СБОРНИК ТРУДОВ
VI МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА
«ЧИСТАЯ ВОДА.КАЗАНЬ»

25-27 МАРТА, 2015

Казань
2015

УДК 628.161(082)
ББК 38.761.1я43
С23

Под редакцией: **А.А. Быков** (Руководитель Нижне-Волжского бассейнового водного управления Федерального агентства водных ресурсов), **Ф.Ф. Мухатетшин** (Директор ФГБУ «Средволгаводхоз»), к.г.н. **А.П. Шлычков** (ФГБУ «Средволгаводхоз»).

Под общей редакцией: **А.А. Быков**
Составители: **А.П. Шлычков, Д.С. Романов**

Сборник трудов VI Международного Конгресса «Чистая вода. Казань» 25-27 марта 2015 г.: науч.изд. – Казань: типогр. ООО «Куранты», 2015. – 229 с.

ISBN 978-5-9902925-5-0

ISBN 978-5-9902925-5-0

УДК:628.161(082)
ББК 38.761.1я43

© Федеральное агентство водных ресурсов, 2015
Тираж 100 экз.

Список литературы:

1. Яковлев С.В., Воронов Ю.В. Водоотведение и очистка сточных вод. М.: Изд. АСВ, 2004. 704 с.

2. Токач Ю.Е., Рубанов Ю.К. Композиционные сорбенты на основе оксидов железа для утилизации смазочно-охлаждающих жидкостей. Монография. Изд-во БГТУ. 2014. 96 с.

ОЦЕНКА РАЗМЕРНО-ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК *DAPHNIA MAGNA* ПРИ ПОМОЩИ КОМПЬЮТЕРНОГО ЗРЕНИЯ

Тужикова О.Г., Никитин О.В.
Казанский (Приволжский) федеральный университет,
г. Казань, oleg.nikitin@kpfu.ru

Многообразные загрязняющие вещества, попадая в окружающую среду, могут претерпевать в ней различные изменения, усиливая при этом свое токсическое действие (Евгеньев, 1991). Это приводит к необходимости разработки комплексных, интегральных методов контроля качества ряда объектов окружающей природной среды, в том числе воды, почвы и воздуха, позволяющих оценить их качество и возможную опасность различных источников загрязнения (Брагинский, 2000).

Во второй половине XX века в связи с необходимостью оценки токсичности природных и сточных вод, а также некоторых химических веществ во многих странах мира стали использовать биотестирование на *Daphnia magna.* Впервые *D. magna* как индикатор токсичности воды была предложена в 1929 году. Позже также стали использовать *Ceriodaphnia affinis,* и этот вид наряду с *D. magna* и *D. pulex*, были введены в руководства по биотестированию во многих странах мира (Дятлова, 2001). В качестве тест-реакции преимущественно используют смертность рачков, а при установлении хронического токсического воздействия проводят наблюдения за изменением плодовитости и качеством потомства (ISO, 1996, 2000; Брагинский, 2000; Blaise, Férard, 2005; US EPA, 2007). Перечень реакций можно существенно расширить, если использовать дополнительные сведения по тест-объекту, основанные на его функциональных показателях, в том числе и поведенческие реакции, в частности скорость плавания (Nikitin, 2014).

При исследовании действия токсикантов на функциональные показатели рачков дафний необходимо учитывать тот факт, что их чувствительность может варьировать в зависимости от возраста и размера рачков. Так, молодые дафнии вследствие более эффективной фильтрации аккумулируют на единицу веса больше тяжелых металлов по сравнению с более крупными и зрелыми особями (Шашкова, 2011). Это правило закреплено во многих методических руководствах по биотестированию, в частности в ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06 (2011) предписывают использовать ракообразных в возрасте 6-24 ч. Представляет интерес определения размерно-поведенческих характеристик дафний, для установления зависимостей между функциональными показателями активности тест-организмов и уровнем их чувствительности к загрязнителям.

В связи с вышесказанным, целью данной работы было установить зависимость между плавательной активностью *Daphnia magna* и ее размерными характеристиками.

В наших экспериментах использовалась лабораторная монокультура *D. magna*, выращиваемая в климатостате «В-4» (ПНД Ф…, 2011). Для анализа плавательной активности, в данной работе использовались данные по скорости плавания рачков.

Плавательная активность оценивалась при помощи программно-аппаратного комплекса для обнаружения и регистрации поведенческих реакций тест-объектов – «Анализатора токсичности «TrackTox», реализующего алгоритмы компьютерного зрения (Никитин, Латыпова, 2014). В частности таких алгоритмов как: получения видео,

применения фильтров для устранения «шумов», конвертации цветовой системы, определения граничных значений для пороговой обработки видео, получения бинарного видеопотока, его покадровой обработки с целью нахождения контуров и определения центров их масс, расчета координат объекта, нанесения трекинга объекта на исходное видео.

Единичные дафния при помощи микропипетки быстро и аккуратно переносилась из маточной культуры в прозрачную пластиковую тестовую камеру (100 мм × 45 мм × 10 мм) с 30 мл культивационной воды, которая переносилась в анализатор токсичности, расположенный в термостатируемых условиях (20±2 °С). Дафнии выдерживались 10 мин. в камере для акклиматизации, после чего в течение последующих 10 мин. производилось измерение плавательной активности. Для снижения излишней чувствительности, обработка осуществлялась с частотой 5 кадров в секунду. В ходе всего эксперимента, данные визуализировались на экране компьютера. В конце эксперимента данные по плавательной активности дафнии (~3000 измерений) были сохранены в текстовый файл, для последующей обработки и статистического анализа. В табличном виде представлена следующая информация по каждой дафнии для каждого из измерений: 1) Время измерения параметров; 2) Координаты в пространстве тестовой камеры; 3) Ориентация в пространстве (горизонтальная или вертикальная); 4) Последнее пройденное расстояние; 5) Общее пройденное расстояние; 6) Средняя длина сегмента пути; 7) Затраченное время на последнее пройденное расстояние; 8) Скорость перемещения; 9) Размер объекта (в пикселях).

Измерение физических размеров дафний производили при помощи бинокулярного микроскопа «Биомед-5» с использованием окулярного микрометра. Фиксировались линейные размеры дафний при 28 кратном увеличении. Было опробовано 7 разновозрастных тест-организмов в 3-х кратной повторности.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи пакета программ STATISTICA 8.0 (StatSoft, Талса, США).

Проведенное исследование позволило получить базу данных поведенческих реакций *D. magna* в зависимости от ее размеров. Можно отметить, что распределение величин плавательной активности дафний отличается от нормального распределения для всех опробованных дафний, коэффициент асимметрии положителен, правый хвост распределения длиннее левого (рис. 1). Это предположение также подтверждает критерий Колмогорова-Смирнова (K-S d=0,125, P<0,01). Таким образом, лучше использовать непараметрические критерии и в частности медиану для описания поведенческих реакций, кроме того, она является более робастной оценкой в присутствии выбросов значений, чем среднее. Вследствие этого в работе использованы непараметрические критерии оценки, для которых не важен тип распределения данных.

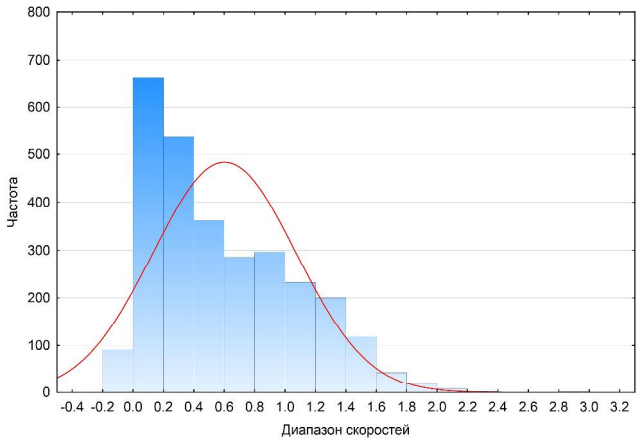


Рис. 1. Распределение частот скоростей (см/с) плавания дафний

На рис. 2 представлена полученная зависимость между реальными физическими размерами дафний и их медианной скоростью плавания. Проведенные исследования показали, что при увеличении размеров скорость плавания дафний увеличивается, данная зависимость выражается уравнением регрессии (R=0,76; R^2=0,58; P<0,001; стандартная ошибка оценивания 0,095):

$$Y = 0{,}0526 + 0{,}1431 \cdot X$$

где Y – медианная скорость (см/с), X – линейные размеры тест-объекта (мм).

Была установлена зависимость между размерами тест-объекта, полученными при обработке видеосигнала анализатором токсичности «TrackTox», и его реальными линейными размерами (рис. 3), которая выражается уравнением регрессии (R=0,93; R^2=0,87; P<0,001, стандартная ошибка оценивания 0,094):

$$Y = -34{,}7806 + 45{,}3383 \cdot X,$$

где Y – площадь тест-объекта на изображении (пикс.), X – линейные размеры тест-объекта (мм).

Можно отметить, что для единичной дафнии размер в пикселях изменялся в каждой из 3-х повторностей, несмотря на то, что дафния была одного и того же размера. Это можно объяснить тем, что дафния во время регистрации ее размеров с помощью компьютерного зрения меняет свое положение и ориентацию в пространстве, вследствие чего может измениться и ее размер в пикселях на изображении.

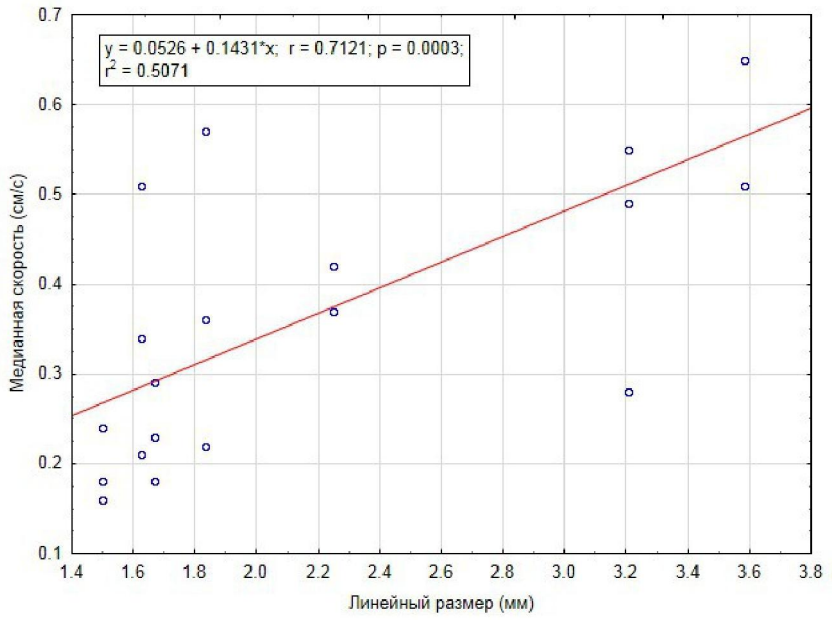


Рис. 2. Зависимость медианой скорости плавания дафний от их реальных размеров

Таким образом, проведенное исследование показало возможность использования компьютерного зрения для регистрации поведенческих реакций дафний и измерения размерных характеристик тест-объектов без использования натурных замеров. Полученная информация будет использована для стандартизации процедуры биотестирования вод при помощи «Анализатора токсичности «TrackTox».

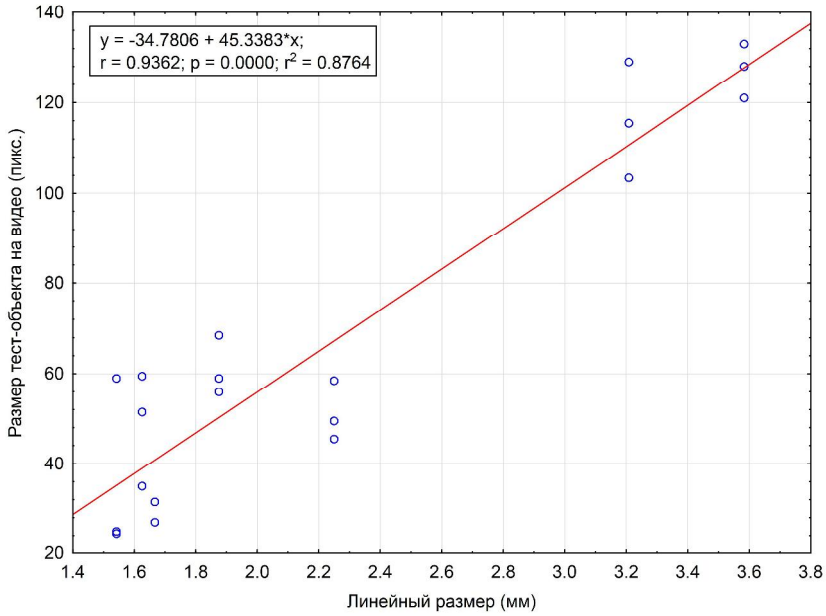


Рис. 3. Зависимость площади тест объекта от его линейных размеров

Список литературы:

1. Брагинский Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на Daphnia magna и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор). Гидробиологический журнал. – 2000. – Т. 36 (5). – С. 50–70.

2. Дятлова Е.С. Методы гидробиологических исследований. Сравнительная чувствительность ветвистоусых ракообразных к бихромату калия // Экология моря. – 2001. – Вып. 58. – С. 79–83.

3. Евгеньев М.И. Тест-методы и экология // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 11. – С. 29–34.

4. Никитин О.В., Латыпова В.З. Определение токсичности водной среды по поведенческой активности Daphnia magna при помощи системы компьютерного зрения «TrackTox» // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы: материалы V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии. Том 2. – Ярославль: Филигрань, 2014. – С. 100–105.

5. ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06. Т 16.1:2.3:3.9-06. Методика определения острой токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по смертности дафний (Daphnia magna Straus), 2011.

6. Шашкова Т.Л. Выживаемость и трофическая активность Daphnia magna Straus в оперативном экологическом контроле водных сред: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 – экология (биология). – Красноярск, 2011. – 18 с.

7. Blaise C., Férard J.-F. Small-scale freshwater toxicity investigations. Vol. 1. Toxicity test methods. – Dordrecht: Springer, 2005. – P. 1–68.

8. ISO. Water quality determination of long term toxicity of substances to Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – chronic toxicity test. ISO 10706:2000 (E), Geneva, International organization for standardization, 2000.

9. ISO. Water quality determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – acute toxicity test. ISO 6341:1996 (E), Geneva, International organization for standardization, 1996.

10. Nikitin O. Aqueous medium toxicity assessment by Daphnia magna swimming activity change // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Vol. 5(5). – P. 1538–1543.

11. US EPA. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA-821-R-02-012, Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency, 2007.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ РАЗНОТИПНЫХ ОЗЕР ВОЛЖСКО-КАМСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Унковская Е.Н.[1], Тарасов О.Ю.[2]
1 - Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Волжско-Камский государственный природный биосферный заповедник»,
пос. Садовый, РТ, *L-unka @mail.ru*
2 - Институт проблем экологии и природопользования АН РТ, г. Казань

На территории Раифского участка Волжско-Камского заповедника сложился своеобразный комплекс из 12 разнотипных озер, связанных в единую гидрологическую систему малыми р.р. Сумка и Сер-Булак. Самые крупные карстовые проточные озера расположены в долине р. Сумка (оз. Белое, Раифское Ильинское); в долине р. Сер-Булак находятся небольшие заболачивающиеся проточные озера (оз. Линево, Карасиха). К долинам рек приурочены бессточные озера (оз. Круглое) и заболачивающиеся озера (оз. Илантово, Гнилое, Долгое).

Исследования данных озер проводятся в ходе многолетних мониторинговых наблюдений на системе постоянных станций. В настоящей работе анализируются результаты гидрохимических исследований водоемов за летний период 2012 г. в сравнении с результатами предыдущего года. Анализ химических показателей воды на определение 19-20 ингредиентов выполнялся по аттестованным методикам, используемых в экоаналитическом контроле поверхностных вод суши, пробы отбирали в поверхностных и придонных слоях озер. Качество воды рассчитывали по физико-химическим показателям с использованием эколого-санитарной классификации качества поверхностных вод суши (ЭСК) и индекса загрязнения воды ($ИЗВ_6$).

Оз. Раифское. В начале лета (19.06.12) прозрачность воды озера была высокой и составила 2,0 м; цвет – зеленоватый. Содержание растворенного кислорода было характерно для эвтрофных водоемов: с нормальным насыщением у поверхности – 7,5 мг/дм^3 (87,2%) и минимальным у дна – 2,10 мг/дм^3 (24,4%). Содержание сероводорода было в пределах допустимых норм ПДК для рыбохозяйственных водоемов ($ПДК_{р/х}$) – 0,002 мг/дм^3. Минерализация воды составляла в среднем 169,0 мг/дм^3. Общая жесткость соответствовала категории «мягкая» вода. pH воды по всей толще воды составлял 8,5 ($ПДК_{р/х}$ – 6,5-8,5) и соответствовал оценке «грязных вод». Концентрации биогенных веществ незначительно превышали $ПДК_{р/х}$ в придонных слоях: содержание ионов аммония составляло 1,30 мг/дм^3 (1,3 ПДК), нитритов – 0,107 мг/дм^3 (1,3 ПДК), фосфатов – 0,23 мг/дм^3 (1,2 ПДК), общего железа – 0,43 мг/дм^3 (4,3 ПДК), что в 2-7 раза ниже показателей июня 2011 г. Величина $БПК_5$ составляла по горизонтам (поверхность-дно) 0,5-1,0 мгO_2/дм^3, ХПК – 22,3-24,4 мгО/дм^3, что значительно ниже $ПДК_{р/х}$ и соответствовало оценке «очень и вполне чистых» и «достаточно чистых вод». Содержание тяжелых металлов превышало допустимые нормы, но в меньшей кратности, чем в 2011 г. – превышение $ПДК_{р/х}$ по марганцу составило значительную разницу (2,3 ПДК у поверхности и 13,7 ПДК – у дна (в 2011 г.– в 228 раз), меди – в 4,6-4,9 раза. Ранговый показатель составлял у поверхности 2,8 («вполне чистые воды»), у дна – 5,0 («слабо загрязненные воды»). $ИЗВ_6$ соответствовал классу («умеренно-загрязненные воды») у поверхности и «очень грязные воды» – у дна за счет высокого содержания токсичных тяжелых металлов.