

УДК 574.64:574.63(262.5)

Л.А.Шадрина

ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ МОРСКИХ ПРИБРЕЖНЫХ ВОД МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Вопросы оценки качества природных вод, их охраны от загрязнения и экотоксикологического картирования водоемов постоянно находятся в центре внимания исследователей [1, 2, 5, 6, 8]. Усилия крупных научных коллективов и приборостроителей направлены на разработку, совершенствование и использование на практике физических и химических методов контроля качества вод. К сожалению, далеко не все загрязняющие вещества и соединения могут быть выявлены в пробах воды, поскольку они часто имеют низкие концентрации, их количество огромное и быстрорастущее, а возможность аналитических методов контроля и операторов ограничены.

Известно, что в условиях природных водоемов имеет место синергическое действие поллютантов, эффект которых определяется не только химическим составом различных компонентов загрязнения, но и их соотношением. Продукты распада и взаимодействия токсикантов могут оказаться как более, так и менее токсичными, чем исходные соединения. Перечисленные особенности совместно с естественными абиотическими условиями и определяют реакцию гидробионтов.

Поскольку вся система экотоксикологического контроля направлена на выявление, контроль и устранение неблагоприятных для развития и функционирования живых объектов факторов среды, то и критерием оценки ее качества должно быть благополучное состояние популяций гидробионтов, а не только концентрация токсикантов в водоеме. Такой подход становится общепризнанным и уже нашел отражение в нормативных документах, действующих на территории стран СНГ. Согласно «Правилам охраны поверхностных вод» [9], обязательным элементом контроля их качества является показатель токсичности по отношению к гидробионтам. Под токсичностью среды обитания гидробионтов подразумевают ее свойство вызывать патологические изменения или гибель организмов, обусловленные присутствием в ней токсических веществ. Токсичность среды определяется по ответным реакциям тест-объектов [7]. В основу существующих нормативных документов по биотестированию пресных и морских вод [4, 7] положены принципы и методические подходы, ранее использованные в работах ведущих российских и украинских токсикологов [1, 2, 5].

В настоящей работе представлены результаты мониторинга черноморских вод по показателям токсичности и сделана попытка оценить возможность применения метода биотестирования при экотоксикологическом картировании морских водоемов, которое ранее проводили методом биоиндикации [3].

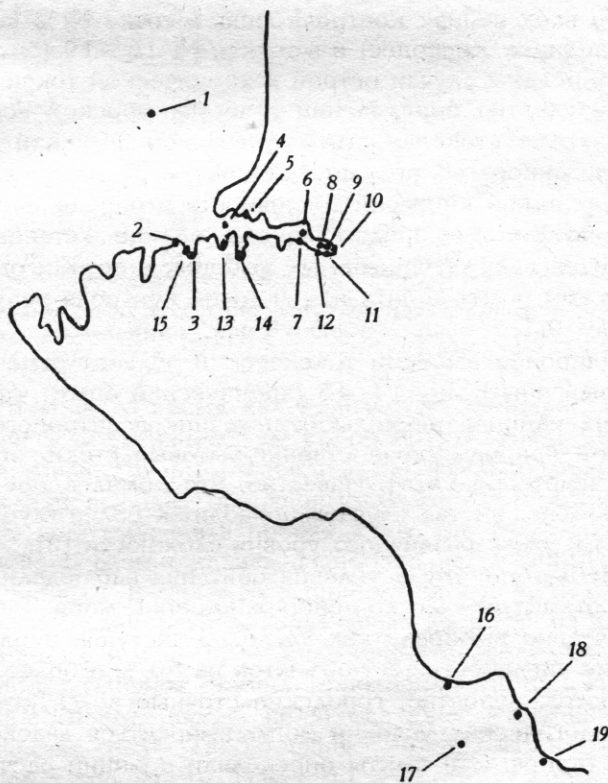
Материал и методика исследований. Исследования проводили в 1992—1994 гг. За этот период выполнены 22 серии определений в 19 точках контроля (рис. 1). Пробы отбирали в бухтах и открытых прибрежных участках морской акватории г. Севастополя, испытывающих различную антропогенную нагрузку.

В качестве тест-объектов использовали лабораторные культуры одноклеточной водоросли *Euxiella cordata* и науплии ракообразного *Artemia salina*. Эти виды выбраны как широкораспространенные, хорошо культивируемые в лабораторных условиях тест-объекты. *E. cordata* известна как вид, чувствительный к загрязнению, что подтвердили и наши наблюдения, проведенные на ряде видов одноклеточных водорослей (*Peridinium trochoideum*, *Prorocentrum micans*, *Platimonas viridis*, *Dunaliella salina*, *Monochrysis luthery*, *Phaeodactylum tricornutum*), среди которых *E. cordata* отнесена к группе объектов, наиболее чувствительных к изменению качества среды.

Artemia salina, как общедоступный эврибионт, широко используется в гидробиологических исследованиях, а на ранних стадиях развития — и в токсикологических экспериментах, поскольку в науплиальной стадии ее чувствительность значительно выше, чем у взрослых рачков.

В эксперименте использовали *E. cordata* в стадии активного роста и свежескопившихся науплиусов *A. salina*. Тест-объекты проверяли на чувствительность по общепринятой методике. Материал брали в опыт, если средняя концентрация бихромата калия, вызывающая снижение численности клеток водорослей на 50 % за 24 ч, находилась в интервале 0,5—1,5 мг/л. Науплии *A. salina* считали пригодными для биотестирования, если в растворе бихромата калия AK_{50}^{24} находилась в диапазоне $7,6 \pm 1,8$ мг/дм³.

В соответствии с принятыми нормами [4, 7], критерием токсичности считали гибель 50 % рачков и более и снижение численности клеток на 50 % и более по сравнению с исходной. Экспозиция в остром опыте составляла 96 ч, в хроническом — 10 сут. Начальная плотность клеток *E. cordata* в эксперименте была в среднем около 16 тыс. экз/мл. В исследуемую воду питательную среду не добавляли, поскольку клетки культуры заведомо не голодны, а предварительный опыт показал, что культура, перенесенная на черноморскую воду из условно чистого района, без добавок питательных сред, активно развивается в ней более 20 сут. Численность клеток учитывали в счетной камере Бюркера. Все определения проводили в трехкратной повторности. Для определения острого или хро-



1. Схема отбора проб воды по показателю «токсичность»: 1, 2 — открытые участки акватории г. Севастополя; 3—19 — бухты, в том числе: 4—12 — Севастопольская; 13 — Артиллерийская; 14 — Южная; 3, 15 — Карантинная; 16—19 — Ласпинская.

нического действия тестируемой воды на водоросли рассчитывали коэффициент прироста численности клеток *E. cordata* по формуле

$$K = \frac{N_t}{N_0} \cdot 100 \%,$$

где K — коэффициент прироста численности клеток; N_t — численность клеток водорослей в пробе через учитываемый промежуток времени, кл/мл; N_0 — исходная численность клеток, кл/мл.

Результаты исследований и их обсуждение

Мониторинг качества прибрежных вод методом биотестирования показал, что в акватории г. Севастополя имеются участки, на которых показатель токсичности периодически превышает допустимые значения, предусмотренные «Правилами охраны поверхностных вод» [9].

Так, в остром эксперименте численность водорослей снижалась по сравнению с исходной на 50 % и более в 29 случаях из 206, что составило 14 % от общего числа определений. Из 19 контролируемых точек наличие острой токсичности отмечалось для 13, хронической — для 14.

Во всех сериях контроля лишь в точке № 2 (акватория исторического заповедника Херсонес) и в точках № 16—19 (бухта Ласпинская) не зарегистрированы случаи острой и хронической токсичности (табл. 1).

Результаты определений качества морской воды различных точек по показателю «токсичность» с указанием значений критерия Стьюдента (t), рассчитанного по результатам опытов, в которых тест-показатель превысил принятый критерий токсичности и определений с удовлетворительными результатами, представлены в таблице. Установлено, что при $P = 0,05$ различия всех сравниваемых выборок в остром опыте достоверны. В хроническом опыте в пяти из 19 точек контроля результат достоверен при $P = 0,4—0,1$.

Наиболее высокий токсический эффект отмечен в точках № 11, 15 (острый опыт), 11, 14, 15 (хронический опыт), что обусловлено наличием в этих районах нескольких источников антропогенного загрязнения различной природы (хозяйственно-бытовые стоки, стоки ливневой канализации, нефтепродукты). Известно, что комплексное воздействие поллютантов в большинстве случаев приводит к более глубоким нарушениям в живых системах различного уровня сложности [6].

Неблагоприятные условия обитания наблюдали не только в бухтах, но и на открытом участке прибрежной зоны моря. Так, в точке № 1, которую изначально выбирали как «условно чистую», неоднократно получали снижение численности тест-объектов на 50 % и более. Одной из причин этого являются, вероятно, городские сточные воды, которые в зависимости от гидрологических условий могут выноситься далеко за пределы контрольного створа. Эти факты определили принцип расчета результатов — прирост численности тест-объектов в опыте относительно исходной величины.

Показатель численности традиционно применяется в гидробиологических и токсикологических исследованиях. Являясь одной из фундаментальных характеристик, он, как показывает опыт, позволяет достоверно выявить зоны с неудовлетворительным качеством среды. По данным японских исследователей [14], численность живых клеток точно соответствует

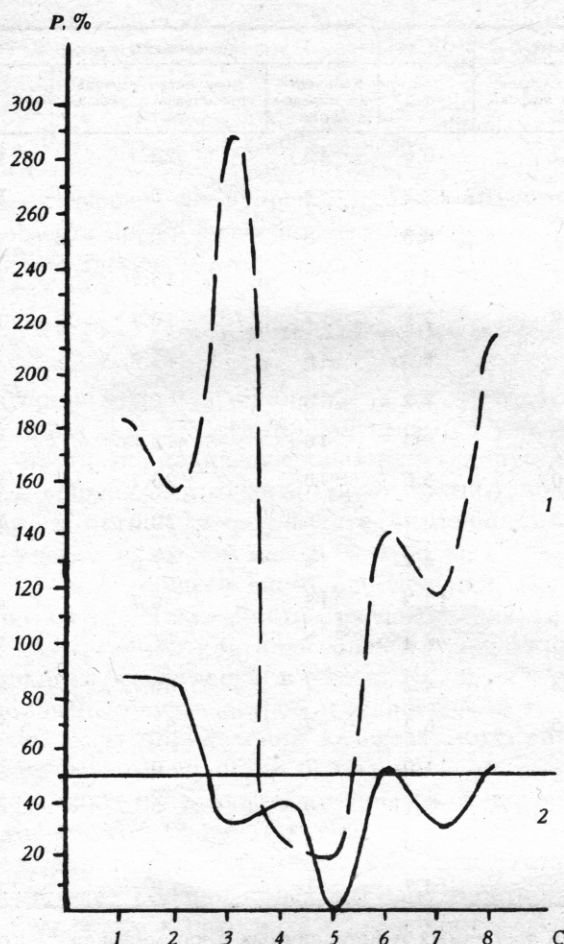
Сравнительный анализ качества морской воды из различных участков акватории г. Севастополя по показателю «токсичность»

Номера точек	Острый опыт			Хронический опыт		
	Количество определений	Количество случаев токсического эффекта, %	<i>t</i>	Количество определений	Количество случаев токсического эффекта, %	<i>t</i>
1	19	16,7	6,0	18	23,5	4,2
2	9	0	12,8	7	0	5,8
3	10	11,1	8,8	8	0	4,1
4	19	16,7	6,0	17	18,8	4,2
5	10	22,2	3,6	7	16,7	1,4*
6	16	0	8,3	16	13,3	3,6
7	16	13,3	7,2	16	6,7	3,9
8	16	0	9,4	16	13,3	3,6
9	16	20,0	5,8	16	26,7	3,8
10	16	13,3	6,2	16	20,0	2,9*
11	16	33,3	4,1	16	33,3	2,3*
12	16	0	12,3	16	6,7	4,8
13	9	12,5	6,4	7	50,0	3,3
14	9	12,5	4,2	7	66,7	1,1*
15	9	37,5	6,2	7	33,3	2,2*
16	8	0	11,0	7	0	6,5
17	7	0	7,1	6	0	6,1
18	8	0	8,0	7	0	7,5
19	8	0	14,7	7	0	11,0

* — различия между выборками токсичных и нетоксичных проб достоверны при $P = 0,1-0,4$; в остальных сериях определений — при $P = 0,05$.

интенсивности фотосинтеза, в то время как количество хлорофилла *a* и показатели фотосинтетической активности не коррелируют между собой.

В экспериментах с *A. salina*, которые проводили параллельно, результаты не всегда подтверждали выводы, основанные на биотестировании с культурой водорослей. В ряде случаев в пробах воды, где ракообразные гибли, водоросли интенсивно размножались. Наиболее характерный пример этого представлен на рис. 2. В серии № 3 прирост численности клеток *E. cordata* достиг 290 %, а численность *A. salina* упала до 32 % от исходной. Результаты серий № 2, 6 и 8 не превысили принятой величины критерия токсичности [7], но в различной степени приблизились к ней. Интенсивный прирост численности водорослей не всегда является признаком удовлетворительного качества среды. Такой эффект может быть не только следствием ее повышенной трофности. Известно, что стимуляцию роста водорослей способны вызывать комплексные соединения металлов, образующиеся под воздействием моющих средств [12]. Эффект стимулирования физиолого-биохимических процессов может быть обусловлен и присутствием поллютантов другой природы [10].



2. Динамика токсичности морской воды в точке контроля № 5 по показателю «токсичность» в остром опыте: 1 — результаты тестирования на *E. cordata*; 2 — на *A. salina*; P, % — численность особей, %; C — последовательность определений.

Ракообразные как тест-объекты при биотестировании проявили меньшую чувствительность к качеству среды, хотя в отдельных экспериментах токсичность проб констатировали по реакции этих гидробионтов. Методическое руководство по биотестированию воды, разработанное для пресных водоемов, в качестве обязательного оговаривает лишь один тест-объект — ракообразных [7], а нами показано, что их нельзя использовать в биотестировании. Хотя в ряде случаев именно реакция ракообразных являлась основанием для определения токсичности среды, такие факты лишь подтверждают необходимость включения в число обязательных тест-объектов также растительных и животных организмов, которые иллюстрируют различные пределы выносливости видов с несовпадающими зонами оптимума и угнетения.

Высокие абсолютные значения *t*-критерия Стьюдента, полученные при сравнении выборок токсичных и нетоксичных проб, выделенных на основании пограничной величины тест-параметра, равной 50 %, видимо, свидетельствуют о целесообразности ее корректировки в сторону уменьшения. Известно, что у гидробионтов основным механизмом приспособления к действию токсикантов является естественный отбор наиболее резистентных особей, и если 50 % из них гибнут в исследуемой пробе, то это свидетельствует об угрозе выживания популяции. Обеспечение сохранности численности видов — одна из задач экотоксикологического контроля, и приемлемым или допустимым качеством среды их обитания должно быть такое ее состояние, при котором не половина, а большая часть особей не гибнет, находясь в ней.

Заключение

Таким образом, мониторинг качества морских вод в акватории г. Севастополя выявил обширные квазистационарные участки с неблагоприятными услови-

ями среды обитания для гидробионтов различных уровней организации. Хотя в точках контроля морская экосистема испытывает различный по степени и химической природе антропогенный пресс, метод биотестирования с использованием комплекса тест-объектов позволил выявить достоверные различия тест-реакций гидробионтов, что делает возможным его применение для эко-токсикологического картирования морских водоемов.

Дальнейшее совершенствование методов биотестирования требует разработки интегральной системы оценки и предоставления данных о реакции всех использованных в опытах тест-объектов, что расширит возможности метода, позволит выявить сезонную динамику его чувствительности.

**

У статті обговорюються результати токсикологічного моніторингу морських прибережних вод методом біотестування і можливість застосування цього методу при екотоксикологічному картуванні.

**

Results of toxicological monitoring of marine sea-shore waters by bioassay method and possibilities of its using in the ecotoxicological mapping are discussed.

**

1. Брагинский Л.П. Интегральная токсичность водной среды и ее оценка с помощью методов биотестирования // Гидробиол. журн. — 1993. — 29, № 6. — С. 66—73.
2. Брагинский Л.П., Дмитриева А.Г., Крайнюкова А.Н., Филенко О.Ф. Биотестирование: возможности и перспективы использования в контроле поверхностных вод // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. — Л.: Гидрометеиздат, 1989. — Вып. 2. — С. 165—215.
3. Заика В.Е., Валова Н.А., Петров А.Н., Маккавеева Е.Б. Использование бентоса для оценки состояния экосистем Черного моря / Проблемы фонового мониторинга состояния природной среды. — Л.: Гидрометеиздат, 1990. — Вып. 8. — С. 183—185.
4. Крайнюкова А.М., Ульянова У.П., Дятлов С.Е., Шагрина Л.А. и др. Біотестування морської води та стічної, яка відводиться в море: Методика. Офіційне видання. — Київ, 1995. — 37 с.
5. Методики биологических исследований по водной токсикологии / Под ред. Н.С.Строганова. — М.: Наука, 1971. — 300 с.
6. Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. — Л.: Гидрометеиздат, 1989. — 276 с.
7. Методическое руководство по биотестированию воды: РД 118-02-90. — М.: 1991. — 46 с.
8. Патин С.А. Биотестирование как метод изучения и предотвращения загрязнения водоемов // Биотестирование природных и сточных вод. — 1981. — С. 7—17.
9. Правила охраны поверхностных вод. — М., 1991. — 35 с.
10. Шагрина Л.А. Реакция сообщества обрастаний на действие активного хлора при защите антропогенных субстратов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Севастополь, 1990. — 24 с.
11. Graut Astair, Hatelly Jonathan G., Lonesveville V. Mapping the ecological impact of heavy metals on the estuarine polychaete *Nereis diversicolor* using inherited metal tolerance // Mar. Pollut. Bull. — 1989. — 20, N 5. — 235—238.
12. Horstmann U., Gelpke N. Algal growth stimulation by chelatisation risks associated with complexants in P-free washing agents: 9e Collog. int oceanogr. med. — Nice, 22—24 oct. 1990 / Rev. int oceanogr. med. — 1991. — 101. — P. 260—264.
13. Petrov A.N., Shadrina L.A. The assessment of impact of the Tchernaya river estuary and municipal sewages on state of marine communities in Sevastopol Bay. Estuarine Environments and Biology of Estuarine species. Poland, 1993. — Gdynia, 1993. — P. 13.
14. Satoh Hiroo, Yamaguchi Yukua. Разделение живых и мертвых клеток в группах микрородослей с помощью техники окрашивания // Jap. J. Phycol. — 1988. 36, N 4. — P. 328—330.