условий при соответствующем технико - экономическом обосновании могут быть направлены в системы оборотного водоснабжения, для повторного использования, для орошения в сельском хозяйстве при соблюдении агротехнических, санитарных и ветеринарных требований или для других целей народного хозяйства;
- производственные, хозяйственно - бытовые сточные воды, дождевые и талые воды, отводимые с территорий промышленных площадок и населенных мест, не прошедшие очистку до установленных требований;
- сточные воды, оказывающие токсическое действие на живые организмы (по результатам биотестирования);



МИНИСТЕРСТВО ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ РФ
 ПРИКАЗ от 27 декабря 1995 г. N 533
 «О ПРОВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ВНЕДРЕНИЮ МЕТОДОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ
 ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВОЗВРАТНЫХ ВОД И ВЗИМАНИЮ ПЛАТЫ С УЧЕТОМ ИХ
 ТОКСИЧНОСТИ

Таблица 1

Значения повышающего коэффициента (Кт)

Категория возвратных вод	Показатель токсичности возвратных вод	Повышающий коэффициент
нетоксичная	0	1,0
малотоксичная	1 - 16	1,0
среднетоксичная	17 - 50	1,5
высокотоксичная	51 - 99	1,8
гипертоксичная	100 и более	2,0



Приказ МПР России от 15.06.2001 № 511 «Об утверждении Критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды»

1. Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды (далее – Критерии) предназначены для индивидуальных предпринимателей и юридических лиц, в процессе деятельности которых образуются опасные отходы для окружающей природной среды (далее - отходы), и которые обязаны подтвердить отнесение данных отходов к конкретному классу опасности для окружающей природной среды (далее – производители отходов).

20. Для подтверждения отнесения отходов к пятому классу опасности для ОПС, установленного расчетным методом, определяется воздействие только водной вытяжки отхода без ее разведения. Класс опасности устанавливается по кратности разведения водной вытяжки, при которой не выявлено воздействие на гидробионтов в соответствии со следующими диапазонами кратности разведения в соответствии с Таблицей 4.

КЛАСС ОПАСНОСТИ ОТХОДА	КРАТНОСТЬ РАЗВЕДЕНИЯ ВОДНОЙ ВЫТЯЖКИ ИЗ ОПАСНОГО ОТХОДА, ПРИ КОТОРОЙ ВРЕДНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ГИДРОБИОНТОВ ОТСУТСТВУЕТ
I	>10000
II	От 10000 до 1001
III	От 1000 до 101
IV	< 100
V	1

Экспериментальная оценка токсичности отходов проводится в следующих трех случаях:

- во-первых, если расчетным методом установлен 5 класс опасности, то необходимо подтвердить отсутствие токсичности на биологических объектах;
- во-вторых, если невозможно определить качественный и количественный состав отходов и определить класс опасности расчетным методом;
- в-третьих, по желанию заинтересованной стороны или при необходимости уточнить полученный расчетным методом класс опасности отходов.





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ЭКОЛОГИЧЕСКОМУ,
ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ И АТОМНОМУ НАДЗОРУ
(РОСТЕХНАДЗОР)

Федеральное государственное учреждение
«ЦЕНТР ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА И ТЕХНИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ
ПО СИБИРСКОМУ ФЕДЕРАЛЬНОМУ ОКРУГУ»
(ФГУ «ЦЛАТИ ПО СИБИРСКОМУ ФО»)



Экологическая безопасность

...Организация экологического обучения, повышения квалификации и профессиональной переподготовки кадров.

Оценка воздействия на окружающую среду проектируемых и действующих предприятий, в том числе разработка разделов «оценка воздействия на окружающую среду» и «охрана окружающей среды» в составе предпроектной и проектной документации.

Разработка проектов ПДС (проект нормативов предельно допустимых сбросов), ПДВ (проект нормативов предельно допустимых выбросов), ПНООЛР (проект нормативов образования отходов, лимитов на их размещение) и нормативно- методических документов.

Подготовка документации по формам статистической отчетности 2ТП-водхоз, 2ТП-отходы, 2ТП-воздух.

Расчет платежей за негативное воздействие на окружающую среду.

Разработка мер, направленных на обеспечение охраны, оздоровления и улучшения качества окружающей среды.

Выдача заключения по материалам о возможности обеспечения предприятиями безопасных условий на перемещение отходов.

Подготовка материалов обоснования лицензионной деятельности по обращению с опасными отходами.

Паспортизация опасных отходов.

Определение класса опасности отходов, в том числе методом биотестирования на живых тест-объектах....



Центр мониторинга окружающей среды

Мониторинг загрязнения поверхностных вод суши.

Наблюдения за загрязнением поверхностных вод суши по гидрохимическим и гидрологическим показателям проводятся на 76 водных объектах, в 103 пунктах. Программа количественного химического анализа включает от 28 до 49 показателей. Мониторинг загрязнения поверхностных вод суши по гидробиологическим показателям организован на 6 водных объектах, 10 станциях. При оценке качества поверхностных вод суши методы **биоиндикации и биотестирования** в комплексе с гидрохимическими данными позволяют получить наиболее объективную информацию о загрязнённости вод и создать систему оперативного контроля качества воды.

