

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE PARAMETERS OF VARIOUS PLANT (MOSS ANTHOCEROS AND PEPPERWORT-SALAD) FOR ENVIRONMENT QUALITY ESTIMATION

Pikulenko M.M., Bulychev A.A.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; pikulenkomarina@mail.ru

The monitoring of ecological characteristics of biological systems may include the measuring of the physiological parameters of the cells organelles and the membrane complexes. In the case green plants, analysis of chlorophyll fluorescence provides considerable information about primary reactions of photosynthesis, including the efficiency of charge separations in photosystem II (PSII), the rate of linear electron transport, and “energy-dependent quenching” related to the pH gradient (ΔpH). In addition to ΔpH , the transmembrane electric potential of thylakoids is crucial for energy conversion. The choice of a hornwort Anthoceros is substantiated by such advantages as the feasibility of simultaneous measurements of the chloroplast membrane potential, the electric potential changes at the cell membrane, and changes in chlorophyll fluorescence parameters occurring upon the absorption of photosynthetically active radiation (PAR). Its thin thallus facilitates the access of substances from the outer medium to the cell surface, which is important for testing the action of physiologically active agents on photopotentials of the chloroplast and cell membranes. The use of small-size thalli necessitates the application of sensitive fluorometric devices collecting light emission from the area of 0.01 to 10 mm². Specialized fluorimeters - a Microscopy-PAM (Walz, Germany) based on the saturation pulse method and a plant efficiency analyzer (PEA, Hansatech, United Kingdom) designed for measurements of the fluorescence induction curves with a time resolution of 10-6s - fully meet these requirements. The Microscopy-PAM device allows measurements on microscopic parts of a thallus such parameters as the quantum yield of the charge separations in PSII ($\Delta F/F_m'$), coefficient of photochemical quenching related to the redox state of PSII primary acceptor, and the coefficient of nonphotochemical quenching indicative of energy-dependent fluorescence quenching related to ΔpH formation in the thylakoids. So we suggest for environmental impact assessment as a test-objects the moss Anthoceros and 10-day pepperwort-salad seedlings simultaneously. Integrated impact assessment of adverse conditions on the parameters of photosynthetic activity of moss Anthoceros is perspective, despite the difficult regulatory relationship between photosynthesis and membrane processes. Study of fluorescence parameters of pepperwort-salad for estimation the oil pollution of water in terms of salinity showed nonspecific reaction.

ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ПРИ ОЦЕНКЕ РИСКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ

Поромов А.А.¹, Терехова В.А.^{1,2}, Шитиков В.К.³

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

³Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия; aap1309@gmail.com

Аннотация

Работа посвящена обсуждению проблем, связанным с использованием экстраполяции при оценке экологических рисков. В лабораторном эксперименте невозможно точно воспроизвести все комбинации факторов и условий воздействия на компоненты биосистем,

как и невозможно (или нежелательно) получить необходимые для предсказания или прогноза экологических событий результаты оценки воздействий непосредственно *in situ*. Вероятность неблагоприятных изменений в анализируемой экосистеме чаще всего диагностируется по ретроспективным данным. Вероятность неблагоприятных изменений в анализируемой экосистеме чаще всего диагностируется по ретроспективным данным. Лабораторные токсикологические эксперименты могут рассматриваться лишь как часть (или отдельный элемент) комплексной системы оценки экологического риска, в частности, такой комплексной системы как TRIAD approach. Можно выделить три основных метода экстраполяции эффектов от лабораторных биотестов на оценку природной экосистемы. Самый простой из них основан на предположениях интуитивной аналогии, базирующихся на традиционном опыте или гипотетическом понимании возможных механизмов воздействия. Второй основан на относительно простых вычислениях соотношений опасности в лабораторных и реальных условиях и экспертной оценке коэффициентов масштабирования. Наконец, с конца XX века началось использование вероятностных методов, основанных на статистических моделях доза-эффект и/или специально взвешиваемых наборах данных. Поскольку большинство экстраполяций делается в отсутствие реальных данных, одной из важнейших задач статистического анализа является обоснование меры неопределенности, которая задает необходимый запас прочности при охране социально значимых организмов. Разумеется, при накоплении более представительных данных (полевые наблюдения, исследования на микро- и мезокосмах) мера неопределенности в экстраполяции эффектов может быть уменьшена или, по крайней мере, лучше характеризована.

Ключевые слова: экстраполяция, оценка риска, мера неопределенности, распределение чувствительности видов, биотестирование

Введение

1. Экстраполяция в контексте оценки вредного воздействия на природную среду

1.1. Терминология и принципы использования экстраполяции при оценке риска

Экстраполяцией называется использование реально располагаемой информации для предсказания или прогноза событий в другой ситуации, которая по своим биологическим характеристикам, временным параметрам или пространственному расположению отличается от условий, в которых были получены имеющиеся данные [1]. Экстраполяция является неотъемлемой частью процесса установления экологических критериев качества среды (environmental quality criteria – EQC) и проведения оценки экологического риска (environmental risk assessments – ERAs) от воздействия химических веществ [2-7]. Экстраполяция обычно используется для многих целей и в различных сферах деятельности: от выполнения формализованных предписаний контролирующих органов (US Environmental Protection Agency [USEPA] 1992, 1998; European Union, 1997) до частных или специализированных исследований.

Риск в общем случае может оцениваться как при выполнении некоторой локальной специальной программы (specific risk), так и обобщенно в рамках крупного географического региона (general risk). В первом случае выделяются только некоторые специфические компоненты (индикаторные виды растений или животных, конкретные вещества или способы их распространения, локальные участки и т.д.). При этом для большинства токсикологических оценок используют полученные в лаборатории данные эффекта для тест-организмов, адаптированных к контролируемому стандартным условиям обитания организмов, которые экстраполируются на организмы в окружающей среде, непосредственно в которой биотестирование проведено быть не может. Поэтому лабораторные токсикологические эксперименты могут рассматриваться лишь как часть (или отдельный элемент) комплексной системы оценки экологического риска [33-35].

Комплексные оценки риска обычно более консервативны, поскольку должны предусматривать все возможные воздействующие факторы и чувствительные элементы изучаемой среды. Здесь важно сначала точно структурировать проблему, идентифицировать главные компоненты (дозы воздействия и эффекты) и характер их синергизма. На основе постоянно накапливаемых данных с помощью критериев качества среды EQC происходит последовательный (шаг за шагом по мере устранения имеющейся неопределенности) анализ диапазонов риска, что является руководством по принятию решений в области природоохранной деятельности.

При этом используются три основных метода экстраполяции эффектов от лабораторных биотестов к анализируемой натурной экосистеме. Самый простой из них основан на предположениях интуитивной аналогии, базирующихся на традиционном опыте или гипотетическом понимании возможных механизмов воздействия. Второй основан на относительно простых вычислениях соотношений опасности в лабораторных и реальных условиях и экспертной оценке коэффициентов масштабирования. Наконец, с конца XX века началось использование вероятностных методов, основанных на статистических моделях доза-эффект и/или специально взвешиваемых наборах данных. Поскольку большинство экстраполяций делается в отсутствие реальных данных, одной из важнейших задач статистического анализа является обоснование меры неопределенности (uncertainty factor – UF), которая задает необходимый «запас прочности» при охране социально значимых организмов. Разумеется, при накоплении более представительных данных (полевые наблюдения, исследования на микро- и мезоэкосах) мера неопределенности в экстраполяции эффектов может быть уменьшена или, по крайней мере, лучше характеризована.

Самый простой способ учета мер неопределенности при экстраполяции – это использование детерминированных коэффициентов запаса или в иной терминологии индексов опасности HQ (hazard quotients), которые представляют собой отношение пороговой концентрации в тестовых организмах к предлагаемому экологическому нормативу. Например, USEPA использует «запас прочности» HQ = 100 для того, чтобы экстраполировать результаты острых лабораторных испытаний по 1-2 видам гидробионтов на возможный токсический эффект пестицидов в водной среде, или HQ = 10, если проводился хронический эксперимент на представителях трех или более таксономических групп [USEPA]. Если имеется более чем один фактор неопределенности, индексы опасности должны быть перемножены и в ситуациях при недостаточных данных общий HQ может стать нереально большим (10^5 - 10^6).

1.2. Использование SSD и других методов статистической экстраполяции

Если имеется достаточное количество ретроспективных биоиндикационных данных, по большому спектру химических токсикантов, то становятся доступны формальные методы получения статистической меры неопределенности. Если при этом доступны результаты лабораторных испытаний для организмов, представляющих достаточно большое количество таксономических групп (или видов), то становится реализуем один из таких подходов как построение распределений чувствительности видов (species sensitivity distribution – SSD [4, 10]). Кривые SSD могут быть построены на основе экспериментальных данных, динамика которых связана с определенным воздействием. Зависимости типа SSD ориентированы на оценку экологического риска на уровне сообщества, где видовая избыточность и устойчивое функционирование могут играть важную роль в поддержании гомеостаза.

Кривая SSD строится по ранжированному ряду показателей токсикометрии (LC_{50} или $NOEC$) для различных видов по отношению к анализируемому поллютанту

(точки на рис. 1). Этот вариационный ряд может быть использован для аппроксимации эмпирических точек подходящей параметрической функцией статистического распределения, такого как нормальное или логнормальное. Графически зависимость SSD от воздействующего фактора обычно представлена как кумулятивная кривая распределения чувствительности видов CDF (*Cumulative Distribution Function*) с рассчитанной границей доверительного интервала (рис. 1). Этот метод дает прямую оценку концентрации поллютанта HC_p , которая будет опасной для $p\%$ видов, существующих в сообществе (p – любой директивно заданный вероятностный порог, например, $p = 5\%$) [11-12].

Попытка при помощи SSD и подобных методов статистической экстраполяции распространить содержательные выводы, полученные на ограниченной выборке данных о реакции видов в лабораторных условиях, на различные экосистемы основана на не вполне корректных предположениях и вызывает многочисленные критические замечания. Во-первых, условия химического воздействия на животных при лабораторных испытаниях могут сильно отличаться от полевых условий по самым важным факторам: условиям экспозиции, миграции загрязняющих веществ к рецепторам живых организмов, характеру биоаккумуляции, и т.д. Во-вторых, представленный метод оценки экологических рисков, по сути, никак не использует информацию об экологии сообществ (межвидовых взаимодействиях, трофических связях, условиях среды обитания или относительной значимости ключевых видов и функциональных групп). Оценка безопасных концентраций ксенобиотиков требует анализа их воздействия на таксономически разнообразные сообщества. Для экспериментальных исследований желательно использовать представителей нескольких родов или семейств. Виды же для лабораторного биотестирования обычно отбираются по специфическим критериям, которые включают стабильную чувствительность к токсикантам, генетическую и физиологическую однородность, способность к культивированию в контролируемых стандартных условиях и зачастую на искусственных питательных средах. Тем не менее, использование для оценки экологического риска в естественных экосистемах лабораторных данных о токсичности, полученных для отдельных тест-видов, предоставляет специалистам полезную информацию о степени безопасности среды обитания.

В настоящее время в дополнение к оценкам риска, основанным на лабораторных биотестах, регулярно выполняются полевые наблюдения и выборочные эксперименты, чтобы изучить обобщенные эффекты воздействия загрязняющих веществ на уровне сообщества или целостной экосистемы, а также данные химико-аналитических исследований. Примером такого интегрального анализа качества среды обитания может служить так называемый Триадный подход (TRIAD approach), впервые предложенный Питером Чапменом [33-35] для анализа степени опасности загрязненных донных отложений. В качестве другого примера моделирования оценки меры неопределенности UF, основанной на многократных наблюдениях, можно привести PERPEST - систему предсказания экологического риска воздействия пестицидов [13].

1.3. Экосистемные параметры, используемые для оценки качества среды

В системах оценки качества среды объектом внимания являются не столько индивидуальные организмы (за исключением особей вымирающих видов), а популяции и сообщества в их естественной окружающей среде обитания. Обычно под устойчивым функционированием биоценозов понимается поддержка популяционной численности доминирующих видов, уменьшение или резкое увеличение которой считается, как правило, неблагоприятным откликом экосистемы на внешнее воздействие.

Выбор основной стратегии природоохранной деятельности с выбором итоговых оценочных критериев обычно основывается на экологическом знании или на представлениях о ценности для человека. Например, есть общая тенденция выбрать приоритетными поддержание функциональной целостности, если популяции потенциально затронутых организмов могут относительно быстро восстановиться после воздействия или имеют низкую привлекательность (бактерии и грибы в почве, морские водоросли). Для сообществ, которые имеют низкий потенциал восстановления или высокую шкалу оценки (птицы, рыбы или киты), ставятся структурные цели защиты, такие как абсолютные численности популяций. Относительно эстетической ценности используемые критерии могут быть вполне эфемерными и часто меняются. Кроме того, социальные ценности обычно связаны с культурными традициями и с уровнем экономического и социального развития.

2. Типы экстраполяции

2.1. Экстраполяция значений отклика вне диапазона наблюдаемых данных

Если эксперимент проводился на некотором интервале уровней воздействия, то задача экстраполяции – оценить величину отклика вне диапазона наблюдений, по которым получены данные соотношения "доза-эффект". Она обычно используется, чтобы, например, по значениям LC_{50} вычислить концентрации, приводящие к более низкому эффекту, такие как LC_{10} , LC_{25} или "эталонные дозы" LC_5 , NOEC и т.д.

Большинство способов такой экстраполяции основаны на различных статистических моделях "доза – эффект". В контексте острого токсического эксперимента хорошо изучены и широко используются модели пробита [23]. Однако ни одна из этих моделей не может надежно оценить пороговые значения биологического отклика, поскольку при малых воздействиях традиционная линейная зависимость может приобретать существенно нелинейный стимулирующий характер или иметь форму гормезиса [24]. Здесь, разумеется, важную роль играют использование априорных предположений о механизмах развития процессов интоксикации и достаточный объем экспериментальных данных, чтобы обнаружить тонкие эффекты.

Важен также правильный выбор спецификации модели. Например, описан подход к оценке токсикологической эталонной концентрации (toxicological benchmark concentration – TBC), ниже которой эффект на заданном уровне отклика не наблюдается [25]. Метод основан на анализе распределения некоторого множества пороговых значений для различных условий эксперимента и моделей аппроксимации, на основе которого выбирается наиболее вероятное значение. На рисунке 2 показано, что модель пробита (probit) дает излишне заниженную оценку уровня воздействий в условиях низкого риска, тогда как более жесткие критерии получены с использованием многоступенчатой модели (multistage).

2.2. Матрицы свойств среды и их учет при экстраполяции

Окружающая природная среда включает в себя основные разделы, такие как воздух, вода, донные отложения, почвы, подземные воды. Термин "матрица" обычно связывается с набором физико-химических свойств каждой среды (например, для почв см. таблицу 1). Проблемы оценки причинно-следственных связей между компонентами матрицы одной среды (а тем более, между матрицами различных сред) являются весьма сложными и неоднозначными и зависят от изменений химических, физических, биологических и пространственных особенностей каждого местообитания [2].

Экстраполяции между местообитаниями различных сред должны учитывать физические и химические взаимодействия между компонентами матрицы и токсичным веществом. Эти взаимодействия могут увеличивать или уменьшать

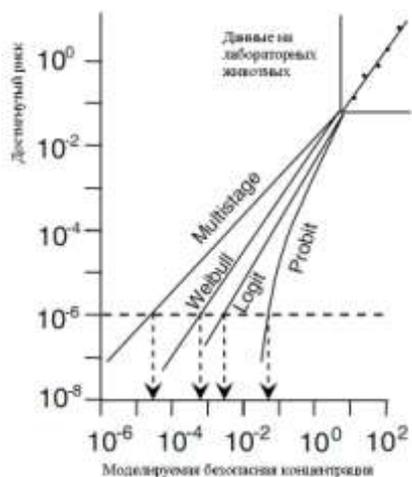


Рисунок 1. Экстраполяция диапазона концентраций по данным, полученным на лабораторных животных, и выбор эталонной безопасной дозы с использованием различных моделей

биологическую активность поллютанта, поскольку, как правило, затрагивают характер и механизмы биологического воздействия [26]. Примером модификации экотоксикологических процессов изменяющимися условиями среды является резкое увеличение чувствительности к токсикантам для эвригалинных рыб при их переходе из пресноводной в морскую окружающую среду. Является ли этот отклик следствием двойного стресса или происходит из-за изменений в механизмах биоаккумуляции – вопрос остается открытым. Другие примеры – влияние различных факторов на условия формирования нерастворимых комплексов металлов или адсорбционные свойства органического вещества в донных отложениях и почвах.

Таблица 1. Матрица факторов, которые могут модифицировать токсическое действие веществ на почвенные организмы

Свойства	Объяснение
Объемная плотность	Определяет наличие пор, доступных для воды и корней. Зависит от компонентного состава и структуры почвы
Тип минерализации	Эффект адсорбции токсикантов минеральными веществами
Распределение частиц почвы по дисперсности	Определяет размер поверхности гранул, где может иметь место адсорбция
Содержание влаги	Влияет на распространение, разделение и доступность токсикантов
Водо- и воздухопроницаемость	Способность почвы транспортировать воду или воздух
Структура	Определяет пористость почвы
pH	Влияет на форму, реакционную способность, растворимость, доступность и токсичность некоторых загрязняющих веществ
Ионный состав	Ионы могут вступать в химическую связь с токсикантами, блокируя или активируя их воздействие
Содержание металлов	В сочетании с солями щелочноземельных металлов и алюминием по различным механизмам комбинированного действия меняется токсичность тяжелых металлов
Содержание органического вещества, тип и % углерода	Изменяются адсорбционные свойства почвы в отношении тяжелых металлов и органических соединений
Температура	Определяет химическую активность токсикантов и интенсивность физиологических процессов в организмах

Как можно оценить возможные различия в чувствительности биоты к токсикантам между лабораторными и реальными полевыми условиями, которые вызваны дополнительными факторами условий обитания? Единая методика экстраполяции для различных сред и матриц их свойств в настоящее время отсутствует. Описано множество различных подходов, зависящих от поставленных задач, типа экосистемы и состава учитываемых параметров. В частности, описан [1,2] пошаговый метод соотнесения воздействий и эффектов, где на каждом шаге проводится тем или иным детерминированным или вероятностным способом анализ взаимосвязи компонентов матрицы свойств для анализируемой среды.

2.3. Экстраполяция комбинированного действия нескольких факторов

Организмы в окружающей среде редко подвергаются стрессу со стороны только одного изолированного компонента; однако, за редким исключением, большинство количественных методов оценок риска игнорируют эффекты комбинаторного действия смесей веществ. Биотический отклик для простых смесей может быть проверен в физических экспериментах, но это невозможно для сложных композиций с большим числом ингредиентов. Биотестирование сложных смесей основано на математических методах планирования эксперимента, где реакции на каждое из веществ смеси сопоставляются на различных уровнях воздействия. Поэтому реализуемость этих планов быстро уменьшается с числом анализируемых компонентов: например, исследование смеси из 3 веществ с варьированием концентрации каждого из них на 5 уровнях потребует выполнение теста на 5^3 (т.е. 125) полных экспериментальных группах. Разработка фракционных методов планирования [27] или использование комбинаций верхних процентилей концентраций могут быть полезными в определении порогов отклика для смесей, но не затрагивают кардинально сути проблемы.

Для экстраполяции токсичности смеси используется ряд моделей [5], но они заранее ориентированы на предположении об аддитивности концентраций для группы веществ с одинаковым типом биохимического воздействия. Оценка биоотклика на смесь небольших количеств веществ может быть также сделана с использованием фармакокинетических моделей. Например, при прогнозе максимально возможного токсического эффекта смесей хлорированных и нехлорированных углеводов было установлено, что взаимодействие между ними угнетает метаболические процессы в организме человека при употреблении питьевой воды [28].

Для смесей веществ, которые имеют иной комбинаторный эффект (например, синергизм), необходимы оценки ковариации чувствительности для различных видов и для различных составов содержания компонентов. Поскольку получить эти оценки в ходе биотестирования, как правило, невозможно, то понятие порога обычно применяется к малым экологическим уровням воздействия. Это важно, поскольку экосистемы чаще всего испытывают влияние смеси химикатов при низких концентрациях, исключая возможные экологические катастрофы [5].

2.4. Экстраполяция режимов воздействия

Часто задачей экстраполяции возможных эффектов является распространение оценок токсичности, полученных при одном режиме воздействия, на другие режимы (так называемая “временная экстраполяция”). Например, воздействия токсичных веществ могут быть случайными, непрерывными, пульсирующими, последовательно нарастающими или любая комбинация из них. Часто каждому из этих режимов соответствует свой механизм биохимического действия или характер интоксикации, связанные, например, с особенностями выведения, расщепления и аккумуляции вещества в тканях организма.

Особенно важен переход от результатов острого токсикологического эксперимента к прогнозам для хронических режимов воздействия, обычно характерных для реальных природных сред. Также вызывает интерес проблема отличий периодического (пульсирующего) режима воздействия от непрерывной экспозиции для веществ, которые быстро рассеивают в окружающей среде. Эти экстраполяции могут использовать данные модифицированных биотестов на стандартных видах или целостных экосистемах, моделирующих реалистические воздействия. Поскольку хронические лабораторные тесты являются более дорогостоящими и отнимающими много времени, то экстраполяция результатов острых или сокращенных тестов до NOEC часто осуществляется статистическими методами с использованием разработанных компьютерных программ [3].

Таким образом, экстраполяции экологических данных при оценке экологических рисков применяются на разных уровнях и способствуют решению различных прогностических задач.

1. Количественная связь между химической структурой и биологической активностью (QSAR) и компьютерные системы оценок межвидовых корреляций могут явиться реальной основой для прогнозирования токсичности и экологических нормативов. QSAR объединяет усилия по разработке совокупности компьютерных программ и баз данных, позволяющих оценить показатели токсичности непосредственно по химической структуре и физическим параметрам веществ.

2. Экстраполяция с учетом возраста особей или стадий их развития связана с возможными различиями в отклике на воздействие вещества для разных возрастных групп животных [6].

3. Экстраполяция с учетом уровней биологической организации связана с переносом данных, полученных в ходе лабораторного биотестирования или исследований на микрокосмах на популяционный уровень или к структурно более сложным экосистемам. Прогнозирующая ценность таких исследований зависит от многих факторов, имеющих отношение к потенциалу восстановления численности популяции и характеру биоиндикации. Здесь весьма полезно, например, использование популяционных и эволюционных моделей.

4. Экстраполяция с учетом аналогий механизма токсического действия для группы веществ основана на вполне уместном предположении, что характер воздействия этой группы на любую другую экосистему будет также подобным. Используемая при этом модель развития эффекта [32] осуществляет предсказание вероятности опасного воздействия для различных групп веществ, рассчитывает экосистемные уровни NOEC и оценивает экологические последствия превышения этих стандартов.

5. Временные экстраполяции важны в экотоксикологии, чтобы учесть изменения чувствительности организмов во время различных стадий развития. Синхронные действия в сообществах, такие как жизненные циклы лягушек или метаморфоз личинок водных насекомых, представляют специфическую проблему при временной экстраполяции, поскольку организмы периодически меняют свою чувствительность к токсикантам.

6. Пространственные экстраполяции данных о токсичности используются на большие пространственные расстояния, поскольку разделенные таким образом экосистемы могут существенно отличаться как по условиям распределения токсикантов, так и по уровню восприимчивости организмов.

Работа проводится в рамках Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

Цитируемая литература

1. Solomon KR, Brock TCM, De Zwart D et al. Extrapolation in the Context of Criteria Setting and Risk Assessment. // Extrapolation Practice for ecotoxicological effect characterization of chemicals. Solomon KR, Brock TCM, De Zwart D et al. (eds.), 2008. SETAC Press & CRC Press, Boca Raton, FL, USA. P. 1-32.
2. De Zwart D, Warne-Lorscheider A, Forbes V et al. Matrix and Media Extrapolation. // Там же. P. 33-74.
3. Sanderson H, Dyer SD, Nabholz V (Q)SAR and Extrapolation. // Там же. P. 75-104.
4. van den Brink PJ, Sibley PK, Ratte HT et al. Extrapolation of Effects Measures across Levels of Biological Organization in Ecological Risk Assessment. // Там же. P. 105-134.
5. Posthuma L, Richards SM, De Zwart D et al. Mixture Extrapolation Approaches. // Там же. P. 135-186.
6. Brock TCM, Solomon KR, Wijngaarden R et al. Temporal Extrapolation in Ecological Effect Assessment. // Там же. P. 187-222.
7. Brock TCM, Maltby L, Hickey CW et al. Spatial Extrapolation in Ecological Effect Assessment. // Там же. P. 223-256.
8. US Environmental Protection Agency [USEPA]. 1998. Guidelines for ecological risk assessment. Risk Assessment Forum. Washington (DC): US Environmental Protection Agency.
9. European Union. 1997. Council Directive 97/57/EC of September 21, 1997; establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Off J Europ Commun L265:87-109.
10. Posthuma L, Suter GWH., Traas TP, eds. Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. 2001. CRC Press.
11. Scott-Fordsmand J, Damgaard C. Uncertainty analysis of single-concentration exposure data for risk assessment-introducing the species effect distribution approach. // Environ Toxicol Chem 2006. 25:3078-3081.
12. Шитиков В.К. Экоотоксикология и статистическое моделирование эффекта с использованием R. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2016. 149 с. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/Article/A42/ECotox.htm> (дата обращения 20.06.2016).
13. van den Brink PJ, Roelsma J, van Ness EH, Scheffer M, Brock TCM. 2002. PERPEST model, a case-based reasoning approach to predict ecological risks of pesticides. Environ Toxicol Chem 21:2500-2506. <http://www.perpest.alterra.nl> (accessed December 28, 2007).
14. Hill AB. 1965. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med 58:295-300.
15. Matthews RA, Landis WG, Matthews GB. 1996. The community conditioning hypothesis and its application to environmental toxicology. Environ Toxicol Chem 15:597-603.
16. Ehrlich PR, Ehrlich AH. 1981. Extinction: the causes and consequences of the disappearance of species. New York (NY): Random House, 305 p.
17. Ellis D. 1989. Environments at risk: case histories of impact assessment. New York (NY): Springer-Verlag, 329 p.
18. Domsch KH, Jagnow G, Anderson TH. 1983. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. Res Rev 86:65-105.
19. Tilman D, Wedlin D, Knops J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. Nature 379:718-720.
20. Harwell MA, Cooper W, Flaak R. 1992. Prioritizing ecological and human welfare risks from environmental stresses. Environ Management 16:451-464.
21. Klepper O, Traas TP, Schouten AJ, Korthals GW, de Zwart D. 1999. Estimating the effect on soil organisms of exceeding effect concentrations (NOECs) of persistent toxicants. Ecotoxicol 8:9-21.
22. Organisation for Economic Co-Operation and Development [OECD]. 1992. Report of the OECD workshop on the extrapolation of laboratory aquatic toxicity data to the real environment. Environmental Monograph. No. 59. OCDE/GD (92)169. Paris (France).
23. Finney DJ. 1971. Probit analysis. London (UK): Cambridge University Press, 333 p.
24. Calabrese EJ, Baldwin LA. 2001. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. Crit Rev Toxicol 31:353-424.
25. Hanson ML, Solomon KR. 2002. New technique for estimating thresholds of toxicity in ecological risk assessment. Environ Sci Technol 36:3257-3264.
26. Hamelink JL, Bergman HL, Kimerle RA, Landrum PF. 1994. Mechanistic understanding of bioavailability. Boca Raton (FL): Lewis Publishers.
27. Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. 1978. Statistics for experimenters. New York (NY): John Wiley. 653 p.
28. Haddad S, Krishnan K. 1998. Physiological modeling of toxicokinetic interactions: implications for mixture risk assessment. Environ Hlth Perspect 106:1377-1384.
29. Asfaw A, Ellersieck MR, Mayer FL. 2004. Interspecies correlation estimations (ICE) for acute toxicity to aquatic organisms and wildlife. II. User manual and software. No. EPA/600/R-03/106. Gulf Breeze (FL): US Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Gulf Ecology Division. 14 p.
30. Biek R, Funk CW, Maxell BA, Mills LS. 2002. What is missing in amphibian decline research: insights for ecological sensitivity analysis? Conserv Biol 16:728-734.
31. Huggett RJ, Kimerle RA, Mehrle PM, Bergman H, editors. 1992. Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton (FL): Lewis Publishers, 347 p.
32. Brock TCM, Lahr J, van den Brink PJ. 2000a. Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems part 1: herbicides. No. 088. Wageningen (The Netherlands): Alterra, 124 p.

33. Chapman Dagnino Dagnino A., Sforzini S., Dondero F., Fenoglio S., Bona E., Jensen J., Viarengo A. A “Weight-of-Evidence” approach for the integration of environmental “Triad” data to assess ecological risk and biological vulnerability // *Integr. Environ. Assess. Manage.* 2008. № 4. P. 314–326.
34. Chapman P.M. The sediment quality Triad aProach to determining pollution-induced degradation/ P.M. Chapman// *Sci Total Environ.* –1990.– №97–98. –PP. 815–825.
35. Chapman P.M. A triad study of sediment quality associated with a major, relatively untreated marine sewage discharge/ P.M. Chapman, M.D. Paine, A. D. Arthur, L.A. Taylor// *Marine pollution bulletin*–1996 –V.32.–P. 47–64.
36. Chapman P.M. Weight-of-evidence issues and frameworks for sediment quality (and other) assessments/ P.M. Chapman, B.G McDonald, G.S. Lawrence // *Human and Ecological Risk Assessment.*– 2002. –P:1489-5151.

ANTIBIOTIC RESISTANT PATHOGENS INCREASING NEEDS COMPREHENSIVE ECOTOXICOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL APPROACH FOR RISK ASSESSMENT

Poromov A.¹, Kydralievа K², James A.³, Yang W-H.⁴, Terekhova V.¹

¹Lomonosov MSU, Moscow, Russia, aap1309@gmail.com

²Moscow Aviation Institute, Moscow, Russia.

³Bharathidasan University, India,

⁴Zhejiang University, China

The unwanted effects of microbial growth have long been controlled through the use of antimicrobials such as antibiotics. Resistance can then reach the environment with the potential of adversely affecting aquatic and terrestrial organisms. Bacteria resistant to antibiotics in the aquatic environments were reported by several researchers in Russia, India and China. Hence, a major objective of molecular level epidemiological investigations can provide reliable and specific information regarding the etiology and mechanism of disease processes for disease prevention. On other hand, nano particles could be effective antimicrobial agents especially against antibiotic resistance pathogens. Nano particles antibiotic properties should be investigated as well as environmental toxicity.

Ключевые слова: remedial nano particles, antibiotic resistance, pathogens, toxicity, environmental and epidemiological risk.

In recent years, resistance to commercially available antibiotics by pathogens has been increasing at an alarming rate. In the past, the uncontrolled use of pharmaceutical substances in human/ veterinary medicine, and aquaculture have increased the introduction of antibiotics to the aquatic environment (Metcalfе et al., 2003; Dang et al., 2008). The excessive use of antibiotics creates new pressures on natural bacterial strains (Kümmerer, 2004). Many bacterial strains multiply rapidly, with cell cycles of 20–30 minutes at elevated temperatures which enhances their genetic adaptability to survive at any condition (Dang et al., 2006; Dahms, 2014). The traditional epidemiological technique has always been the hallmark approach to demonstrate associations between exposure to hazardous substances like microbes and development of diseases due to ‘antibiotic resistant’ (ABR) strains (Bonassi and Au, 2002).

The quantification of antibiotic resistant microbes and their epidemiological survey on water bodies are an innovative approach to provide firsthand information, and help to improve water quality/ human health. The relationship between the increases of human population size in urban areas causing environmental changes is well known. Human health risks associated with microbial vectors are a serious problem and may increase dramatically in the near future (NSTC, 1995). The most obvious ultimate source of fecal indicator and ABR bacteria to water bodies are humans, animals including wildlife, shorebirds and domestic animals (Gerba, 2000; Meals and Braun, 2006; Dahms, 2014).