

УДК (504.4.054 : 574.64: 579.63)

DOI: 10.18522/2308-9709-2026-55-18

ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОДЫ РЕК ДОН И ТЕМЕРНИК В АКВАТОРИИ ГОРОДОВ РОСТОВ-НА-ДОНУ И АЗОВ

Седова Д. А.^{1, 2*}, Сазыкина М. А.¹, Климова М.В.¹, Сазыкин И. С.¹

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

²Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия

dased0va@yandex.ru*

samara@sfedu.ru

juravliova.mascha@mail.ru

issa@sfedu.ru

ORCID: (0000-0003-1194-7251, 0000-0001-6974-3361, 0000-0001-6152-3030,
0000-0002-0864-1473)

Аннотация

Биолюминесцентные методы с применением батареи цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров могут оперативно дать предварительную оценку токсичности водных экосистем при антропогенном загрязнении. Цель настоящей работы – оценка экотоксикологических эффектов проб воды рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов. Исследование проводили в 2021-2023 г., было проанализировано 58 проб воды рек Дон и Темерник (27 – в акватории г. Азова, 31 – в акватории г. Ростова-на-Дону). Пробы воды отбирали в местах водозаборов, рекреации, селитебных территорий, сброса сточных вод. Для исследования интегральной токсичности проб воды использовали природный биолюминесцентный штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245. Генотоксичность, прооксидантные свойства, наличие веществ, повреждающих белки и нарушающих целостность клеточных мембран, индукторов кворум-сенсинга в поверхностных водах определяли с помощью рекомбинантных штаммов *E. coli* MG1655. Результаты указывают на существенную нагрузку на р. Дон в обеих акваториях веществами, вызывающими повреждение мембран и ДНК, индукторами кворум-сенсинга I типа. Высокотоксичных проб выявлено не было. Сравнение интегральной токсичности проб из двух акваторий показало статистически значимое превышение токсичности в г. Азов по сравнению с г.

Ростов-на-Дону. Достоверные различия между токсичностью проб воды выявлены с помощью трех *lux*-биосенсоров: *E. coli* MG1655 (pRecA-*lux*), *E. coli* MG1655 (pFabA-*lux*) и *E. coli* MG1655 (pVFR1-*lux*). Во всех случаях токсичность и наличие индукторов кворум сенсинга I типа значимо выше в пробах воды из г. Азова.

Ключевые слова

Токсичность, генотоксичность, повреждение мембран, окислительный стресс, поверхностные водоемы, бактериальные *lux*-биосенсоры

Введение

В связи с масштабным загрязнением гидросферы возрастает интерес к оценке токсичности компонентов водных экосистем. Контроль качества воды при водопользовании сосредоточен в области химического определения токсикантов и микробиологических параметров водоисточников. Применение только химического анализа для оценки токсичности воды не учитывает интегрального токсического воздействия на биологические объекты. Химический анализ эффективен для количественного определения содержания известных токсикантов, в то время как методы биотестирования позволяют оценить их негативное влияние на живые организмы.

Для оценки экотоксикологических параметров при мониторинге водных экосистем используются методы биотестирования с применением цельноклеточных бактериальных *lux*-биосенсоров. Данные тест-системы используются как инструменты для быстрого скрининга токсичности питьевых, поверхностных, грунтовых и сточных вод (СТВ), донных отложений (МР 01.021-07, 2007). Существуют зарегистрированные и внедренные в практику определения интегральной токсичности тест-системы на основе лиофилизированных люминесцентных бактерий или ферментные препараты бактериальной люциферазы (Лаврский, Пронина, 2023).

В России среди стандартизированных цельноклеточных *lux*-биосенсоров для определения интегральной токсичности применяются биосенсоры на основе рекомбинантных штаммов *E. coli* (Лаврский, Пронина, 2023). Рекомбинантные штаммы *E. coli* K12 с встроенным *lux*-опероном *Photobacterium luminescens* применяются для тестирования не только объектов водной среды (МР 01.021-07, 2007), но также для оценки токсичности почвы и воздушной среды (МР 01.019-07, 2007; МР 01.020-07, 2007). Преимуществом рекомбинантных биосенсоров

является отсутствие необходимости в осмотической коррекции исследуемых образцов, что позволяет использовать их для анализа пресной воды и водных растворов химических соединений.

Для повышения специфичности *lux*-биосенсоров на основе генно-модифицированного штамма *E. coli* MG1655 были разработаны сенсоры, несущие плазмиду с опероном *luxCDABE*, находящимся под контролем индуцируемых промоторов (Zavilgelsky et al., 2012). Помимо определения интегральной токсичности, стало возможным обнаруживать механизмы токсичности веществ в исследуемой пробе. Например, для обнаружения агентов, способных вызывать окислительный стресс в клетке, были разработаны биосенсоры с многокопийной рекомбинантной плазмидой, в которой *lux*-оперон *P. luminescens* находится под контролем промотора генов каталазы (PkatG) и супероксиддисмутазы (PsoxS) (Kotova et al., 2010). Кроме того, были предложены *lux*-биосенсоры для обнаружения белков теплового шока, с промоторами PgrpE и PibpA, экспрессия которых индуцируется веществами, повреждающими белки (этанол, фенол и др.) (Данилов и др., 2002; Kotova et al., 2010; Zavilgelsky et al., 2012).

Для изучения генотоксичности объектов окружающей среды используются бактериальные люминесцентные биосенсоры, которые содержат плазмиды с люминесцентным опероном под контролем промоторов генов *recA* (P_{recA}) и *cda/cold* (P_{colD}) генов (Kotova et al., 2010; Zavilgelsky et al., 2012). В этом случае генотоксичность определяется активацией системы SOS-ответа в клетке *E. coli*, представляя собой экспрессию стартового и терминального генов SOS-регулона в ответ на повреждение ДНК генотоксикантами (Ushakov, 2010).

Ключевое преимущество рекомбинантных *lux*-биосенсоров перед тестами на общую токсичность состоит в возможности судить о механизме токсического воздействия. Оценка экотоксичности при помощи модифицированных штаммов *E. coli* MG1655 подходит как дополнение к существующим стандартизированным методам определения интегральной токсичности. Для мониторинга водных экосистем применение батареи цельноклеточных *lux*-биосенсоров дает более содержательную картину присутствия отдельных групп токсикантов (повреждение белков, индукция окислительного стресса, повреждение ДНК, тяжелые металлы, антибиотики и т.д.) (Сазыкина, 2014).

В целом используемые люминесцентные биосенсоры на основе рекомбинантных штаммов *E. coli* можно использовать для тестирования широкого спектра объектов окружающей среды. Биолюминесцентные методы

могут оперативно дать предварительную оценку токсичности водных экосистем при антропогенном загрязнении.

Целью нашей работы стала оценка экотоксикологических эффектов проб воды рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов с помощью батареи цельноклеточных бактериальных люминесцентных сенсоров.

Объекты и методы

Отбор проб

Исследование проводили в 2021-2023 г. За этот период было проанализировано 58 проб воды рек Дон и Темерник (27 – в акватории г. Азова, 31 – в акватории г. Ростова-на-Дону). Пробы реки Дон отбирались в семи точках: водозабор г. Азова (9), место сброса сточных вод г. Азова (9), городской пляж г. Азова (9), участок 500 м ниже выпуска ростовской городской канализации (2), ростовский городской пляж (7), районы водозабора (7) и речного вокзала (7) г. Ростова-на-Дону; участок р. Дон в районе устья р. Темерник (7); пробы реки Темерник отбирались в устье (1). Отбор проб осуществляли батометром в стерильные флаконы объемом 500 мл и транспортировали при температуре +4-8 °С.

Штаммы бактерий lux-биосенсоров и условия их культивирования

Для биотестирования изучаемых образцов воды использовали батарею цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров, позволяющую регистрировать различные типы токсического действия.

Штаммы *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) и *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) для выявления генотоксичности содержат промоторы RecA, индуцируемый при SOS-ответе, и PalkA, индуцируемый при алкилировании ДНК. Промоторы PsoxS и PkatG у штаммов *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) и *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) индуцируются в присутствии соединений, вызывающих оксидативный стресс, поэтому эти биосенсоры использовали для регистрации супероксидного и пероксидного стресса соответственно. Выявление веществ, повреждающих белки, проводили с помощью штамма *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux), несущего промотор гена белка теплового шока PibpA. Для детекции токсикантов, нарушающих целостность клеточных мембран, применяли штамм *E. coli* MG1655 (pFabA-lux), содержащий промотор гена *fabA*, кодирующего ключевой фермент биосинтеза ненасыщенных жирных кислот. Наличие индукторов

кворум-сенсинга I типа определяли с использованием штамма *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux), промотор которого активируется при действии N-ацил-L-гомосеринлактонов. Штамм *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) - контрольный штамм с конститутивным промотором для коррекции артефактов, связанных с изменениями активности бактериальной люциферазы, не связанными с индукцией стрессовых промоторов.

Для оценки интегральной токсичности на основе подавления биолюминесценции в присутствии токсичных веществ проб воды использовали природный биолюминесцентный штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 (Сазыкин и др., 2014).

Рекомбинантные штаммы *E. coli* MG1655 культивировали в жидкой питательной среде LB с добавлением ампициллина (конечная концентрация 100 мкг/мл) при температуре 37 °С в течение 18–20 ч при постоянном встряхивании (180 об/мин) (Zavilgelsky et al., 2007). Штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 выращивали в среде LB без добавления антибиотиков при температуре 25 °С до ранней экспоненциальной фазы роста.

Суспензию ночной культуры рекомбинантных штаммов разводили при помощи денситометра DEN-1 («BioSan», Латвия) до мутности 1 единица Мак-Фарланда (концентрация $3 \cdot 10^8$ клеток/мл) в среде LB с добавлением ампициллина. Штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, выращенный в среде LB+3% NaCl разбавляли в 10 раз стерильной H₂O+3% NaCl.

Постановка теста и определение фактора индукции и индекса токсичности

Для определения экотоксичности проб речной воды использовали неразведенные пробы. Измерение люминесценции проводилось на микропланшетном люминометре Luminoskan Ascent (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции к прибору. При использовании рекомбинантных штаммов *E. coli* MG1655 измерение проводилось в течение 120 мин с интервалом между измерениями 10 мин. Измерение интегральной токсичности (*Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245) проводилось в течение 30 мин при 25 °С.

Пробы речной воды в количестве 100 мкл переносили в лунки, одна из которых служила контролем (в нее добавляли 100 мкл дистиллированной воды), а в лунки положительного контроля вносили по 100 мкл раствора стандартного токсиканта в различной концентрации. Каждую пробу анализировали в трех независимых повторностях.

Для рекомбинантных штаммов *E. coli* рассчитывали фактор индукции (I):

$$I = \frac{L_c}{L_k}$$

где L_c - интенсивность люминесценции суспензии lux-биосенсора, содержащей исследуемую пробу; L_k - интенсивность люминесценции контрольной суспензии lux-биосенсора.

Для коррекции артефактов, связанных с изменением активности люциферазы, определяли коэффициент подавления люминесценции (K) с использованием контрольного штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) с конститутивным промотором:

$$K = \frac{l_c}{l_k}$$

где l_c - интенсивность люминесценции суспензии штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) в присутствии исследуемой пробы; l_k - интенсивность люминесценции контрольной суспензии штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux).

Скорректированное значение индукционного фактора рассчитывали по формуле:

$$I_{\text{скаорр}} = \frac{I}{K}$$

Степень токсичности оценивали по значению индукционного фактора I : $I < 2$ (слабая токсичность), $2 \leq I < 10$ (умеренная токсичность), $I \geq 10$ (сильный токсический эффект) (Сазыкина и др., 2002).

Для штамма *V. aquamarinus* ВКПМ В-11245 рассчитывали индекс токсичности (T):

$$T = 100 \times \frac{I_k - I_c}{I_c}$$

где I_c — интенсивность люминесценции бактерий в исследуемой пробе при фиксированном времени экспозиции (30 мин); I_k — интенсивность люминесценции бактерий в контрольной пробе.

Пробы классифицировали по степени токсичности: $T < 20$ (допустимая степень токсичности), $20 \leq T < 50$ (образец токсичен), $T \geq 50$ (высокая степень токсичности) (МР 01.019-07, 2007).

Статистическая значимость ($p < 0,05$) изменения интенсивности биолюминесценции в исследуемой пробе по сравнению с контролем оценивалась с помощью t-критерия.

Статистическая обработка данных

Первичная статистическая обработка проводилась в MS Excel 2015, визуализация результатов выполнялись в R 4.4.2 (R Core Team, 2024), RStudio (Posit Team, 2024) с применением пакета ggplot 3.5.1 (Wickham, 2016). Оценка экотоксичности относительно контроля оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Определение экотоксических эффектов проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону

Результаты определения генотоксичности и прооксидантных параметров проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону представлены на рисунке 1.

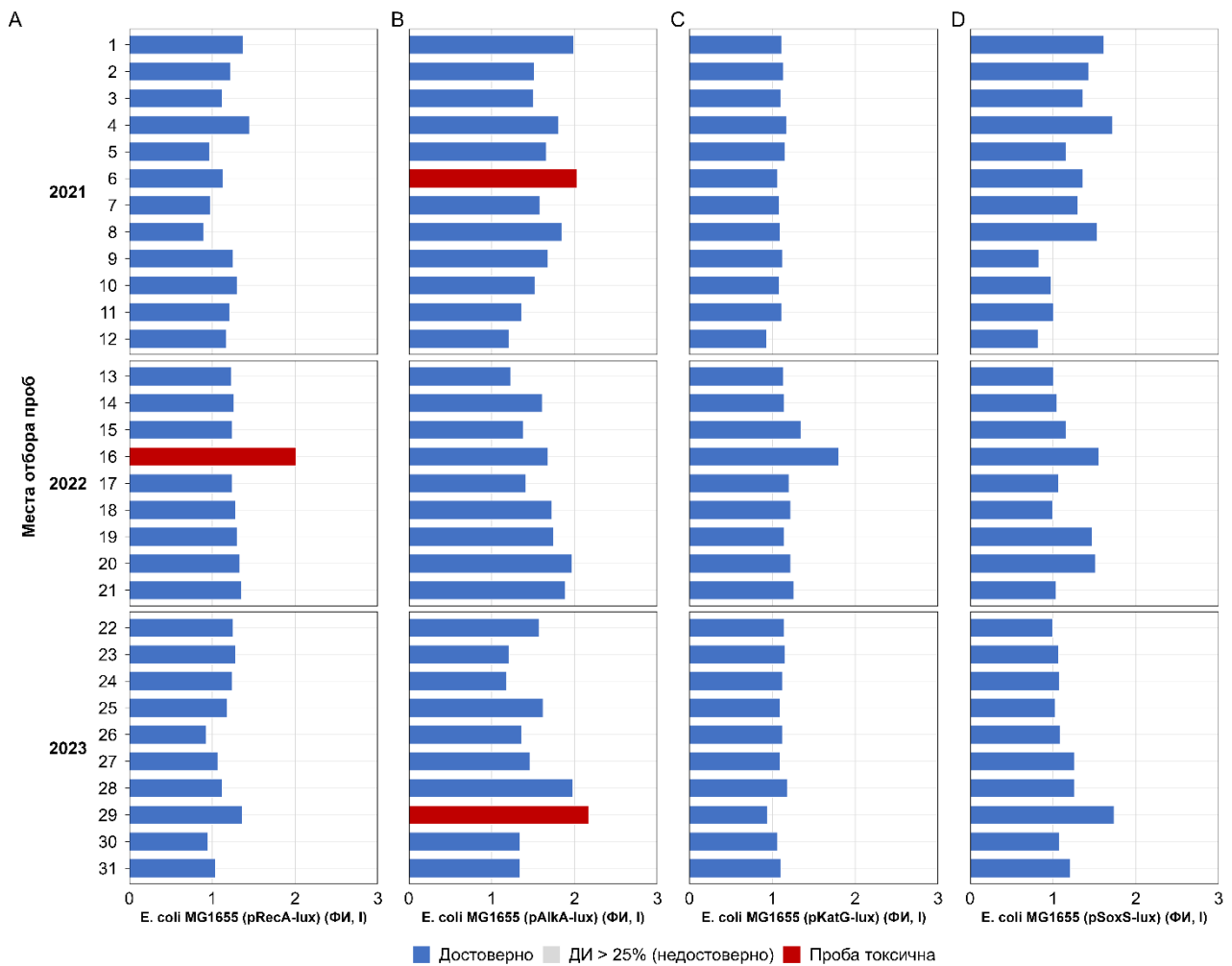


Рис. 1— Генотоксичность и прооксидантные свойства исследуемых проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (ФИ – фактор индукции; ДИ – доверительный интервал)

Сравнение факторов индукции при определении генотоксического эффекта с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) (активация SOS-ответа) показало, что индукция люминесценции в подавляющем большинстве проб оставалась на уровне слабой токсичности ($I < 2.0$) (рисунок 1А). Значение фактора индукции, соответствующее умеренной токсичности ($2.0 \leq I \leq 10.0$), зафиксировано лишь в одной пробе - № 16 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 25.03.2022; $I = 2.01$). Показатели высокой генотоксичности ($I > 10.0$) не зафиксированы ни для одной из проб.

Определение генотоксичности с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) (наличие алкилирующих агентов) дало сходные результаты (рисунок 1В). В большинстве образцов фактор индукции оставался ниже

порогового значения, а показатели, соответствующие умеренной токсичности, были выявлены только в пробах № 6 (городской пляж, 12.05.2021; $I = 2.03$) и № 29 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 10.10.2023; $I = 2.17$). Это свидетельствует об эпизодическом локальном присутствии алкилирующих генотоксикантов в этих сайтах отбора.

Для оценки окислительного стресса применялись биосенсоры *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) (пероксидный стресс) и *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) (супероксидный стресс) (рисунок 1С, D). Во всех проанализированных пробах значения факторов индукции по обоим биосенсорам не превышали 2,0, что говорит о слабой токсичности.

Высокотоксичных проб по показателю интегральной токсичности, определяемому с помощью *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, выявлено не было. В пробе № 16 (устье р. Темерник, 25.03.2022; $T = 22.10$) зарегистрирован допустимый уровень токсичности (Рисунок 2А). Причем в этой же пробе были выявлены генотоксические эффекты с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), связанные с наличием ДНК-повреждающих веществ.

Реакция биосенсора *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux), регистрирующего повреждение белков, также характеризовалась низкими значениями фактора индукции (рисунок 2В). Во всех пробах значение фактора индукции не достигало 2,0. Максимальный ответ биосенсора ($I = 1.78$) наблюдался в пробе № 20 (речной вокзал, 17.05.2022), что указывает на отсутствие токсикантов, ассоциированных с повреждением белков на исследованных участках р. Дон и Темерник.

Биосенсор *E. coli* MG1655 (pFabA-lux), показал более выраженную реакцию (рисунок 2С). Значения I в диапазоне умеренной токсичности зафиксированы в трех образцах: № 2 (городской пляж, 22.03.2021; $I = 2.12$), № 7 (речной вокзал, 12.05.2021; $I = 2.12$) и № 29 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 10.10.2023; $I = 2.21$). Это указывает на наличие токсикантов, связанных с нарушением целостности мембран в речной воде, преимущественно в зонах рекреации и в районе устья Темерника.

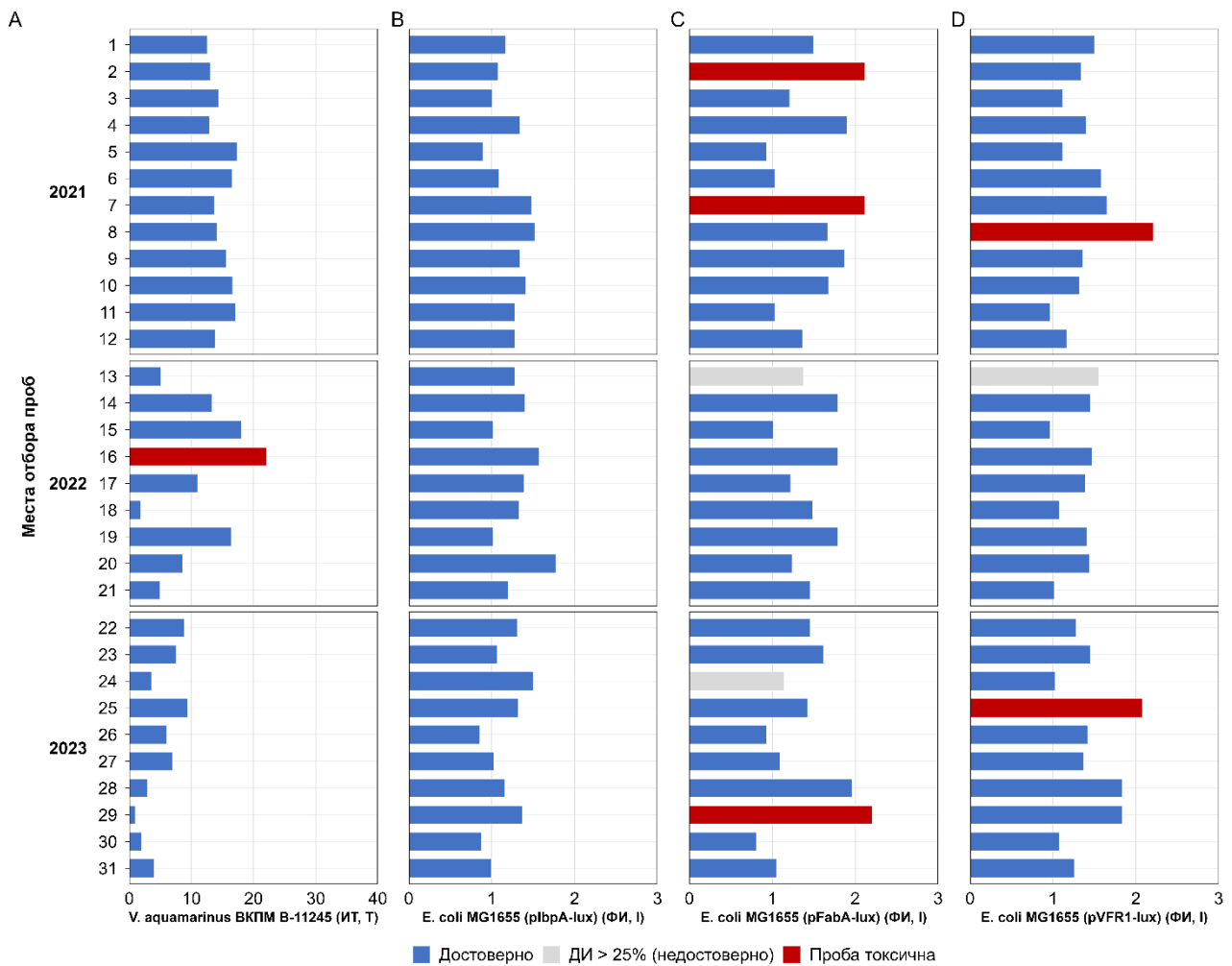


Рис. 2 — Интегральная токсичность и наличие аутоиндукторов системы Quorum sensing, токсикантов, повреждающих белки и мембраны в исследуемых пробах воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (ФИ – фактор индукции; ДИ – доверительный интервал).

При использовании биосенсора *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux), значение фактора индукции $I \geq 2.0$ отмечено в двух образцах р. Дон в районе устья р. Темерник: № 8 (12.05.2021; $I = 2.21$) и № 25 (27.06.2023; $I = 2.08$) (рисунок 2D). Таким образом, именно в этом сайте периодически регистрировалась активация сигнальных путей, ассоциированных с аутоиндукторами *Quorum sensing*.

Определение экотоксических эффектов проб воды реки Дон в акватории г. Азова

Исследования экотоксикологических параметров также проводились для проб воды р. Дон в акватории г. Азова (Рисунки 3 и 4).

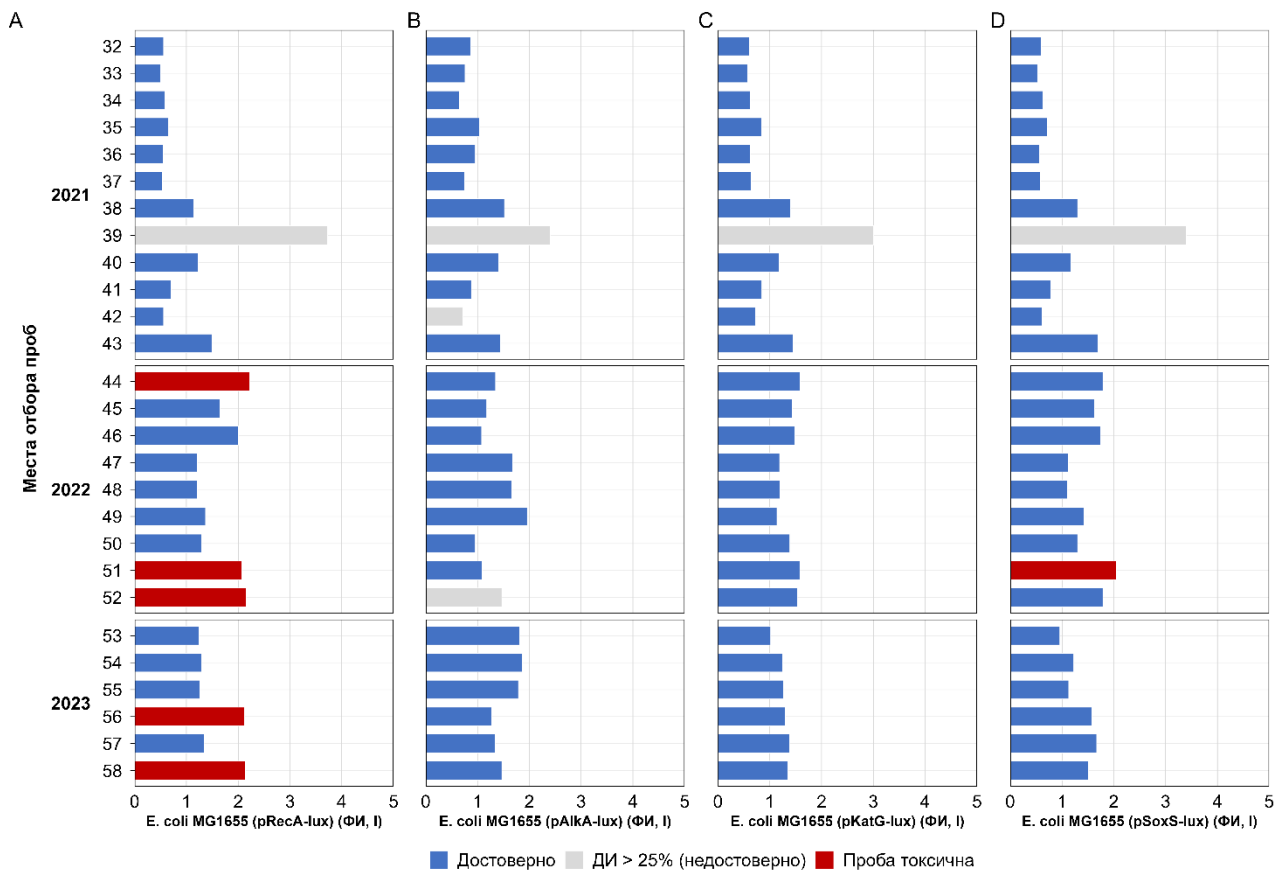


Рис. 3 — Генотоксичность и прооксидантные свойства исследуемых проб воды реки Дон в акватории г. Азова (ФИ – фактор индукции; ДИ – доверительный интервал).

Определение генотоксичности (Рисунок 3А) показало, что для большинства проб акватории г. Азова значения I соответствовали слабой токсичности. Умеренный генотоксический эффект зарегистрирован в 5 пробах: № 44 (водозабор, 29.03.2022; I = 2,22), № 51 (место сброса СТВ, 13.09.2022; I = 2.07), № 52 (место рекреации, 13.09.2022; I = 2.15), № 56 (водозабор, 4.07.2023; I = 2.12) и № 58 (место рекреации, 4.07.2023; I = 2.14), что свидетельствовало о регулярном присутствии ДНК-повреждающих соединений как в зоне сброса СТВ, так и в прибрежной рекреационной зоне. В пробе № 39 (место сброса СТВ, 5.10.2021; I = 3,72±1,44) результаты не достоверны. Также, в пробе № 51 отмечена токсичность, ассоциированная с супероксидным стрессом.

Для биосенсоров *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) (рисунок 3В), *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) (рисунок 3D) и *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux) (рисунок 4В) значения факторов индукции, как правило, не превышали 2,0, а недостоверные данные по умеренной токсичности получены лишь для отдельных проб.

Высокотоксичные пробы по показателю интегральной токсичности в акватории Азова не были выявлены (рисунок 4А). К токсичным пробам относились: № 39 и 40 (5.10.2021; Т = 26.49; 26.27), № 44–46 (29.03.2022; Т = 29.51; 36.96; 36.19), № 50–52 (13.09.2022; Т = 26.38; 30.27; 30.00) и № 56–58 (4.07.2023; Т = 21.60; 29.99; 21.73). Причем, интегральную токсичность выявляли в конкретные даты отбора проб вне зависимости от точки отбора.

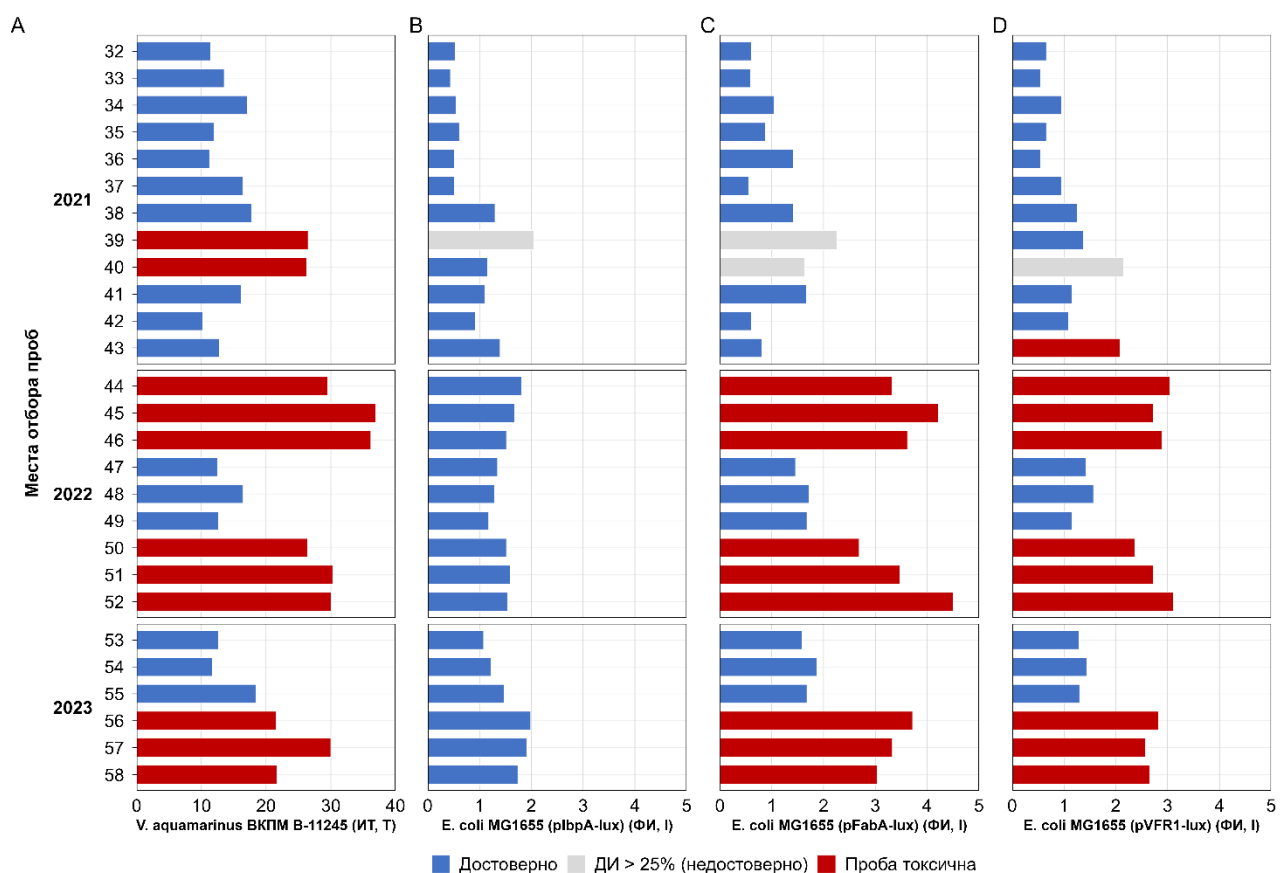


Рис. 4 — Интегральная токсичность и наличие аутоиндукторов системы *Quorum sensing*, токсикантов, повреждающих белки и мембраны в исследуемых пробах воды реки Дон в акватории г. Азова (ФИ – фактор индукции; ДИ – доверительный интервал).

Пробы № 45, 46, 50–52, 56–58 определены как токсичные с использованием биосенсорного штамма *E. coli* MG1655 (pFabA-lux) (Рисунок

4С). Также в этих пробах регистрировали факторы индукции средней величины с применением биосенсора *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux). Максимальное значение фактора индукции наблюдали в образце № 52 ($I = 4.51$; место рекреации; 13.09.2022) (рисунок 4D).

Таким образом, результаты указывают на существенную нагрузку на акваторию р. Дон в г. Азове веществами, вызывающими повреждения мембран и ДНК, индукторами кворум-сенсинга I типа.

Сравнение интегральной токсичности проб из двух акваторий показало статистически значимое превышение токсичности в Азове по сравнению с Ростовом-на-Дону ($p = 0.0006$). Достоверные различия ($p < 0,05$) между акваториями выявлены при тестировании токсичности с использованием *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pFabA-lux) и *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux). Во всех случаях токсичность и наличие индукторов *Quorum sensing* были значительно выше в пробах воды из г. Азова.

Систематический мониторинг генотоксичности донных отложений р. Дон в 2001–2011 гг., охватывающий акваторию от Азовского моря до приустьевых участков крупных притоков, выявил, что стабильное загрязнение генотоксическими веществами было характерно для всех обследованных участков Нижнего Дона на протяжении всего периода наблюдений. Наибольшие и наиболее воспроизводимые генотоксические эффекты фиксировались в точках: 0 км (устьевой створ), 500 м ниже г. Азова и в устье р. Маныч. Кроме генотоксического эффекта, прооксидантная активность (пероксиды) была зарегистрирована в 87.5 % экстрактах донных отложений, тогда как индукция супероксид-аниона – в 18.7 5%. Токсичность, связанная с веществами, повреждающими белки, встречалась в 100% исследуемых проб.

Ранее, на основе данных, полученных с помощью люминесцентного биотестирования, к трем наиболее экологически неблагополучным участкам Нижнего Дона были отнесены устье рукава Большая Кутерьма и Мокрая Каланча, район станицы Багаевской (Сазыкина и др., 2016). Проведенная исследователями экотоксикологическая оценка донных отложений в нижнем течении р. Дон при определении пространственного распределения полициклических ароматических углеводородов показала токсичность и генотоксичность всех проб. Кроме того, была выявлена значительная корреляция между концентрацией отдельных полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях и генотоксическим эффектом (Sazykin et al., 2015).

Заключение

Применение батареи цельноклеточных бактериальных люминесцентных сенсоров позволило оценить пространственное загрязнение двух акваторий Ростовской области в нижнем течении реки Дон. Результаты показали существенную нагрузку на р. Дон в обеих акваториях веществами, вызывающими повреждения мембран и ДНК, индукторами кворум-сенсинга I типа. Показано, что наиболее загрязнены поллютантами преимущественно зоны рекреации, водозаборов и района устья р. Темерник. Необходимо проведение дальнейших мониторинговых исследований для полной долгосрочной оценки экотоксичности воды р. Дон в данных сайтах отбора проб, учитывая их важное значение в водопользовании региона.

Благодарности и финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2026-0025.

Список источников

1. Данилов В.С., Зарубина А.П., Ерошников Г.Е., Соловьева Л.Н., Каташев Ф.В., Завильгельский Г.Б. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов люминесцентных бактерий // Вестник Московского Ун-та. Сер. 16: Биология. - 2002. - №3.- С. 20-24

2. Лаврский А.Ю., Пронина М.Д. Динамика биолюминесценции рекомбинантного штамма *Escherichia coli* «Эколюм 8» при различных условиях культивирования // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. 2023. № 1. С. 53–60.

3. МР 01.019-07. Определение интегральной токсичности почв с помощью биотеста «Эколюм». – Москва: ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 2007. 17 с.

4. МР 01.020-07. Определение токсичности воздушной среды с помощью биотеста «Эколюм». Москва: Роспотребнадзор, 2007. [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200059372?section=text> (дата обращения: 15.01.2026)

5. МР 01.021-07. Методика экспрессного определения интегральной химической токсичности питьевых, поверхностных, грунтовых, сточных и

Седова Д. А., Сазыкина М. А., Климова М. В., Сазыкин И. С., Экотоксикологические показатели воды рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов // «Живые и биокосные системы». – 2026. – № 55; URL: <https://jbs.ru/archive/issue-55/article-18>; DOI: 10.18522/2308-9709-2026-55-18

очищенных сточных вод с помощью бактериального теста «Эколюм». Москва: МЗ РФ, 2007. 11 с.

6. Сазыкин И.С., Сазыкина М.А., Кудеевская Е.М., Сазыкина М.И. Штамм *Vibrio aquamarinus*, способ определения токсичности проб с его помощью и тест-культура для определения токсичности проб: пат. 2534819 Рос. Федерация. 2014.

7. Сазыкина М.А., Сазыкин И.С., Хаммами М.И. Биосенсорный анализ антропогенного загрязнения донных отложений Нижнего Дона // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2016. Т. 12, № 1. С. 5–11.

8. Сазыкина М.А., Чистяков В.А., Войнова Н.В. Способ выявления генотоксичности химических веществ: пат. RU 2179581 Рос. Федерация. 2002.

9. Сазыкина М.А. Экотоксикологическая оценка водных экосистем с использованием биосенсоров на основе люминесцентных бактерий: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Ростов-на-Дону: Южный федеральный университет, 2014.

10. Ушаков В. Ю. Sos-система репарации ДНК у бактерий (обзор) // Вестник ПГУ. Биология. 2010. №2. С. 19–30.

11. Brouwer H.A., Murphy T., McArdle L. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum* // Environmental Toxicology and Chemistry. 1990. Vol. 9, no. 11. P. 1353–1358. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.024>

12. Dunn A.K., Rader B.A., Stabb E.V., Mandel M.J. Regulation of bioluminescence in *Photobacterium leiognathi* strain KNH6 // Journal of Bacteriology. 2015. Vol. 197, no. 23. P. 3676–3685. <https://doi.org/10.1128/JB.00524-15>

13. Girotti S., Ferri E.N., Fumo M.G., Maiolini E. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria // Analytica Chimica Acta. 2008. Vol. 608, no. 1. P. 2–29. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.12.008>

14. Kotova V.Y., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.B. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock, and oxidative stress // Applied Biochemistry and Microbiology. 2010. Vol. 46, no. 8. P. 781–788. <https://doi.org/10.1134/S0003683810080089>

15. Lupp C., Urbanowski M., Greenberg E.P., Ruby E.G. The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems ain and lux sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host // Molecular Microbiology. 2003. Vol. 50, no. 1. P. 319–331. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.t01-1-03585.x>

16. Nijvipakul S., Wongratana J., Suadee C. LuxG is a functioning flavin reductase for bacterial luminescence // Journal of Bacteriology. 2008. Vol. 190, no. 5. P. 1531–1538. <https://doi.org/10.1128/JB.01660-07>

17. Nunes-Halldorson V.D.S., Duran N.L. Bioluminescent bacteria: lux genes as environmental biosensors // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2003. Vol. 34. P. 91–96. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000200001>
18. Pérez K.F.B., Charlatchka R., Sahli L., Féraud J.F. New methodological improvements in the Microtox® solid phase assay // *Chemosphere*. 2012. Vol. 86, no. 1. P. 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.08.042>
19. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2024. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.R-project.org/> (дата обращения: 15.01.2026)
20. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2016. Version 3.5.1. [Электронный ресурс]. URL: <https://cran.r-project.org/package=ggplot2> (дата обращения: 15.01.2026)
21. Posit Team. RStudio: Integrated Development Environment. Boston, MA: Posit Software, PBC, 2024. [Электронный ресурс]. URL: <https://posit.co/> (дата обращения: 15.01.2026)
22. Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide // *Mutation Research*. 2007. Vol. 634, no. 1–2. P. 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.07.012>
23. Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Sensor bioluminescent systems based on lux operons for the toxic substances detection // *Khimicheskaya Fizika*. 2012. Vol. 31, no. 10. P. 15–20.

References

1. Danilov V.S., Zarubina A.P., Erochnikov G.E., Solovyeva L.N., Kartashev F.V., Zavilgelskii G.B. Sensory bioluminescence systems based on lux-operons of various-type luminescent bacteria. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2002, no. 3, pp. 20-24. (In Russ.)
2. Lavrskii A.Yu., Pronina M.D. Dynamics of bioluminescence of the recombinant *Escherichia coli* strain “Ecolum 8” under various cultivation conditions // *Bulletin of Perm State Humanities and Pedagogical University. Series No. 2. Physical, Mathematical and Natural Sciences*. 2023. No. 1. P. 53–60. (In Russ.)
3. MR 01.019-07. Opredelenie integralnoi toksichnosti pochv s pomoshch'yu biotesta “Ecolum”. Moscow: FGUZ “Federalny centr gigieny i epidemiologii” Rospotrebnadzora, 2007. 17 p. (In Russ.)
4. MR 01.020-07. Opredelenie toksichnosti vozduшной среды s pomoshch'yu biotesta “Ecolum”. Moscow: Rospotrebnadzor, 2007. [Electronic

resource]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200059372?section=text> (accessed: 15.01.2026) (In Russ.)

5. MR 01.021-07. Metodika ekspresnogo opredeleniya integralnoi khimicheskoi toksichnosti pit'evykh, povrernostnykh, gruntovykh, stochnykh i ochishchennykh stochnykh vod s pomoshch'yu bakterial'nogo testa "Ecolum". Moscow: MZ RF, 2007. 11 p. (In Russ.)

6. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Kudeevskaya E.M., Sazykina M.I. Shtamm *Vibrio aquamarinus*, sposob opredeleniya toksichnosti prob s ego pomoshch'yu i test-kul'tura dlya opredeleniya toksichnosti prob: pat. 2534819 Ros. Federaciya. 2014. (In Russ.)

7. Sazykina M.A., Sazykin I.S., Hammami M.I. Biosensornyj analiz antropogennoho zagryazneniya donnykh otlozhenij Nizhnego Dona // Vestnik biotekhnologii i fiziko-himicheskoi biologii im. YU.A. Ovchinnikova. 2016. T. 12, № 1. P. 5–11. (In Russ.)

8. Sazykina M.A., CHistyakov V.A., Vojnova N.V. Sposob vyyavleniya genotoksichnosti himicheskikh veshchestv: pat. RU 2179581 Ros. Federaciya. 2002. (In Russ.)

9. Sazykina M.A. Ekotoksikologicheskaya ocenka vodnykh ekosistem s ispol'zovaniem biosenzorov na osnove lyuminescentnykh bakterij: dis. ... kand. biol. nauk: 03.02.08. Rostov-na-Donu: Yuzhnyj federal'nyj universitet, 2014. (In Russ.)

10. Ushakov V.Y. SOS-system of DNA repair in bacteria // Bulletin of Perm University. Biology Series. 2010. No. 2. P. 19–30. (In Russ.)

11. Brouwer H.A., Murphy T., McArdle L. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum* // Environmental Toxicology and Chemistry. 1990. Vol. 9, no. 11. P. 1353–1358. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.024>

12. Dunn A.K., Rader B.A., Stabb E.V., Mandel M.J. Regulation of bioluminescence in *Photobacterium leiognathi* strain KNH6 // Journal of Bacteriology. 2015. Vol. 197, no. 23. P. 3676–3685. <https://doi.org/10.1128/JB.00524-15>

13. Girotti S., Ferri E.N., Fumo M.G., Maiolini E. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria // Analytica Chimica Acta. 2008. Vol. 608, no. 1. P. 2–29. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.12.008>

14. Kotova V.Y., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.B. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock, and oxidative stress // Applied Biochemistry

and Microbiology. 2010. Vol. 46, no. 8. P. 781–788. <https://doi.org/10.1134/S0003683810080089>

15. Lupp C., Urbanowski M., Greenberg E.P., Ruby E.G. The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems *ain* and *lux* sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host // *Molecular Microbiology*. 2003. Vol. 50, no. 1. P. 319–331. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.t01-1-03585.x>

16. Nijvipakul S., Wongratana J., Suadee C. LuxG is a functioning flavin reductase for bacterial luminescence // *Journal of Bacteriology*. 2008. Vol. 190, no. 5. P. 1531–1538. <https://doi.org/10.1128/JB.01660-07>

17. Nunes-Halldorson V.D.S., Duran N.L. Bioluminescent bacteria: lux genes as environmental biosensors // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2003. Vol. 34. P. 91–96. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000200001>

18. Pérez K.F.B., Charlatchka R., Sahli L., Féraud J.F. New methodological improvements in the Microtox® solid phase assay // *Chemosphere*. 2012. Vol. 86, no. 1. P. 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.08.042>

19. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2024. [Electronic resource]. URL: <https://www.R-project.org/> (accessed: 15.01.2026)

20. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2016. Version 3.5.1. [Electronic resource]. URL: <https://cran.r-project.org/package=ggplot2> (accessed: 15.01.2026)

21. Posit Team. RStudio: Integrated Development Environment. Boston, MA: Posit Software, PBC, 2024. [Electronic resource]. URL: <https://posit.co/> (accessed: 15.01.2026)

22. Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide // *Mutation Research*. 2007. Vol. 634, no. 1–2. P. 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.07.012>

23. Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Sensor bioluminescent systems based on lux operons for the toxic substances detection // *Khimicheskaya Fizika*. 2012. Vol. 31, no. 10. P. 15–20.

ECOTOXICOLOGICAL INDICATORS OF THE DON AND TEMERNIK RIVER WATER IN ROSTOV-ON-DON AND AZOV AQUATIC AREAS

Sedova D. A.^{1,2*}, Sazykina M. A.¹, Klimova M.V.¹, Sazykin I. S.¹

¹*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

²*Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia*

dased0va@yandex.ru*

samara@sfedu.ru

juravliova.mascha@mail.ru

issa@sfedu.ru

ORCID: (0000-0003-1194-7251, 0000-0001-6974-3361, 0000-0001-6152-3030,
0000-0002-0864-1473)

Annotation

Bioluminescent methods using a battery of whole-cell bacterial lux biosensors can quickly provide preliminary assessments of the toxicity of aquatic ecosystems exposed to anthropogenic pollution. The aim of this study was to evaluate the ecotoxicological effects of water samples from the Don and Temernik rivers in the waters of Rostov-on-Don and Azov. The study was conducted from 2021 to 2023, analyzing 58 water samples from the Don and Temernik rivers (27 in the waters of Azov and 31 in the waters of Rostov-on-Don). Water samples were collected at water intake sites, recreational areas, residential areas, and wastewater discharge points. The natural bioluminescent strain *Vibrio aquamarinus* VKPM B-11245 was used to study the integral toxicity of the water samples. Genotoxicity, prooxidant properties, the presence of substances damaging proteins and violating the integrity of cell membranes, and quorum sensing inducers in surface waters were determined using recombinant *E. coli* MG1655 strains. The results indicate a significant load on the Don River in both water areas with substances causing membrane and DNA damage, and type I quorum sensing inducers. No highly toxic samples were detected. Comparison of the integrated toxicity of samples from the two water areas showed a statistically significant excess of toxicity in the city of Azov compared to Rostov-on-Don. Reliable differences between the toxicity of water samples were detected using three lux biosensors: *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pFabA-lux), and *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux). In all cases, toxicity and the presence of quorum sensing inducers type I were significantly higher in water samples from the city of Azov.

Keywords

Седова Д. А., Сазыкина М. А., Климова М. В., Сазыкин И. С., Экотоксикологические показатели воды рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов // «Живые и биокосные системы». – 2026. – № 55; URL: <https://jbks.ru/archive/issue-55/article-18>; DOI: 10.18522/2308-9709-2026-55-18

Toxicity, genotoxicity, membrane damage, oxidative stress, surface waters,
bacterial lux-biosensors

Статья поступила в редакцию 8 февраля 2026 г.

Поступила после доработки 18 февраля 2026 г.

Принята к печати 12 марта 2026 г.

Received 8, February, 2026

Revised 18, February, 2026

Accepted 12, March, 2026