

УДК 556.555.6:504.45.054

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ПРИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Н. Ю. Степанова, А. Д. Ахметшина, В. З. Латыпова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
Россия, Казань, Кремлевская, 18
E-mail: step090660@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.06.10 г.

Сравнение чувствительности тест-объектов при токсикологической оценке донных отложений, загрязненных нефтью разного происхождения. – Степанова Н. Ю., Ахметшина А. Д., Латыпова В. З. – В модельных экспериментах показано, что при одинаковом внесении разной по происхождению нефти с Ново-Суксинского месторождения Республики Татарстан и Лас-Еганского месторождения Тюменской области токсичность последней была ниже на 24 – 77% на всех использованных тест-объектах (*Paramecium caudatum*, *Ceriodaphnia affinis*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Heterocypris incongruens*). Наиболее чувствительные тест-объекты при биотестировании нефтезагрязненных донных отложений в модельном хроническом эксперименте по мере снижения чувствительности располагаются в ряду: рачки – *Ceriodaphnia affinis* (0.16 – 0.70 г/кг) > инфузории – *Paramecium caudatum* (0.17 – 0.58 г/кг) > рачки – *Hyalella azteca* (0.50 – 1.10 г/кг) > рачки – *Daphnia magna* (1.30 – 2.40 г/кг) > ракушковые рачки – *Heterocypris incongruens* (> 20.5 г/кг).

Ключевые слова: донные отложения, нефтепродукты, биотестирование, *Paramecium caudatum*, *Ceriodaphnia affinis*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Heterocypris incongruens*.

Test-organism sensitivity comparison in toxicological evaluation of bottom sediments polluted with oil of various origin. – Stepanova N. Yu., Akhmetshina A. D., and Latypova V. Z. – The results of our model experiments with using an equal amount of the oil from the New-Suksinsky deposit (Republic Tatarstan) and the Las-Egansky deposit (Tyumen region) demonstrate a different toxicological response of our test organisms (*Paramecium caudatum*, *Ceriodaphnia affinis*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, and *Heterocypris incongruens*). The toxicity of the sediments polluted with the oil of the New-Suksinsky origin was higher by 24 – 77% in comparison with that from the Las-Egansky deposit by the presence of sulphurous substances. The range of our test organisms according to their sensitivity is: *Ceriodaphnia affinis* (0.16 – 0.70 g/kg) > *Paramecium caudatum* (0.17 – 0.58 g/kg) > *Hyalella azteca* (0.50 – 1.10 g/kg) > *Daphnia magna* (1.30 – 2.40 g/kg) > shell crayfish – *Heterocypris incongruens* (> 20.5 g/kg).

Key words: sediments, mineral oil, toxicological evaluation, *Paramecium caudatum*, *Ceriodaphnia affinis*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Heterocypris incongruens*.

ВВЕДЕНИЕ

Масштабы нефтяного загрязнения постоянно растут, и гидросфера, в частности, депонирующие составляющие – грунты, насыщаются стабильными углеводородами и продуктами их трансформации (Ровинский и др., 1988).

Нефтяное загрязнение, которое стоит по масштабам и опасности для биоты на одном из первых мест, является наиболее сложным и трудно интерпретируемым по последствиям, ввиду его многокомпонентности и многообразию миграционных форм (Михайлова, 1986).

Донные отложения как один из основных компонентов водной экосистемы играют важную роль в ее функционировании (Щербань и др., 1994). Это и среда обитания для бентосных организмов, и источник пищи для многих гидробионтов (пелофилов) и бентосоядных рыб, и среда, депонирующая загрязняющие вещества. Степень накопления токсических веществ (особенно органических) может быть столь высока, что они полностью подавляют процесс самоочищения в придонном слое воды (Денисова, Нахшина, 1975; Петрова, 1981). Известно (Патин, 1977; Врочинский, 1976), что токсикологическая ситуация в водоёмах определяется именно накоплением токсикантов в грунтах и гидробионтах, и водоём может быть опасно загрязненным при минимальном (ниже ПДК) содержании конкретного вещества в воде. В этой связи актуальной представляется оценка потенциального воздействия нефти и нефтепродуктов, аккумулированных в донных отложениях, на гидробионтов в модельном эксперименте.

Целью данной работы было сравнить чувствительность тест-объектов из различных таксономических групп при токсикологической оценке донных отложений, загрязненных нефтью различного происхождения в модельных экспериментах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для опытов использовали стандартизированные донные отложения (ДО), полученные при смешении чистого песка и ила в соотношении 1:1. Содержание органических веществ в стандартном образце по потере при прокаливании составляло 3.2%, рН = 7.0. Высушенный и просеянный грунт взвешивали, вносили нефть в количестве 50 мл/кг, тщательно перемешивали (слегка увлажняли). Замазученный грунт помещали в аквариумы, оставляли на двое суток, затем заливали водой. Невязавшаяся нефть всплывала на поверхность. Воду сливали до исчезновения нефтяной пленки. После определения остаточной концентрации нефти ДО использо-

Таблица 1
Характеристики образцов нефти Ново-Суксинского месторождения Республики Татарстан (образец №1) и Лас-Еганского месторождения Тюменской области (образец №2)

| Характеристики | Образец № 1 | Образец № 2 |
|---|-------------|-------------|
| Плотность, г/см ³ | 0.92 | 0.85 |
| Содержание серы, % | 2.76 | 1.09 |
| Содержание хлоридов, мг/дм ³ | 4681.60 | 10.28 |
| Содержание воды, % | 2.00 | 0.50 |
| Содержание механических примесей, % | 0.004 | 0.005 |
| Содержание асфальтенов, % | 14.51 | 10.23 |
| Содержание парафинов, % | 2.90 | 1.43 |
| Содержание смол, % | 35.5 | 29.6 |

вали для приготовления серии разведений (Установление..., 2000). Характеристики нефти, использованной в экспериментах, приведены в табл. 1.

Остаточное содержание нефтепродуктов в отмытых грунтах проводили методом ИК-спектрометрии (Методика..., 1998).

В токсикологических экспериментах использовали серию разбавлений замазученных нефтью ДО, остаточное содержание нефтепродуктов в ДО представлено в табл. 2.

Используемые тест-объекты и методики токсикологического исследования. В качестве тест-организмов для оценки токсичности донных отложений применяли организмы из различных таксономических групп: инфузории – *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1838 (Методические указания..., 1998; Установление..., 2000;

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Степанова и др., 2004), пресноводные рачки – цериодафнии *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, дафнии *Daphnia magna* Straus (Методические указания..., 1998; ASTM, 1993, 1998; Deckere et al., 2000), бокоплав *Hyalella azteca* Saussure (Методические указания..., 1998; Установление..., 2000; Томилина, 2000; ASTM, 1993, 1995; Ingersoll et al., 1985; Ingersoll, Nelson, 1990; Indersoll, 1991, 1996), остракоды *Heterocypris incongruens* Ramdohr (Chial, Persoone, 2002 a, b, c) в контактных и элюатных тестах.

При тестировании на инфузориях *P. caudatum* в хроническом эксперименте (время экспонирования 24 ч) в качестве критериев токсичности использовали выживаемость и коэффициент (K_{Π}) прироста численности:

$$K_{\Pi} = \frac{N_t}{N_0},$$

где N_t – численность инфузორий через учитываемый промежуток времени; N_0 – исходная численность инфузоро́рий.

При тестировании в хроническом эксперименте на *C. affinis* и *D. magna* в контактном тесте использовали показатель выживаемости и ингибирование репродукции в качестве критериев токсичности (тест проводили в течение 7 – 14 дней или когда 60% самок в контроле отмирают три раза).

Основные регистрируемые показатели в хронических контактных тестах с *H. azteca* включали выживаемость и замер линейных размеров в начале и конце экспозиции (28 сут.).

Оценку токсичности с использованием ракушковых ракообразных остракод *H. incongruens* производили по показателю выживаемости и изменению линейных размеров, период экспозиции 6 сут.

Статистическую обработку результатов проводили путем проверки гипотез методом параметрической статистики с использованием t -критерия Стьюдента ($p < 0.05$) методом аппроксимации данных логистической функции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При равном внесении нефти в систему «вода – стандартные ДО» были получены различные значения остаточного содержания нефтепродуктов в ДО. Так, содержание нефтепродуктов в ДО после внесения образцов нефти № 1 и № 2 составило 20.47 ± 5.12 г/кг и 16.63 ± 4.16 г/кг соответственно. Разница на уровне 19% связана с большим содержанием тяжелых нерастворимых углеводородных фракций в нефти Ново-Суксидского месторождения.

Тестирование на инфузориях показало, что, как по показателю выживаемости, так и по коэффициенту прироста, ДО, загрязненные образцом № 1, были более

Таблица 2

Остаточное содержание нефтепродуктов
в образцах донных отложений

| Кратность разбавления | Образец №1 | | Образец №2 | |
|-----------------------|---------------------------------|-----|---------------------------------|-----|
| | Содержание нефтепродуктов, г/кг | % | Содержание нефтепродуктов, г/кг | % |
| 0 | 20.47 ± 5.12 | 100 | 16.63 ± 4.16 | 100 |
| 2 | 9.39 ± 2.35 | 46 | 8.99 ± 2.25 | 54 |
| 4 | 4.16 ± 1.04 | 20 | 5.24 ± 1.31 | 32 |
| 8 | 1.88 ± 0.47 | 9 | 2.95 ± 0.74 | 18 |
| 16 | 1.2 ± 0.30 | 6 | 1.31 ± 0.38 | 8 |
| 32 | 0.88 ± 0.22 | 4 | 0.81 ± 0.20 | 5 |

токсичны по сравнению с ДО, замазученными образцом № 2. Так, LC₅₀ по выживаемости в элюатном тесте (образец № 1) составила 4.17 г/кг против 5.24 г/кг (образец № 2), а рассчитанное в соответствии с уравнением зависимости «доза – эффект» (табл. 3) значение IC₁₀ по критерию коэффициент прироста составило 0.17 г/кг для образца № 1 против 0.58 г/кг для образца № 2.

Таблица 3

Уравнения зависимости «доза – эффект», полученные при исследовании нефтезагрязненных донных отложений с использованием различных тест-объектов (образец № 1 – нефть Ново-Суксинского месторождения Республики Татарстан, образец № 2 – нефть Лас-Еганского месторождения Тюменской области)

| Образец | Тест-объект (тест-функция) | Уравнение зависимости «доза – эффект» | Коэффициент детерминации, R ² |
|-------------|-----------------------------|---------------------------------------|--|
| Образец № 1 | <i>Paramecium caudatum</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -31.28 \ln(x) + 94.65$ | 0.99 |
| | Коэффициент прироста | $y = 20.46 \ln(x) + 47.11$ | 0.82 |
| | <i>Ceriodaphnia affinis</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -24.74 \ln(x) + 60.37$ | 0.83 |
| | Ингибирование репродукции | $y = 20.63 \ln(x) + 48.35$ | 0.66 |
| | <i>Daphnia magna</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -26.46 \ln(x) + 97.87$ | 0.93 |
| | Ингибирование репродукции | $y = 33.08 \ln(x) + 0.58$ | 0.99 |
| | <i>Hyalella azteca</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -27.93 \ln(x) + 77.76$ | 0.96 |
| | Изменение линейных размеров | $y = -21.42 \ln(x) + 70.33$ | 0.96 |
| Образец № 2 | <i>Paramecium caudatum</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -27.15 \ln(x) + 100.31$ | 0.97 |
| | Коэффициент прироста | $y = 26.89 \ln(x) + 25.02$ | 0.96 |
| | <i>Ceriodaphnia affinis</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -32.5 \ln(x) + 85.61$ | 0.98 |
| | Ингибирование репродукции | $y = 31.46 \ln(x) + 21.58$ | 0.96 |
| | <i>Daphnia magna</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -4.28x + 100.61$ | 0.99 |
| | Ингибирование репродукции | $y = 5.88x - 8.54$ | 0.99 |
| | <i>Hyalella azteca</i> | | |
| | Выживаемость | $y = -30.18 \ln(x) + 92.59$ | 0.92 |
| | Изменение линейных размеров | $y = -19.32 \ln(x) + 77.23$ | 0.92 |

Контактные тесты в отличие от элюатных позволяют моделировать процессы перераспределения токсикантов между твердой и жидкой фазой и, следовательно, изменение их биодоступности для гидробионтов. Тестирование на *C. affinis* показало, что рассчитанная величина LC₁₀ (IC₁₀) по критерию выживаемости (ингибирование репродукции) составляет 0.30 (0.16) для образца № 1 и 0.85 (0.7) г/кг нефтепродуктов для образца № 2. *D. magna* продемонстрировали большую токсикорезистентности, и содержание нефтепродуктов, соответствующее LC₁₀ (IC₁₀) по выживаемости (ингибированию репродукции), составило 1.30 (1.35) и 2.40 (3.2) г/кг для образцов № 1 и № 2 соответственно.

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Показательным индикатором загрязненных грунтов, толерантным к физическим характеристикам грунта (размер частиц), является амфипода *H. azteca*. Содержание нефтепродуктов, соответствующее LC₁₀ по критерию выживаемости, составило 0.59 и 1.10 г/кг для образцов № 1 и № 2 соответственно, а по ростовым показателям (IC₁₀) – 0.39 для образца № 1 и 0.51 г/кг для образца № 2.

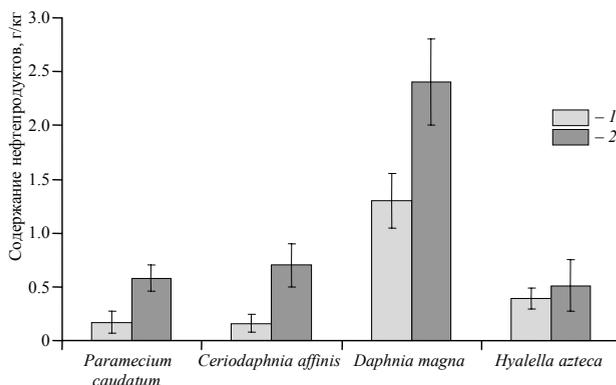
Из всех использованных тест-объектов наибольшую токсикорезистентность продемонстрировали ракушковые рачки *H. incongruens*. В выбранном диапазоне концентраций невозможно определить концентрацию нефтепродуктов, достоверно ингибирующую ростовые показатели и влияющую на процессы выживания остракод.

По итогам проведенного токсикологического исследования модельных ДО можно сделать вывод, что наиболее чувствительными тест-объектами являются цериодафнии (рисунок). Содержание нефти, соответствующее IC₁₀, составило 0.16 и 0.7 г/кг для образцов № 1 и № 2 соответственно.

При исследовании токсикологической опасности нефти разного происхождения (Ново-Суксинское месторождение Республики Татарстан и Лас-Еганское месторождение Тюменской области) в условиях моделирования аварийного прорыва нефтепровода было показано, что при одинаковом внесении разной по происхождению нефти в модельную систему «вода – донные отложения» содержание нефтепродуктов в донных отложениях при внесении образца № 1 на 19% выше, чем при внесении образца № 2, что связано с большим содержанием в ней тяжелых нерастворимых углеводородных фракций.

Токсикологический

ответ гидробионтов также различался в зависимости от типа нефти: во всех случаях токсичность «тюменской» нефти была ниже на 24 – 77% по сравнению с «татарской» на всех использованных тест-объектах (на 24% по результатам тестирования на *H. azteca*, на 46% – *D. magna*, на 71% – *P. caudatum*, на 77% – *C. affinis*). Повышенная токсичность «татарской» нефти связана с ее составом: содержание сернистых соединений в 2.5 раза выше по сравнению с «тюменской», это представляет большую экологическую опасность при аварийном поступлении «татарской» нефти в водную экосистему. Наиболее чувствительные тест-объекты при биотестировании нефтезагрязненных донных отложений в модельном хроническом эксперименте по мере снижения токсикорезистентности располагаются в ряду: рачки – *C. affinis*



Значения IC₁₀ для нефтепродуктов в донных отложениях по результатам токсикологических экспериментов с использованием различных тест-объектов: 1 – образец № 1 (Ново-Суксинское месторождение Республики Татарстан), 2 – образец № 2 (Лас-Еганское месторождение Тюменской области)

(0.16 – 0.70 г/кг), схожий по силе ответ получен в хроническом эксперименте на инфузориях *P. caudatum* (0.17 – 0.58 г/кг) и рачках *H. azteca* (0.50 – 1.10 (г/кг), затем по уровню устойчивости к токсическому воздействию углеводородов нефти следуют рачки *D. magna* (1.30 – 2.40 г/кг), наименее чувствительны ракушковые рачки – *H. incongruens* (>20.5 г/кг). Токсикорезистентность *Heterocypris incongruens* к нефтяному загрязнению связана с морфологическими и экологическими особенностями (способность изолировать контакт с токсикантом при смыкании створок).

ВЫВОДЫ

1. Наиболее чувствительные тест-объекты при биотестировании нефтезагрязненных донных отложений в модельном хроническом эксперименте по мере снижения чувствительности располагаются в ряду: рачки – *Ceriodaphnia affinis* (0.16 – 0.70, г/кг) > инфузории – *Paramecium caudatum* (0.17 – 0.58, г/кг) > рачки – *Hyalella azteca* (0.50 – 1.10, г/кг) > рачки – *Daphnia magna* (1.30 – 2.40, г/кг) > ракушковые рачки – *Heterocypris incongruens* (>20.5 г/кг).

2. На основании проведенных экспериментов для скрининга токсической опасности нефтезагрязненных донных отложений можно рекомендовать использовать элюатный тест на *Paramecium caudatum* совместно с контактным тестом на ракообразных *Ceriodaphnia affinis* и *Hyalella azteca*. Ракушковые ракообразные проявили меньшую чувствительность по сравнению с другими тест-объектами в силу их экологических особенностей.

3. При внесении одинаковой массы разной по происхождению нефти в модельную систему «вода – донные отложения» содержание нефтепродуктов в донных отложениях при внесении нефти с Ново-Суксинского месторождения Республики Татарстан (образец № 1) выше (20.47±5.12 мг/кг) по сравнению с нефтью с Лас-Еганского месторождения Тюменской области (16.63±4.16 мг/кг), что связано с большим содержанием в ней тяжелых нерастворимых фракций, аккумулирующихся в донных отложениях.

4. Выявлено, что токсичность донных отложений, загрязненных нефтью с Ново-Суксинского месторождения Республики Татарстан, выше по сравнению с нефтью с Лас-Еганского месторождения Тюменской области, что указывает на большую экологическую опасность при аварийном поступлении татарской нефти в водную экосистему.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 09-04-97036-р_поволжье_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Врочинский К. К. Модельная водная экосистема как тест определения опасности пестицида для водоема // Изв. ГосНИОРХ. 1976. Вып. 109. С. 88 – 91.

Денисова А. И., Нахишина Е. П. Роль донных отложений в процессах самоочищения и самозагрязнения водоемов // Самоочищение, биопродуктивность и охрана водоемов и водотоков Украины : материалы III Респ. конф. Киев : Наук. думка, 1975. С. 86 – 87.

Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в почвах и донных отложениях методом ИК-спектроскопии / ПНД Ф 16.1:2.2.22-98. М., 1998. 16 с.

Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М. : Изд-во ВНИРО, 1998. 145 с.

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Патин С. А. Экологические проблемы освоения нефтегазовых ресурсов морского шельфа. М. : Изд-во ВНИРО, 1977. 349 с.

Петрова И. В. Влияние загрязненных донных отложений на гидрохимический режим и некоторых гидробионтов : дис. ... канд. биол. наук. Л., 1981. 194 с.

Ровинский Ф. Я., Теплицкая Т. А., Алексеева Т. А. Фоновый мониторинг полициклических ароматических углеводородов. Л. : Гидрометеоиздат, 1988. 224 с.

Степанова Н. Ю., Говоркова Л. К., Анохина О. К. Оценка уровня загрязнения донных отложений Куйбышевского водохранилища в местах повышенного антропогенного пресса методом триады // Актуальные проблемы водной токсикологии / Ин-т биологии внутренних вод РАН. Борок, 2004. С. 224 – 246.

Томиллина И. И. Эколого-токсикологическая характеристика донных отложений водоемов Северо-Запада России : дис. ... канд. биол. наук. Борок, 2000. 162 с.

Установление эколого-рыбохозяйственного норматива ПДК нефти в донных грунтах водных объектов : отчет о НИР / СИБРЫБНИИПРОЕКТ. Тюмень, 2000. 327 с.

Щербань Э. П., Арсан О. М., Шаповал Т. Н., Цветкова А. М., Пицолка Ю. К., Кукля И. Г. Методика получения водных вытяжек из донных отложений для их биотестирования // Гидробиол. журн. 1994. Т. 30, № 4. С. 100 – 111.

ASTM. Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. American Society for Testing of Materials // Annual Book of ASTM Standards / American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, 1993. P. 1183 – 1199.

ASTM. Standard methods for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Method E1706-95b // Annual Book of ASTM Standards / American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, 1995. Vol. 11.05. P. 1138 – 1220.

Chial B., Persoone G. Cyst-based toxicity tests XII – Development of a short chronic sediment toxicity test with the ostracod crustacean *Heterocypris incongruens* : selection of test parameters // Environmental Toxicology. 2002 a. Vol. 17, № 6. P. 520 – 527.

Chial B., Persoone G. Cyst-based toxicity tests XIII – Development of a short chronic sediment toxicity test with the ostracod crustacean *Heterocypris incongruens* : methodology and precision // Environmental Toxicology. 2002 b. Vol. 17, № 6. P. 528 – 532.

Chial B., Persoone G. Cyst-based toxicity tests XIV – Application of the ostracod solid-phase microtest for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium) // Environmental Toxicology. 2002 c. Vol. 17, № 6. P. 533 – 537.

Deckere E., Cooman W., Florus M., Devroede-Vander Linder M.P. Characterizing the sediments of Flemish Watercourses: a Manual produced by TRIAD. Brussel : AMINAL-Department Water, 2000. 110 p.

Ingersoll C. G. Sediment toxicity and bioaccumulation testing methods // ASTM Standardization News. 1991. Vol. 19. P. 28 – 33.

Ingersoll C. G., Ankley G. T., Benoit D. A., Burton G. A., Dwyer F. J., Greer I. E., Norberg-King T. J., Winger P. V. Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates : A review of methods and applications // Environ. Toxicol. Chem. 1985. Vol 14. P. 1885 – 1894.

Ingersoll C. G., Haverland P. S., Brunson E. L., Canfield T. J., Dwyer F. J., Henke C. E., Kemble N. E., Mount D. R., Fox R. G. Calculation and evaluation of sediment effect concentrations for the amphipod *Hyalella azteca* and the midge *Chironomus riparius* // J. Great Lakes Res. 1996. Vol. 22. P. 602 – 623.

Ingersoll C. G., Nelson M. K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera) // Aquatic Toxicology and Risk Assessment : ASTM STP 13th Simp. / American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, 1990. P. 93 – 109.