



УДК УДК 57.042: 631.453

Модели “доза-эффект” для оценки экологического риска при техногенном загрязнении почвы

ШИТИКОВ
Владимир Киррилович

*Институт экологии Волжского бассейна РАН,
stok1946@gmail.com*

ТЕРЕХОВА
Вера Александровна

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.
Северцова РАН, Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова,
vterekhova@gmail.com*

УЗБЕКОВ
Бексултан Алмазович

*Международный университет Кыргызстана,
phytorem@mail.ru*

КЫДРАЛИЕВА
Камиля Асылбековна

*Институт химии и химической технологии, НАН КР,
kamila.kydralieva@gmail.com*

ХУДАЙБЕРГЕНОВА
Бермет Мерлисовна

*Институт биотехнологии НАН КР,
bermet66@gmail.com*

Ключевые слова:

биодиагностика
оценка экологического риска
радиоактивное загрязнение
почвы Киргизии
модели доза-эффект
логистическая регрессия

Аннотация:

Выполнен обзор регрессионных моделей для аппроксимации зависимостей “доза-эффект” по результатам экотоксикологических исследований. Обсуждаются преимущества и недостатки различных моделей, а также проблемы, возникающие в процессе моделирования и при последующей интерпретации результатов с целью экологического нормирования и оценки риска негативного воздействия. Показаны процедуры поиска наилучших зависимостей на основе статистических критериев и методы оценки неопределенности рассчитываемых параметров. Построение моделей подробно иллюстрируется с использованием результатов анализа токсичности образцов почвы с отвалов урановых шахт в районе пос. Каджи-Сай (Кыргызстан). Получены пороговые значения активности радионуклидов U-238 и Ra-226, обеспечивающие минимальную вероятность экологического риска.

© 2015 Петрозаводский государственный университет

Рецензент: Н. М. Калинкина

Получена: 17 мая 2015 года

Опубликована: 16 октября 2015 года

Введение

Современная методология оценки техногенной нагрузки и обоснования экологического риска основывается на натурных исследованиях природных экосистем, находящихся в градиенте воздействия.

При этом оценка вероятности возникновения отрицательных изменений в окружающей среде (или отдалённых неблагоприятных последствий этих изменений) заключается в выявлении критических точек зависимости доза-эффект, которые интерпретируются «как начало наиболее быстрой трансформации экосистемы, либо как точка, после которой начинается выпадение основных компонентов биоценоза или разрушение системных связей» (Воробейчик и др., 1994).

Важным отличием моделей “доза-эффект” от остальных регрессионных моделей является учет объективной закономерности реакции экосистем на внешнее возмущение, которая имеет, как правило, форму S-образной кривой с наличием резко выраженного перехода между двумя уровнями. При этом в литературных источниках (Finney, 1979; Seber, Wild, 1989; Moore, Caux, 1997; Slob, 2002) представлен обширный набор различных версий таких моделей, которые в частных случаях демонстрируют большую гибкость аппроксимации эмпирических данных и обеспечивают адекватную надежность в области низких уровней эффекта, где неопределенность регрессии традиционно велика, а величина оцениваемого критического значения весьма чувствительна к выбору спецификации модели.

Здесь уместно уточнить терминологию. Под “дозой” мы понимаем любое (химическое, физическое, термическое, биологическое, радиационное) воздействие на экосистему, измеряемое в непрерывной шкале и выражаемое количественно в произвольных единицах измерения. “Эффект” или отклик (англ. response) – реакция экосистемы на воздействие определенного уровня, также выраженная количественно.

При этом различают модели, рассматривающие в качестве эффекта как непрерывные или счетные исходные данные, так и квантованный результат измерений с конечным числом возможных состояний (quantal response). Для непрерывных и счетных данных модель регрессии оценивает натуральную величину эффекта как функцию дозы, тогда как для квантованных данных она предсказывает вероятность того, что при заданной дозе наступит прогнозируемый исход (например, гибель особей). Это различие может быть важным для интерпретации полученных параметров, таких, как пороговая доза, но не является принципиальным обстоятельством при разработке средств моделирования статистической тенденции в эмпирических данных.

Мы в своей публикации преследуем две цели. Одна из них является методической и заключается в рассмотрении некоторых существующих подходов к построению моделей зависимости “доза-эффект”, способам их подгонки и сравнения, а также особенностям интерпретации. Другая цель состоит в рассмотрении применимости этих моделей для оценки экологического риска радиационного загрязнения почвы в ходе карьерной добычи урансодержащих рудных ископаемых.

Материалы

Изучалась территория (рис.1) в районе пос. Каджи-Сай (Кыргызстан), где, начиная с 1947 г., велась разработка урансодержащих месторождений одновременно с добычей лигнита. Содержание урана в породе оказалось крайне низким и в 60-х годах разработку закрывают, но в том же месте стали добывать уголь, которого оказалось довольно много.

Образцы верхних слоев почвы до 25 см отбирались с 22 пробных площадок, находящихся как на территории отвалов урановых шахт, так и в относительно чистых районах (на склонах прилегающего горного массива, по берегу оз. Иссык-Куль и в Боомском ущелье).

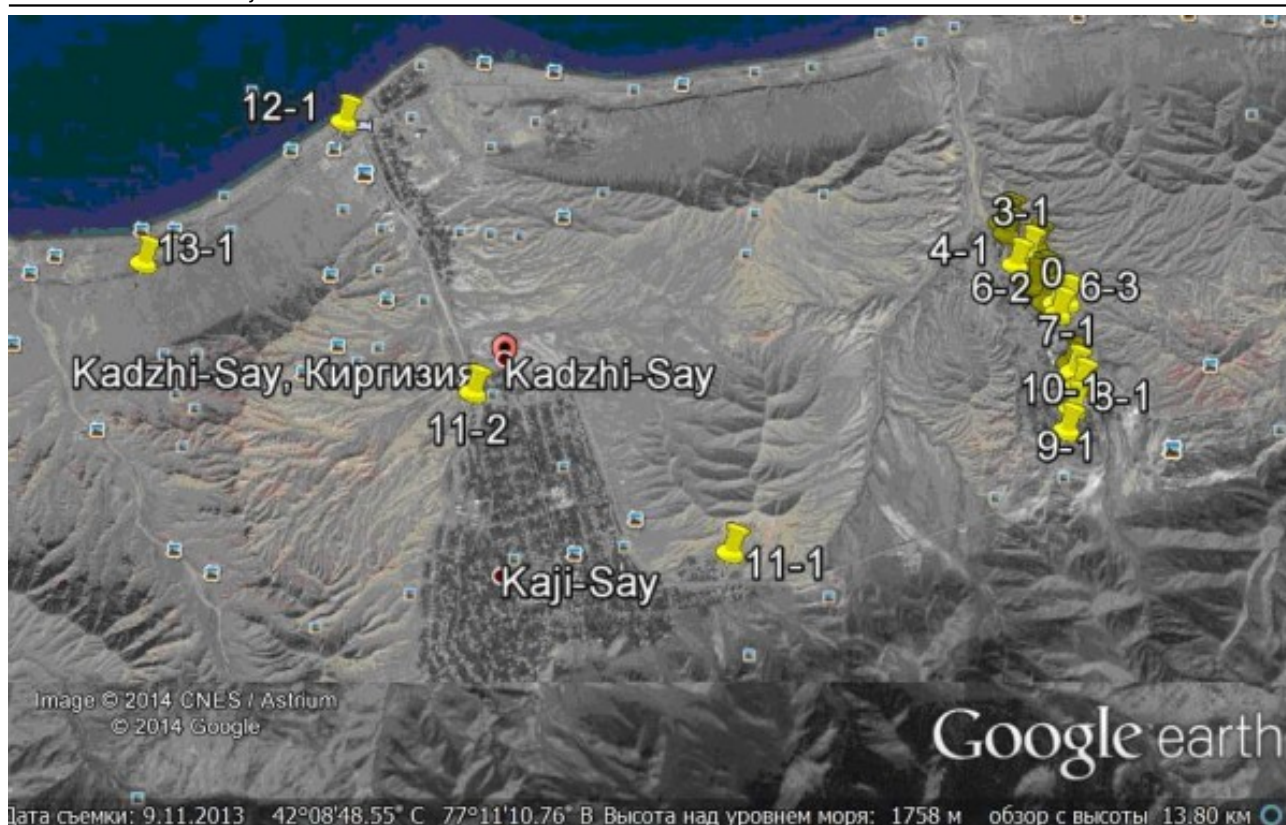


Рис 1. Общий план точек отбора проб почвы
Fig. 1. General view of soil sampling points

Почвы исследуемых участков характеризуются как светло-коричневые, типичные для горных долин. Текстура главным образом глинистая, содержащая значительную фракцию каменных частиц. Содержание гумуса составляет 0.5-1.5 %, общего азота - 0.1-0.2 %, pH имеет отчетливую щелочную реакцию. Растительный покров представлен двумя формированиями: на возвышенностях - травянистый с преобладанием эстрагона (*Artemisia dracunculus*), а в северной части - доминирующая над травой полынь Федченко (*Artemisia fedtschenkoana*).

Степень техногенного воздействия на территорию (которая в дальнейшем будет интерпретироваться как “доза”) оценивалась в рамках настоящей публикации по одному из измеренных показателей - объемной активности поверхностного слоя почвы, Бк/кг, за счет распада ядер трех радионуклидов (U-238, Ra-226 и Pb-210). Для измерения активности радионуклидов в отобранных образцах использовался гамма-спектрометр «Canberra» Model GX4019.

Для оценки отклика экосистемы (“эффекта”) использовались данные биологического анализа почвенных образцов, отобранных с изучаемых пробных площадок. Эти биодиагностические данные включали две группы взаимодополняющих показателей: экологические - результаты биоиндикационных исследований сообществ почвенных микроорганизмов и токсикологические - результаты лабораторного фитотестирования (Terekhova, 2011; Terekhova et al., 2014).

Биотестирование с использованием высших растений *Sinapis alba* проводилось в пластиковых планшетах по показателю средней длины корня проростков семян горчицы белой, выращенных в стандартных условиях на исследуемых образцах почвы (Терехова и др., 2014) .

Биоиндикация сообществ почвенных микроорганизмов проводилась по численности колониеобразующих единиц (КОЕ). Учитывалась общая численность разных структурно-функциональных групп культивируемых микроорганизмов и численность колоний некоторых таксонов (родов) после посева аликвоты водной суспензии из серийного разведения почвенных образцов (1:100) на чашках Петри с питательными средами разного состава (Методы ..., 1991). Инкубация культур осуществлялась в течение 10-14 сут. в термостате при 24 °C (микромикеты) и 28 °C (бактерии и актиномицеты). Статистической обработке подвергали данные из 9 повторностей каждого опытного и контрольного варианта.

Для построения моделей “доза-эффект” использовались показатели численности КОЕ (в 1 грамме воздушно-сухой почвы) микроорганизмов следующих таксономических групп:

- бактерий (млн. КОЕ/г почвы) всего и отдельно по группам, выделенным по отношению к различным формам утилизируемого азота, которые выращивались с использованием трех питательных сред – МРА (мясо-пептонный агар), КАА (крахмало-аммиачный агар) и бульона Чапека;
- актиномицетов (тыс. КОЕ/ г почвы);
- микроскопических грибов (тыс. КОЕ/ г почвы) всего и отдельно по композициям видов родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Методы

Статистическая (т.е. основанная на средней тенденции) зависимость ϕ величины эффекта от уровня воздействия x описывалась моделями, которые в общем виде могут быть представлены как

$$\phi(x; b, c, d, e, \dots) = c + (d - c) \psi(x; b, e, \dots),$$

где параметры c и d являются нижним и верхним пределами отклика, а ψ - некоторая задаваемая нелинейная функция с параметрами b и e . Список моделей, протестированных в работе, приведен в табл. 1, в которой использованы наименования и формульная нотация из статьи (Ritz, 2010), претендующей на определенное тематическое обобщение.

Таблица 1. Математические формулы функций нелинейных моделей регрессии, используемых для аппроксимации зависимостей доза-эффект; код соответствует спецификации моделей в пакете *drc* среды R

Наименование модели	Вид функции регрессии	Код
Log-логистическая модель с четырьмя параметрами (b, c, d, e)	$\phi(x) = c + \frac{d - c}{1 + \exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$	LL.4
Log-логистическая модель с тремя параметрами (b, d, e)	$\phi(x) = \frac{d}{1 + \exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$	LL.3
Логистическая модель с четырьмя параметрами (b, c, d, e)	$\phi(x) = c + \frac{d - c}{1 + \exp\{b(x - e)\}}$	logistic
Логнормальная модель (пробит) с четырьмя параметрами (b, c, d, e)	$\phi(x) = c + (d - c)\Phi\{b(\log(x) - \log(e))\}$, где Φ - кумулятивная функция плотности для стандартного нормального распределения	Inormal
Модель Brain-Cousens (1989) с пятью параметрами (b, c, d, e, f)	$\phi(x) = c + \frac{d - c + fx}{1 + \exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$	BC.5
Модель Cedergreen-Ritz-Streibig (2005) с четырьмя параметрами (α, b, d, e)	$\phi(x) = \frac{d + f \exp(-1/x^\alpha)}{1 + \exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$	CRSc.4
Модель Gompertz с четырьмя параметрами (α, b, d, e)	$\phi(x) = c + (d - c)\{\exp[\exp(b(x - e))]\}$	gompertz
Модель Weibull - 1	$\phi(x) = c + (d - c)\{\exp[\exp(b(\log(x) - \log(e)))]\}$	W1.4
Модель Weibull - 2	$\phi(x) = c + (d - c)\{1 - \exp[\exp(b(\log(x) - \log(e)))]\}$	W2.4
Экспоненциальная модель с тремя параметрами (c, d, e)	$\phi(x) = c + (d - c)(\exp(-x/e))$	EXP.3
Экспоненциальная модель с двумя параметрами (d, e)	$\phi(x) = d(\exp(-x/e))$	EXP.2
Модель Michaelis-Menten с тремя параметрами (c, d, e)	$\phi(x) = c + \frac{d - c}{1 + (e/x)}$	MM.3

Оцениваемые параметры моделей имеют вполне определенный физический смысл. В частности, для лог-логистической модели LL.4 параметры c и d определяют нижнюю и верхнюю горизонтальные асимптоты сигмоидной кривой, e соответствует положению точки перегиба, а d – коэффициенту угла наклона в области переходного состояния. Подгонка (fitting) параметров моделей к анализируемым эмпирическим данным осуществлялась с использованием обобщенного метода минимизации отрицательного логарифма функции правдоподобия. Для отклика, измеренного в непрерывной шкале, минимизировалась сумма квадратов отклонений модельных прогнозов от наблюдаемых значений с учетом специально подбираемых весовых коэффициентов.

Статистический анализ оцениваемых параметров проводился с использованием t -критерия Стьюдента, с помощью которого проверялась гипотеза о равенстве каждого коэффициента нулю и рассчитывались p -значения, определяющие достигнутый уровень значимости. Проверка статистической значимости модели в целом осуществлялась путем ее сравнения с простой регрессией, имеющей нулевой коэффициент наклона (горизонтальная линия регрессии соответствует отсутствию зависимости доза-эффект). При этом в качестве тестовой статистики для сравнения двух отношений максимального правдоподобия использовался критерий χ^2 (Wood, 2006).

Выбор конкретной функции ϕ из множества представленных в табл. 1 может быть основан на некоторых эмпирических или теоретических предположениях, или, в отсутствии таковых, осуществляться с использованием общепринятых статистических критериев. Нами использовалось стандартное отклонение для остатков S_e , а при сравнении двух моделей с разным числом параметров – информационный критерий Акаике AIC, устанавливающий штраф за увеличение размерности модели (Шитиков, Розенберг, 2014).

Важнейшим для биотестирования является построение шкалы изоэффективных доз. Например, если в результате воздействия происходит угнетение жизнедеятельности биологического компонента, то мы можем полагать, что эффективная доза ED10, составляющая 10 % от общего эффекта, представляет собой критический экологический риск. Естественно, если мы анализируем динамику внесения гербицида, то мы должны ориентироваться на дозу внесения ED90, которая вызовет уничтожение 90 % сорняков. Важным опорным параметром является доза ED50, соответствующая 50 %-му сокращению биомассы сорняков или гибели в результате интоксикации половины подопытных животных.

Разность $(d - c)$ параметров модели зависимости отклика от дозы определяет, собственно, величину максимально достижимого эффекта и тогда легко найти любую дозу ED y , которая приводит к $(100 - y)$ % доле от $(d - c)$. Например, для той же модели LL.4 любая изоэффективная доза выражается через параметры b и e :

$$EDy = e (y / (100 - y))^{1/b}.$$

Поскольку для всей области определения модели могут быть оценены предикторные доверительные интервалы регрессии, то, тем самым, можно легко обосновать ошибку показателя ED y и другие характеристики его надежности. Заметим, что при использовании исходных данных с откликом, состоящим из квантованных значений 0 и 1, мы имеем $(d - c) = (1 - 0)$ и тогда ED y имеет вероятностный смысл, т.е. дозы, вызывающей регистрируемый эффект у y % особей, взятых в эксперимент.

Расчеты выполнялись с использованием пакета *drc* статистической среды R (Ritz, Streibig, 2005).

Результаты

В ходе статистической обработки было проанализировано 27 зависимостей девяти различных показателей отклика от трех воздействующих переменных. При этом в каждом случае осуществлялся перебор целого ряда возможных моделей-претендентов из числа представленных в табл. 1. В рамках настоящей статьи мы не имеем возможности привести даже минимальную информацию обо всех построенных моделях, поэтому остановимся далее на некоторых, наиболее характерных из них для каждой группы объектов, используемых в биодиагностике. Поэтому далее акцент будет сделан на использованные методики статистического анализа моделей и особенности их интерпретации.

Актиномицеты. Модели зависимости численности КОЕ культивируемых актиномицетов от активности радионуклида Ra-226 в образцах почвы представлены кривыми характерной сигмоидной формы с четко выраженной областью перегиба (рис. 2).

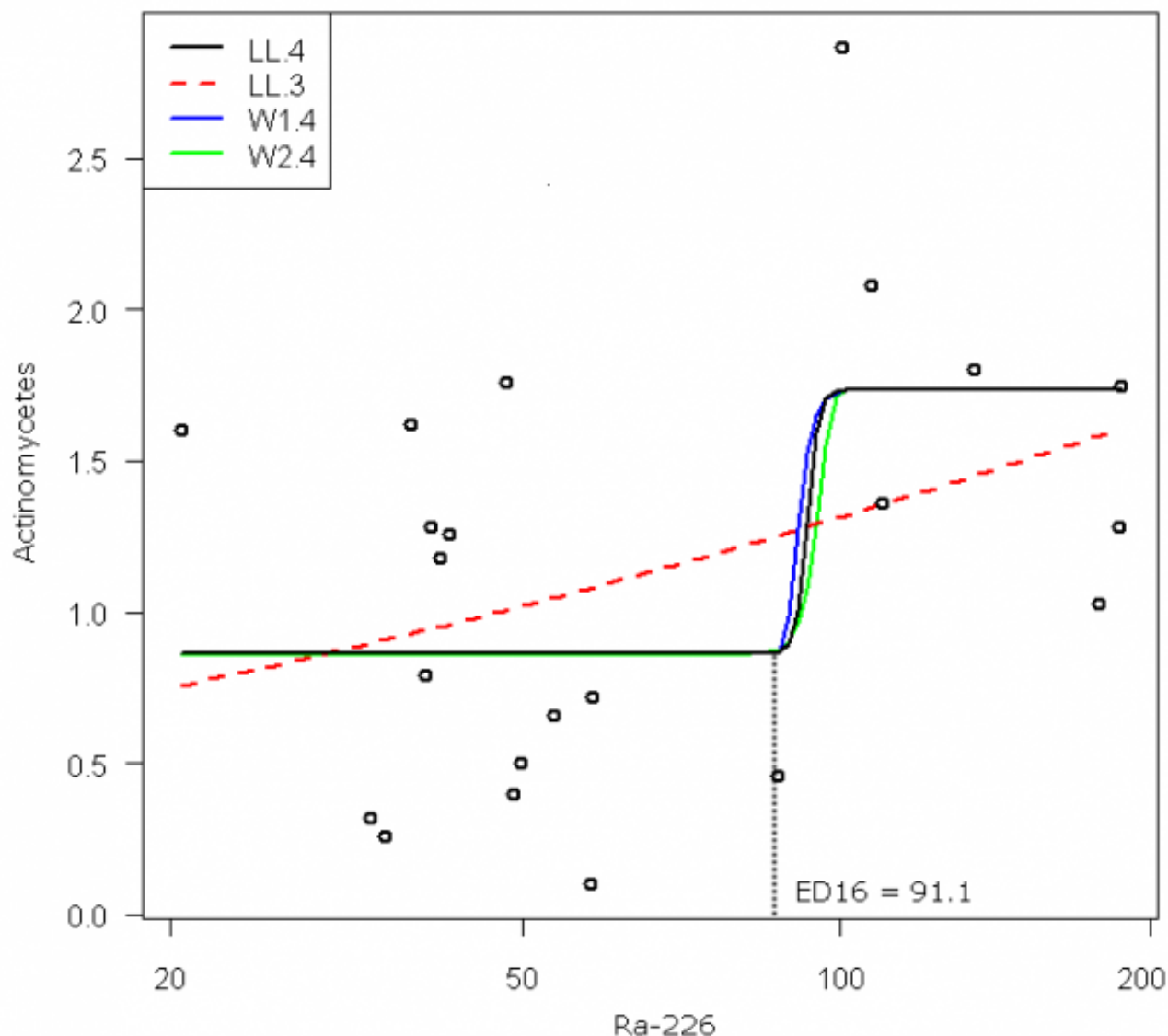


Рис 2. Кривые зависимости численности актиномицетов (тыс. КОЕ/г) от активности радионуклида Ra-226 в образцах почвы (Бк/кг), полученные с использованием четырех различных моделей; здесь и далее ось абсцисс представлена в логарифмическом масштабе

Fig. 2. Dose-response curves for describing the dependences of the number of actinomycete colony-forming units (ths. CFU/g) on the activity of radionuclide Ra-226 in the samples of soil (Bq/kg), using four different models; hereinafter the axis of abscises is presented in the logarithmic scale

Лог-логистическая модель LL.4 является симметричной относительно центральной точки, и ее параметр e численно равен показателю «половинного эффекта» ED50. Статистический анализ значимости оцениваемых параметров по t -критерию приводит к следующим величинам p -значений:

Параметры	Оценка	Ст.ошибка	t -критерий	p -значение
c : Нижний предел	0.86	0.154	5.57	≈ 0.0
d : Верхний предел	1.74	0.226	7.68	≈ 0.0
b : Наклон области перегиба	-78.37	123.5	-0.634	0.53
e : ED50	93.07	10.39	8.95	≈ 0.0

Здесь статистически неадекватной является только оценка угла наклона b кривой, что не имеет принципиального значения для обоснования экологического риска. Величина информационного критерия Акаике ($AIC = 45.38$) для этой модели была минимальной в ряду остальных моделей-претендентов. Набор изоэффективных значений активности Ra-226, оцениваемых по модели LL.4 для последовательности $y = \{5, 10, 16, 50 \text{ и } 84\%$, представлен в табл. 2.

Модели Вейбулла W1.4 (AIC = 45.41) и W2.4 (AIC = 45.42) с четырьмя параметрами дали в рассматриваемом примере весьма близкие результаты по сравнению с LL.4. Смысл их практического использования в иных случаях связан с асимметрией: кривая Weibull-1 медленнее убывает в области верхнего предела, но быстрее приближается к более низкому пределу, что позволяет точнее отследить зависимость в области низких уровней воздействия (с кривой Weibull-2 имеет место обратный результат).

Имеет смысл задаться важным вопросом: имеет ли какие-либо преимущества нелинейная модель по сравнению с простой линейной моделью? В рассматриваемом случае модель $\phi(x; d, b) = -0.55 + 0.406 \log(x)$ существенно уступала описанным выше моделям по степени приближения к эмпирическим данным (AIC = 48.45). Уменьшение числа параметров лог-логистической модели до 3 (т.е. нижний предел $c = 0$) разрушает «сигмоидность» кривой и LL.3 практически сводится к той же линейной зависимости, уступая ей по AIC-критерию (50.28) за счет штрафа за дополнительный параметр.

В последние десятилетия рядом исследований было показано, что при умеренных нагрузках показатели обилия и видового разнообразия некоторых популяций организмов (и почвенных микромицетов, в частности) могут увеличиваться при усилении химического или радиационного воздействия. Поскольку для всех моделей обилие *Actinomycetes* возрастает при увеличении активности Ra-226 в исследуемых образцах, то очевидно, что в рамках настоящего исследования эта группа почвенных микроорганизмов является достаточно информативным индикатором техногенного загрязнения.

Бактерии. Выполним селекцию моделей для зависимости численности бактерий, утилизирующих минеральные формы азота и выращенных на крахмало-аммиачном агаре (КАА), от активности радионуклида U-238 в образцах почвы:

Модель	AIC-критерий	p-значение lack of fit
LL.3	53.02134	0.5386110
EXD.3	53.58580	0.5327912
W2.4	55.01927	0.5255524
lnormal	55.02008	0.5255442
W1.4	55.02038	0.5255411
LL.4	55.02039	0.5255410
gompertz	55.55073	0.5201485
LL.5	57.01984	0.5118547
llogistic	57.01984	0.5118547

Представленный список отсортирован по возрастанию AIC-критерия или убыванию математической адекватности, оцениваемой как p-значение для F-критерия в тесте на потерю соответствия (lack of fit - Ritz, Martinussen, 2011). Здесь можно выделить три группы моделей, отличающихся числом параметров (3, 4 и 5) и, в меньшей степени, ошибкой аппроксимации. Однако не всегда разумно руководствоваться при выборе только формальными критериями (тем более, что разность AIC-критериев часто весьма ничтожна) и не принимать во внимание "предметную полезность" модели. В рассматриваемом случае можно отдать предпочтение экспоненциальной модели EXP.3 с тремя параметрами, имеющей лаконичный вид и в явном виде оценивающей величину эффекта ($d - c$):

$$\phi(x; c, d, e, \dots) = -8.14 + (2.614 + 8.14)(\exp(-x/9971)).$$

На рис 3 кривая для этой модели сравнивается с моделью LL.4, которая представляет здесь уже не всю сигмоидную кривую целиком, а только ее верхнюю ветвь. Стандартная ошибка экспоненциальной регрессии численно ниже (0.733 против 0.744 для модели LL.4), но если рассчитать отношение Фишера F для средних квадратов остатков, то можно предположить, что отличие качества аппроксимации этими двумя моделями статистически незначимо и, вероятно, обусловлено случайными причинами.

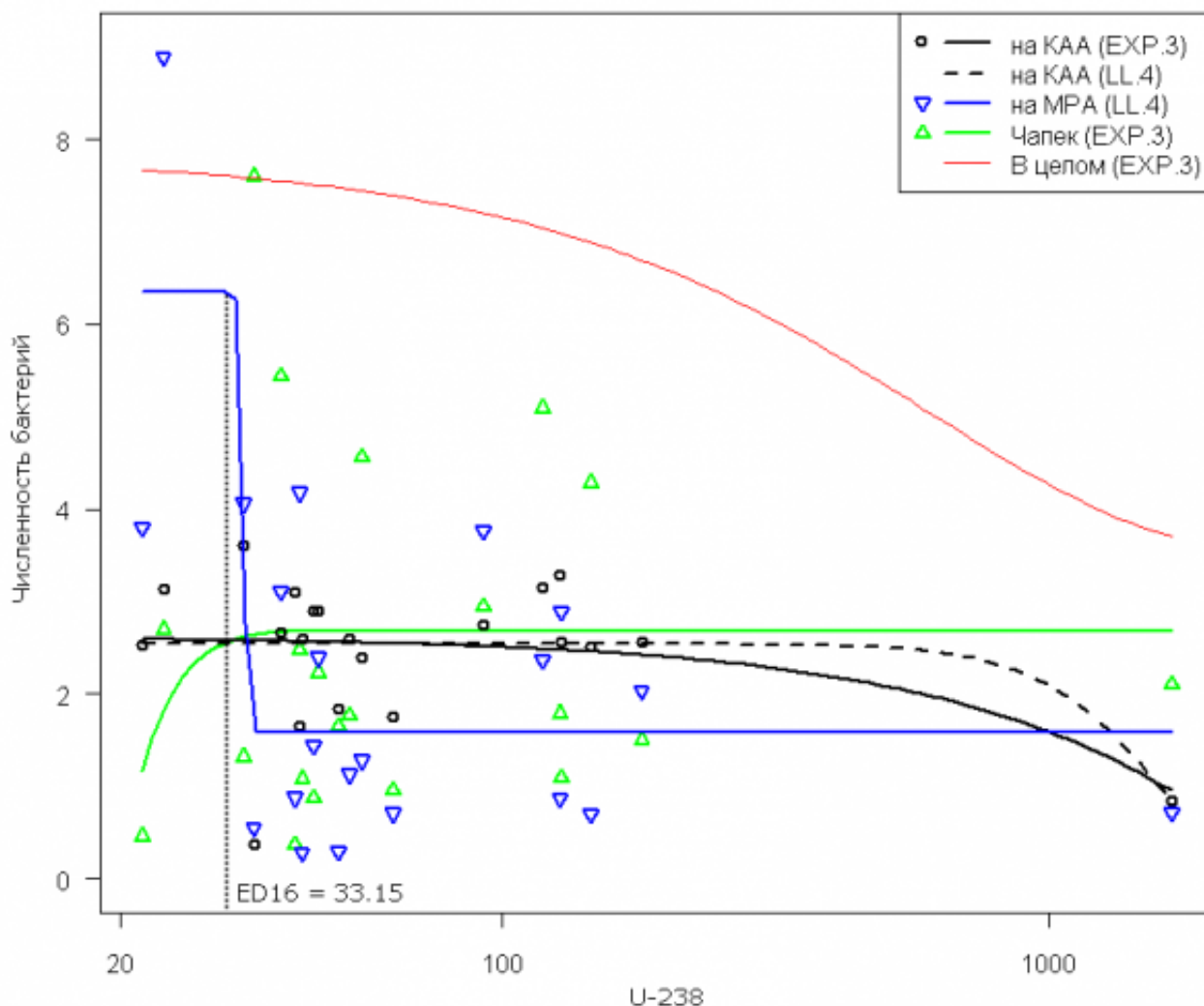


Рис 3. Кривые зависимости численности бактерий (млн. КОЕ/г почвы), выращенных с использованием трех различных питательных сред, от активности радионуклида U-238 в образцах почвы (Бк/кг); здесь и далее в легенде графика в скобках указан тип использованной модели по табл. 1

Fig. 3. Dose-response curves for describing the dependences of the number of bacterial colony-forming units (mln. CFU/g soil) grown using three different nutrient media, on the activity of radionuclide U-238 in the samples of soil (Bq/kg); hereinafter in the legend the type of the used model in the table 1 is indicated in brackets

По аналогичным соображениям можно предпочесть экспоненциальную функцию EXP.3 модели Михаэлиса-Ментен ММ.3 для численности сапротрофных бактерий, выращенных на питательной среде Чапека. В отличие от других вариантов выращивания бактерий, их численность в этом случае монотонно возрастает при увеличении радиоактивности U-238. Однако оценки важных параметров обеих экспоненциальных моделей оказались статистически незначимыми (кроме верхнего предела d), поэтому положение аппроксимирующих кривых в области малых значений отклика следует считать достаточно неопределенным.

В противоположность этому, модель LL.4 для численности бактерий, утилизирующих органические формы азота и выращенных на мясо-пептонном агаре (МРА), имеет на графике характерную сигмоидную форму кривой, значимые оценки параметров и обоснованно может использоваться для оценки экологического риска. Набор изозэффективных значений активности U-238, оцененных по этой модели для последовательности $y = \{5, 10, 16, 50 \text{ и } 84\%\}$, представлен в табл. 2. Там же для сравнения приведены аналогичные результаты по модели, построенной для суммарной численности бактерий, выращенных на всех трех питательных средах (МРА + КАА + Чапек). Поскольку направленность и скорость развития эффекта для бактерий, выращенных на трех разных средах,

различна, то область перегиба совокупной кривой существенно размыта (кривая «В целом» на рис. 3), а ошибка изоэффективных активностей, рассчитанных по суммарной численности, недопустимо велика.

Микроскопические грибы. Анализ зависимости численности (КОЕ/г почвы) культивируемых микроскопических грибов от активности радионуклида U-238 в образцах почвы не привел к построению достаточно работоспособных моделей оценки экологического риска.

Для зависимости численности колоний грибов рода *Penicillium* выполнять проверку адекватности моделей вообще не требуется, поскольку их тренд практически совпадает со средним значением численности (рис. 4). Например, при построении EXP.2:

$$\varphi(x; d, e) = 2.886 \times \exp(-x / 3.2 \times 10^8) \approx 2.886.$$

Также оказалась статистически незначимой модель для суммарной численности микроскопических грибов без разделения на роды *Penicillium* + *Aspergillus* + *Cladosporium* (кривая «В целом» на рис. 4).

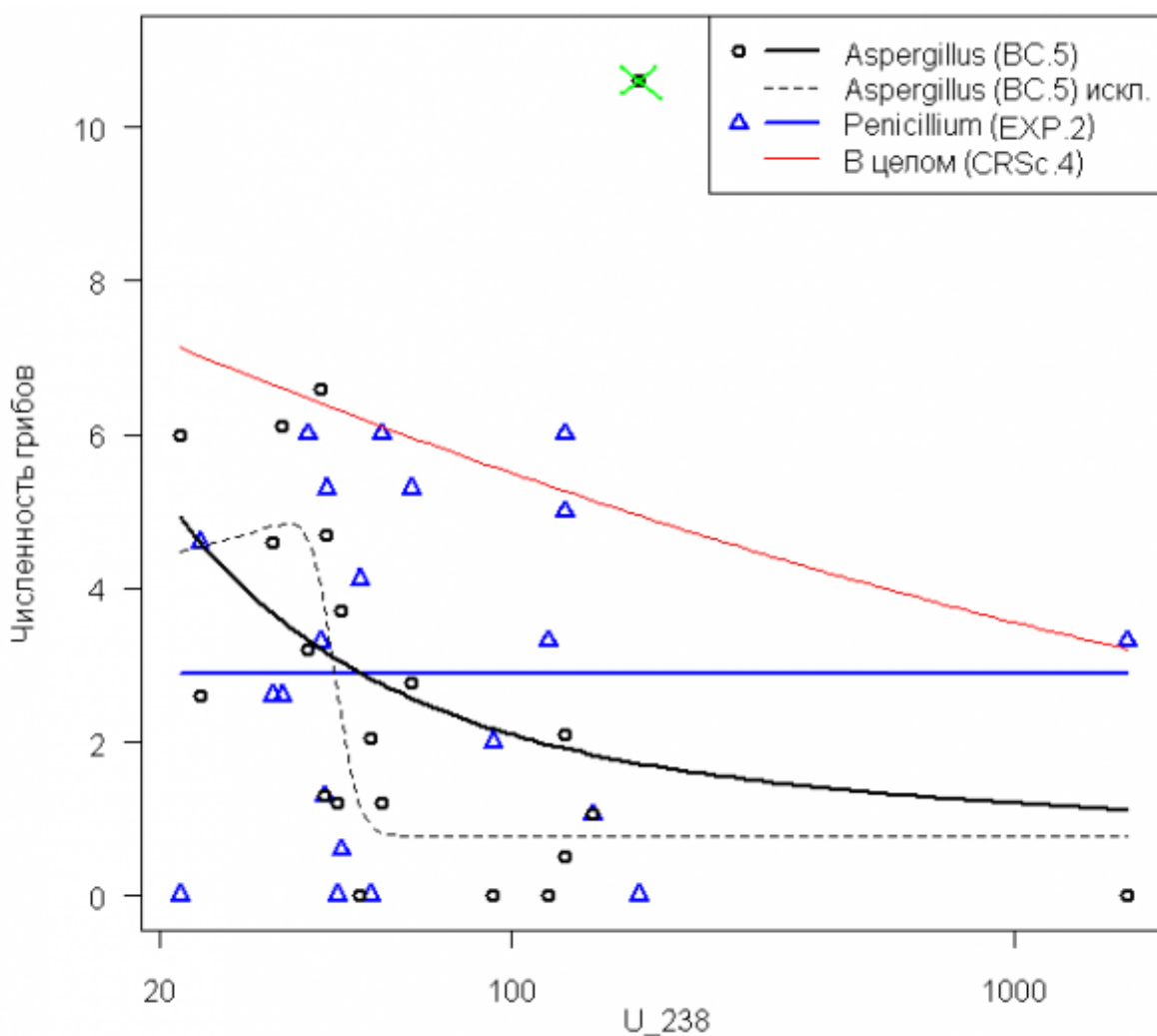


Рис 4. Кривые зависимости численности двух родов микроскопических грибов (тыс. КОЕ/г почвы) от активности радионуклида U-238 в образцах почвы, Бк/кг

Fig. 4. Dose-response curves for describing the dependens of the number of colony-forming units of two genera of microscopic fungi (ths. CFU/g) on the activity of radionuclide U-238 in the samples of soil (Bk/kg)

Тем не менее, обратим внимание на особый смысл использованных здесь моделей Brain-Cousens и Cedergreen-Ritz-Streibig, которые способны учитывать гормезис-эффект (т.е. стимулирующее действие невысоких доз токсикантов; от греч. *hórmēsis*). Такие модели могут приводить к кривым с верхним или нижним промежуточным оптимумом. Очевидный пример этому явлению – любые зависимости от воздействия pH, где оптимум обычно располагается в районе pH = 7.

Модель BC.5, построенная для грибов рода *Aspergillus*, не показывает наличия гормезиса и имеет

вид U-образной кривой, плавно стремящейся к 0 при увеличении радиоактивности (рис. 4). Выполним оценку адекватности модели в целом, т.е. проверим требование того, чтобы сумма квадратов отклонений относительно средней численности колоний *Aspergillus* значимо превышала остаточную сумму квадратов. Этот тест на наличие эффекта дал отрицательный результат: критерий $\chi^2 = 1.47$ и $p = 0.68$. Ошибка и доверительные интервалы такой регрессии оказались слишком велики, что не могло не сказаться на степени достоверности значений изоэффективных доз (см. табл. 2).

Однако легко убедиться, что максимальное значение численности р. *Aspergillus*, равное 10.6 и отмеченное на рис. 4, может быть квалифицировано как "слишком большое" (outlier). Это подтверждает тест Граббса, который отклонил нулевую гипотезу о том, что это значение не является выбросом: $G = 2.85$, $p = 0.016$. Если исключить это anomальное (с точки зрения статистики) наблюдение и вновь построить модель ВС.5, то проявляется возможный гормезис-эффект, а функция регрессии становится адекватной в целом: критерий $\chi^2 = 17.6$ и $p = 0.0015$.

Биотестирование с использованием высших растений. Выполним сравнительный анализ моделей LL.4 для аппроксимации зависимости длины корней проростков горчицы белой от активности всех трех радионуклидов (U-238, Ra-226 и Pb-210) – рис. 5. Отметим резкое снижение величины отклика при активности изотопа радия около 30 Бк, что дает возможность принять эту величину в качестве норматива техногенного воздействия – см. табл. 2. Активность иных изотопов также вызывает уменьшение длины корней ростков, однако эта зависимость носит более умеренный и монотонный характер, поэтому локализация их пороговых значений связана со значительной неопределенностью.

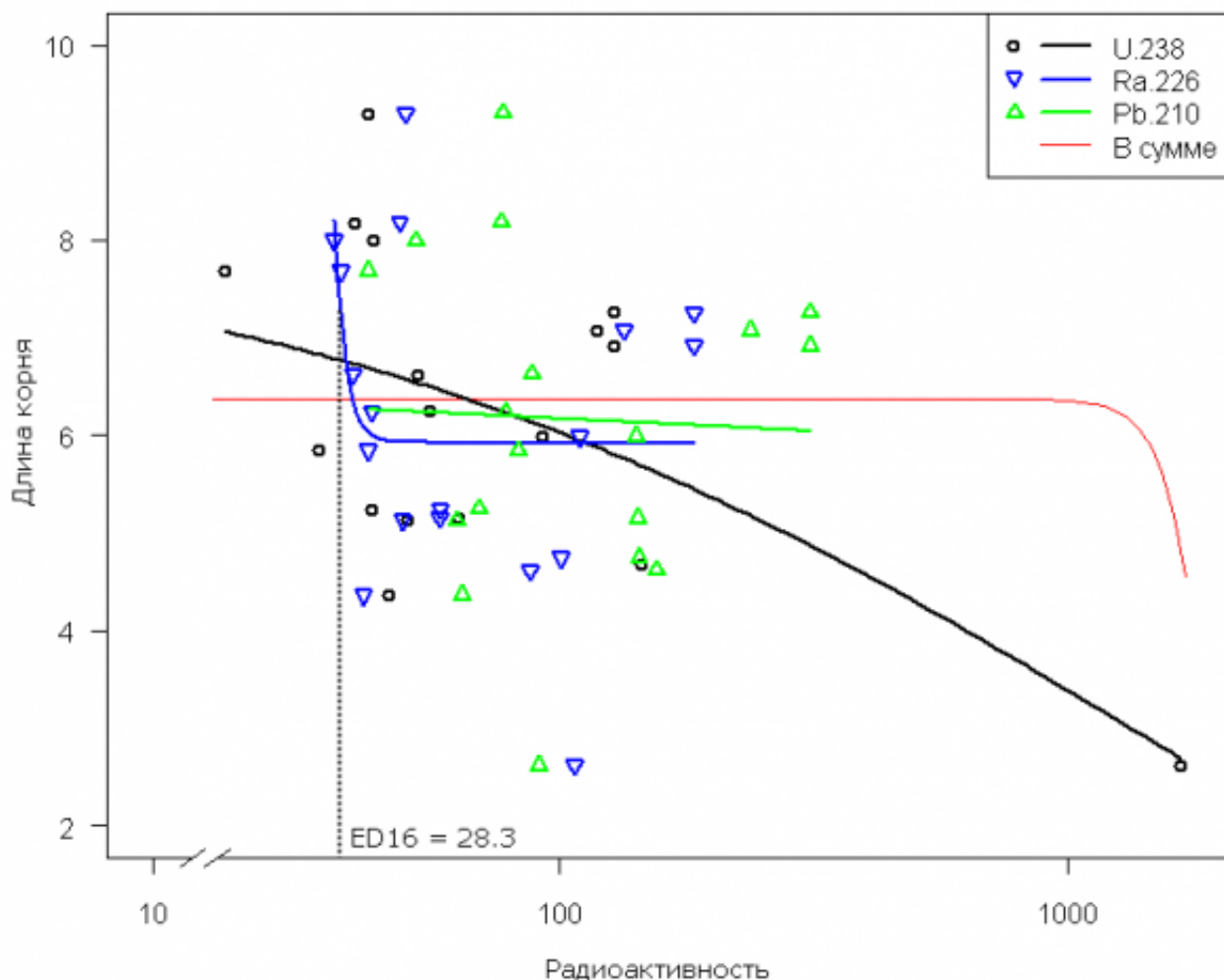


Рис 5. Кривые зависимости средней длины корней проростков горчицы белой (см) от активности трех различных радионуклидов в образцах почвы (Бк/кг) с использованием лог-логистической модели LL.4

Fig. 5. Dose-response curves for describing the dependences of average root length of white mustard

(cm) on the activity of three various radionuclides in the samples of soil (Bk/kg) with the use of log-logistical model

Рассмотрим для полноты картины возможность оценки экологического риска с использованием общей радиоактивности почвенных образцов, для чего просуммируем вклады всех трех радионуклидов $A = U-238 + Ra-226 + Pb-210$. Эта попытка (кривая «В сумме» на рис 5) привела к ожидаемой неудаче, т.к. объединение факторов с различным характером тренда в области малых воздействий приводит к их статистическому нивелированию и последующим некорректным выводам.

Таблица 2. Изозэффективные воздействия радиоактивности нуклидов, полученные в ходе биотестирования для различных уровней проявления эффекта у

Радионук- лид	Используй- ванный отклик	Эф-фект у %	Оценка воздей- ствия, Бк	Стандартная ошибка	Доверительные границы	
					нижняя	верхняя
U-238	Уменьшение численности бактерий, выращенных на МРА	5	32.79	1.41	29.8	35.7
		10	33.0	1.09	30.7	35.3
		16	33.15	0.87	31.3	34.9
		50	33.6	0.37	32.83	34.3
		84	34.08	0.84	32.3	35.86
U-238	Уменьшение численности бактерий, выращенных на всех средах	5	30.9	98.6	-175	237
		10	63.5	202.	-360	487
		16	105	335	-596	806
		50	417	1332	-2371	3207
		84	1104	3523	-6270	8479
U-238	Уменьшение численности грибов рода <i>Aspergillus</i>	5	21.3	135	-262	304
		10	43.8	278	-538	626
		16	72.6	460	-890	1036
		50	288	1829	-3541	4118
		84	763	4838	-9363	10889
Ra-226	Увеличение численности класса <i>Actinomycetes</i>	5	89.	11.7	64.9	114
		10	90.5	11.2	66.9	114
		16	91.1	10.8	68.2	114
		50	93.1	10.3	71.2	115
		84	95.1	10.7	72.4	117
Ra-226	Уменьшение длины корня проростков горчицы белой <i>Sinapis alba</i>	5	26.5	3.4	19.21	33.79
		10	27.5	8.7	8.84	46.16
		16	28.3	13.61	-0.90	57.50
		50	30.6	22.6	-17.88	79.08
		84	33.2	35.9	-43.82	110.22

Обсуждение

Многие исследователи (Воробейчик и др., 1994; Мотузова, 2000; Shcheglov et al., 2001) отмечают большую пространственную неоднородность техногенного загрязнения почвы. Нередки случаи, когда в центре аномалии есть точки с фоновым содержанием, а на периферии – с содержанием, характерным для центра. Здесь большое влияние оказывают перераспределение концентраций под влиянием осадков в пределах микрорельефа, относительная высота площадок, точечная локализация загрязнений, вариабельность “ассимиляционной емкости” и биологической активности почвы и т.д. Такая неоднородность полей концентрации поллютантов, установленная по результатам анализа проб почвы, заставляет с большой осторожностью относиться к различного рода экстраполяциям точечных наблюдений. В нашем случае разброс эмпирических точек относительно моделируемых кривых также был весьма высок, что не могло не сказаться на статистических критериях значимости оценок.

Поскольку биотические показатели наличия загрязнений обладают большим диапазоном чувствительности к различным поллютантам, то возникает и вторая проблема – поиск “слабого звена” экосистемы и выявление достоверных биоиндикаторов негативного воздействия применительно к конкретным условиям. К сожалению, приходится констатировать, что многие работы биоиндикационного плана, составляющие основу для экологического нормирования, выполняют регистрацию показателей отклика у узкой индикаторной группы, в которой специализируются сами исследователи, вне зависимости от степени ее информативности.

Вряд ли достаточно корректным можно считать вариант свертывания информации с ориентацией на средние показатели или «интегральные индексы», когда объединяются частные факторы и/или отклики на них, имеющие различный (а иногда и противоположный) характер тренда. Например, по результатам настоящей работы, ориентация на суммарные (или относительные средние)

численности почвенных микроорганизмов, включая бактерии, актиномицеты и грибы, только усложняет выделение наиболее чувствительных реципиентов среды и является неадекватной целям экологического нормирования.

Использованный нами метод моделирования зависимостей “доза-эффект” для различных комбинаций частных индивидуальных показателей основывается на теоретически глубоко проработанной концепции регрессионного анализа. Оценки параметров моделей и характеристик их адекватности могут быть выполнены с использованием современных статистических методик, таких как бутстреп, байесовские статистики, оценка максимального правдоподобия и т.д. (Шитиков, Розенберг, 2014).

Важнейший результат использования представленных регрессионных моделей заключается в оценке количественных значений переменных x , приводящих к определенной величине эффекта негативного действия (например, значениям концентраций, при которых в ходе биотестирования погибло 5, 16, 50, 86 или 95% тест-организмов). Использование полученной шкалы изоэффективных воздействий позволяет в явном виде обосновать экологический риск ER в виде вероятности (или доле) возможной негативной реакции по наиболее чувствительным биотическим показателям. Как вариант его количественного выражения - отношение шансов, вычисляемое как $ER = y(EC) / y(DC)$, где $y(EC)$ - доля от максимального эффекта, к которому приводит действующая концентрация токсиканта EC , $y(DC)$ - значение y , принятое при установлении экологической нормы DC (Process..., 2001; Species..., 2002).

Неоднозначным является мнение о том, какую долю от максимального эффекта следует назначать пороговой при обосновании экологического риска. В любом случае, повсеместное использование “магического числа” $y = 0.05$ многие исследователи считают анахронизмом (хотя бы даже потому, что здесь не ведется проверка нулевой гипотезы). Величина y должна учитывать как статистическую “эластичность” оцениваемых показателей, так и уровень ответственности исследователя за вывод. Принимая во внимание большой размах вариации показателей радиоактивности, мы из экспертных соображений использовали в качестве критического значения $ED16$ (а также, в некоторой степени, по аналогии с принятой в токсикологии минимальной смертельной дозой $DL16$, вызывающей гибель 16 % животных).

Результаты моделирования зависимости доза-эффект могут быть использованы для повышения объективности “триадного подхода”, все чаще применяемого на практике экологических исследований в качестве комплексной методики обобщения всего массива исследуемых разнородных параметров (Chapman, 2002; Dagnino et al., 2008; Terekhova et al., 2014). При этом формирование локальных индексов биологического, экотоксикологического и химического состояния почвы и выбор весовых коэффициентов для их пересчета в “вероятностную” шкалу будут зависеть уже не от субъективных факторов (например, компетентности экспертов), а основываться на данных статистического анализа.

Заключение

1. Проанализирована зависимость динамики биотических параметров (численности почвенных микроорганизмов и ростовых характеристик высших растений) от активности радионуклидов в образцах почвы в зоне разработки урансодержащих месторождений в районе пос. Каджи-Сай (Киргизия). Наиболее информативными индикаторными показателями признаны группы видов актиномицетов и бактерий, утилизирующих органический азот, а также длина корней проростков семян горчицы белой, использовавшейся в качестве тест-культуры.
2. Показана эффективность моделирования зависимости отклика от уровня логарифма радиоактивности с использованием логистической регрессии.
3. Предлагается принять в качестве экологически допустимой радиоактивности следующие значения воздействия, приводящие к 16% от величины негативного эффекта по наиболее чувствительному биокомпоненту: для активности U-238 – 33.15 Бк/г почвы и Ra-226 – 28.3 Бк/г почвы.

Библиография

Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень) [Ecological regulation of technogenic pollution of terrestrial ecosystems (local level)]. Екатеринбург: Наука, 1994. 280 с.

Методы почвенной микробиологии и биохимии [Methods of soil microbiology and biochemistry]. Под.ред. Звягинцева Д.Г. М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1991. 303 с.

Шитиков В. К. , Терехова В. А. , Узбекиев Б. А. , Кыдралиева К. А. , Худайбергенова Б. М. Модели “доза-эффект” для оценки экологического риска при техногенном загрязнении почвы // Принципы экологии. 2015. № 3. С. 73-88. DOI: 10.15393/j1.art.2015.4221

Мотузова Г.В. Загрязнение почв и сопредельных сред [Contamination of soils and related media]. М.: Изд-во МГУ, 2000. 71 с.

Терехова В.А., Якименко О.С., Воронина Л.П., Кыдралиева К.А. Методика измерений биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования "Фитоскан" [Method of measurement of the biological activity of humic substances using phytoassay «Phytoscan»]. М.: Доброе слово, 2014. 24 с.

Шитиков В.К., Розенберг Г.С. Рандомизация и бутстреп: статистический анализ в биологии и экологии с использованием R [Randomization and bootstrap: statistical analysis in biology and ecology using R]. Тольятти: Кассандра, 2014. 314 с. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril> (дата обращения 16.05.2015).

Brain P., Cousens R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses // Weed Research. 1989. V. 29. P. 93-96.

Cedergreen N., Ritz C., Streibig J.C. Improved empirical models describing hormesis // Environ. Toxicol. Chem. 2005. V. 24. P. 3166-3172.

Chapman P.A. Decision making framework for sediment assessment developed for the Great Lakes // Human and Ecological Risk Assessment. 2002. V. 8. № 7. P. 1641-1655.

Dagnino A., Sforzini S., Dondero F. et al. "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

Finney D.J. Bioassay and the Practice of Statistical Inference // Int. Statist. Rev. 1979. V. 47. P. 1-12.

Moore D.R., Caux P.Y. Estimating low toxic effects // Environ. Toxicol. Chem. 1997. V. 16. P. 794-801.

Process for Conducting Probabilistic Risk Assessment // Risk Assessment Guidance for Superfund (RAGS). 2001. Vol. III. Part A. 385 p.

Ritz C. Towards a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology // Environ. Toxicol. Chem. 2010. V. 29. P. 220-229.

Ritz C., Martinussen T. Lack-of-fit tests for assessing mean structures for continuous dose-response data // Environmental and Ecological Statistics, 2011. V. 18. P. 349-366.

Ritz C., Streibig J.C. Bioassay analysis using R // J. Stat. Soft. 2005. V. 12. P. 1-22.

Seber G.A., Wild C.J. Nonlinear Regression. New York: John Wiley, 1989. 768 p.

Shcheglov F.I., Tsvetnova O.B., Klyashtorin A.L. Biogeochemical migration of technogenic radionuclides in forest ecosystems. М.: Nauka, 2001. 235 p.

Slob W. Dose-response modeling of continuous endpoints // Toxicol Sci. 2002. V. 66. P. 298-312.

Species sensitivity distributions in ecotoxicology / Ed. by Posthuma L., Suter G., Traas T. Boca Raton: Lewis Publishers, 2002. 587 p.

Terekhova V.A. Soil Bioassay: Problems and Approaches // Eurasian Soil Science. 2011. V.44, no 2. P. 173-179.

Terekhova V., Pukalchik M., Yakovlev A. The triad approach to ecological assessment of urban soils // Eurasian Soil Science. 2014. V. 47, no. 9. P. 952-958.

Wood S.N. Generalized Additive Models: An Introduction with R. Chapman, Hall/CRC, 2006. 410 p.

Благодарности

Работа поддержана грантом МНТЦ (KR-2092).

Dose-response modeling for the environmental risk assessment in cases of technogenic soil contamination

**SHITIKOV
Vladimir**

Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Science, stok1946@gmail.com

**TEREKHOVA
Vera**

Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow State University, vterekhova@gmail.com

**UZBEKOV
Beksultan**

International University of Kyrgyzstan, phytorem@mail.ru

**KYDRALIEVA
Kamila**

Institute of Chemistry and Chemical Technology NAS KR, kamila.kydralieva@gmail.com

**KHUDAIBERGENOVA
Bermet**

Institute of Biotechnology NAS KR, bermet66@gmail.com

Keywords:

biodiagnostics
estimation of ecological risk
radioactive contamination
soil of Kirgizia
a dose-response model
logistical regression

Summary:

The review of regression models for the approximation of dependences "dose- response" was performed based on ecotoxicological results. The advantages and deficiencies of different models as well as the problems arising both in modeling and subsequent interpreting results are discussed for the purpose of ecological rationing and estimation of negative influence risk. Search procedures of best dependences based on statistical criteria and the methods of uncertainty estimation of calculated parameters are shown. Construction of models is illustrated in detail using the analysis of toxicity results of soil samples received from uranium mines tailings in Kadzhi-Say province (Kyrgyzstan). Threshold values of activity for U-238 and Ra-226 radionuclides providing the minimum probability of ecological risk were determined.

References

- Vopobeychik E.L. Sadykov O.F. Farafontov M.G. Ecological regulation of technogenic pollution of terrestrial ecosystems (local level). Ekaterinburg: Nauka, 1994. 280 p.
- Methods of soil microbiology and biochemistry. Pod.red. Zvyaginceva D.G. M.: Izd-vo Mosk. Un-ta, 1991. 303 p.
- Motuzova G.V. Contamination of soils and related media. M.: Izd-vo MGU, 2000. 71 p.
- Terekhova V.A. Yakimenko O.S. Voronina L.P. Kydralieva K.A. Method of measurement of the biological activity of humic substances using phytoassay «Phytoscan». M.: Dobroe slovo, 2014. 24 p.
- Shitikov V.K. Rozenberg G.S. Randomization and bootstrap: statistical analysis in biology and ecology using R. Tol'yatti: Cassandra, 2014. 314 p. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril> (data obrascheniya 16.05.2015).
- Brain P., Cousens R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses, Weed Research. 1989. V. 29. P. 93–96.
- Cedergreen N., Ritz C., Streibig J.C. Improved empirical models describing hormesis, Environ. Toxicol. Chem. 2005. V. 24. P. 3166–3172.

Shitikov V., Terekhova V., Uzbekov B., Kydralieva K., Khudaibergenova B. Dose-response modeling for the environmental risk assessment in cases of technogenic soil contamination // *Principy èkologii*. 2015. Vol. 4. № 3. P. 73–88.

Chapman P.A. Decision making framework for sediment assessment developed for the Great Lakes // *Human and Ecological Risk Assessment*. 2002. V. 8. No. 7. P. 1641–1655.

Dagnino A., Sforzini S., Dondero F. et al. "Weight-of-Evidence" approach for the integration of environmental "Triad" data to assess ecological risk and biological vulnerability, *Integr. Environ. Assess. Manage.* 2008. No. 4. R. 314–326

Finney D.J. Bioassay and the Practice of Statistical Inference, *Int. Statist. Rev.* 1979. V. 47. P. 1–12.

Moore D.R., Caux P.Y. Estimating low toxic effects, *Environ. Toxicol. Chem.* 1997. V. 16. P. 794–801.

Process for Conducting Probabilistic Risk Assessment, Risk Assessment Guidance for Superfund (RAGS). 2001. Vol. III. Part A. 385 p.

Ritz C. Towards a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology, *Environ. Toxicol. Chem.* 2010. V. 29. P. 220–229.

Ritz C., Martinussen T. Lack-of-fit tests for assessing mean structures for continuous dose-response data, *Environmental and Ecological Statistics*, 2011. V. 18. P. 349–366.

Ritz C., Streibig J.C. Bioassay analysis using R, *J. Stat. Soft.* 2005. V. 12. P. 1–22.

Seber G.A., Wild C.J. *Nonlinear Regression*. New York: John Wiley, 1989. 768 r.

Shcheglov F.I., Tsvetnova O.B., Klyashtorin A.L. Biogeochemical migration of technogenic radionuclides in forest ecosystems. M.: Nauka, 2001. 235 p.

Slob W. Dose-response modeling of continuous endpoints, *Toxicol Sci.* 2002. V. 66. P. 298–312.

Species sensitivity distributions in ecotoxicology, Ed. by Posthuma L., Suter G., Traas T. Boca Raton: Lewis Publishers, 2002. 587 p.

Terekhova V.A. Soil Bioassay: Problems and Approaches, *Eurasian Soil Science*. 2011. V.44, no 2. P. 173–179.

Terekhova V., Pukalchik M., Yakovlev A. The triad approach to ecological assessment of urban soils, *Eurasian Soil Science*. 2014. V. 47, no. 9. P. 952–958.

Wood S.N. *Generalized Additive Models: An Introduction with R*. Chapman, Hall/CRC, 2006. 410 p.