

## УСЛОВИЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА ГИДРОБИОНТОВ

УДК 574.24 + 582.26

### ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ВОД АМУРСКОГО ЗАЛИВА И ЗАЛИВА НАХОДКА ЯПОНСКОГО МОРЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИАТОМЕИ *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

© 2011 г. Ж.В. Маркина, Н.А. Айздайчер

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041

Поступила в редакцию 10.06.2009 г.

Окончательный вариант получен 09.12.2009 г.

Проведено биотестирование воды из Амурского залива и зал. Находка (Японское море) с применением микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum*. Как в остром (3 сут.), так и в хроническом опыте (7 сут.) вода, отобранная из заливов, оказала ингибирующее действие на рост водоросли в мае 2007 г. В августе отмечено слабое эвтрофирующее действие тестируемой воды на водоросль как в остром, так и в хроническом опыте. Однако наиболее яркий эвтрофирующий эффект наблюдали в октябре, особенно в остром опыте.

**Ключевые слова:** биотестирование, загрязнение вод, Амурский залив, залив Находка, *Phaeodactylum tricornutum*.

## ВВЕДЕНИЕ

Для морских прибрежных экосистем характерно богатое видовое разнообразие и высокая продуктивность. Залив Петра Великого Японского моря – уникальнейшая акватория дальневосточных морей России. В эстуариях рек, впадающих в зал. Петра Великого, ведется промысловый лов рыбы и добыча беспозвоночных, по берегам некоторых рек расположены рыбоперерабатывающие заводы, в заливе обнаружены крупные скопления промысловой водоросли анфельции. В тоже время, вследствие интенсивной хозяйственной деятельности отдельные акватории залива подвергаются мощному антропогенному воздействию, которое приводит к ухудшению экологической ситуации. Особенно загрязнены Амурский залив, на берегах которого расположен г. Владивосток, и зал. Находка, где находятся крупнейшие на Дальнем Востоке России порты Находка и Восточный (Вашенко, 2000; Огородникова, 2001; Наумов, 2006).

При анализе качества морских вод необходимо не просто определять содержание загрязняющих веществ, но и оценивать отклик гидробионтов на действие среды. Эту цель можно достичь с помощью биотестирования, которое все чаще применяется как в российских, так и международных исследовательских программах (Моисеев, 2008; Филленко, 2008). Ранее биотестирование воды из Амурского залива и зал. Находка проводилось с применением мизид, предличинки анчоуса, личинок морского ежа и мидий, которое показало необходимость использования этого метода для данных акваторий (Черкашин, Вейдеман, 2005; Наумов, 2006). Однако оценке качества вод заливов с помощью биотестирования на микроводорослях все еще не уделяется должного внимания. В связи с вышеизложенным цель настоящей работы заключалась в проведении биотестирования воды из Амурского залива и зал. Находка Японского моря с применением микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биотестирование проводили согласно «Руководству по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов» (2002). Пробы воды отбирали в Амурском заливе и зал. Находка в мае, августе и октябре 2007 г. (рис. 1). Названия станций и характеристика солености воды приведены в таблице 1. Соленость морской воды измеряли на электросолемере ГМ-65М.



Рис. 1. Расположение станций отбора проб воды. Условные обозначения соответствуют номерам станций в таблице 1.

Fig. 1. Map showing the sites of the water sampling. 1-5 – station numbers.

Таблица 1. Описание станций отбора проб в Амурском заливе и зал. Находка.

Table 1. Stations in Amursky Bay and Nakhodka Bay description.

Станция	Соленость, ‰		
	Май 2007 г.	Август 2007 г.	Октябрь 2007 г.
1. Спортивная гавань	29,0	27,8	31,2
2. п-ов Де-Фриз	22,8	23,7	28,2
3. кут б. Находка	25,5	32,5	15,0
4. приустье р. Партизанской	14,1	25,5	17,6
5. б. Врангеля	31,0	33,0	32,9

В качестве тест-объекта использовали диатомовую водоросль *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyta), где тест-функцией служила численность клеток микроводоросли. Кроме того, этот организм и показатель рекомендованы и другими нормативными документами (Water quality, 1994; КНД, 1995; Руководство..., 2002). Микроводоросль культивировали в жидкой питательной среде Гольдберга, приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды (Кабанова, 1961). Эксперименты проводили в конических колбах Эрленмейера емкостью 250 мл с объемом культуральной среды 100 мл. Биотестирование выполнено

при освещении люминесцентными лампами интенсивностью  $70 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \times \text{с})$  со свето-темновым периодом 12 ч свет: 12 ч темнота и температуре  $20 \pm 2^\circ \text{C}$ .

Качество природной морской воды оценивали по изменению численности клеток в суспензии в остром (3 сут.) и хроническом (7 сут.) опыте. Контрольные образцы выращивали на морской воде из условно чистого района (зал. Петра Великого;  $42^\circ 54'$  с.ш.,  $131^\circ 41'$  в.д.). Для стандартизации результатов при тестировании проб с пониженной соленостью воды использовали культуру микроводоросли, адаптированную к соответствующей солености (Руководство..., 2002).

Численность клеток подсчитывали в камере Горяева и в контроле ее принимали за 100%. Опыты проводили в трех повторностях (Жмур, Орлова, 2001). Результаты обрабатывали методами вариационной статистики. Доверительные интервалы соответствуют 95% уровню значимости (Лакин, 1973).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Перед процедурой биотестирования была проведена проверка пригодности культуры микроводоросли *P. tricornutum* для биотестирования с применением стандартного токсиканта бихромата калия. По экспериментальным данным  $\text{ЭК}_{50}^{96}$  бихромата калия для *P. tricornutum* составила 7,9 мг/л, таким образом, данную культуру можно использовать для биотестирования.

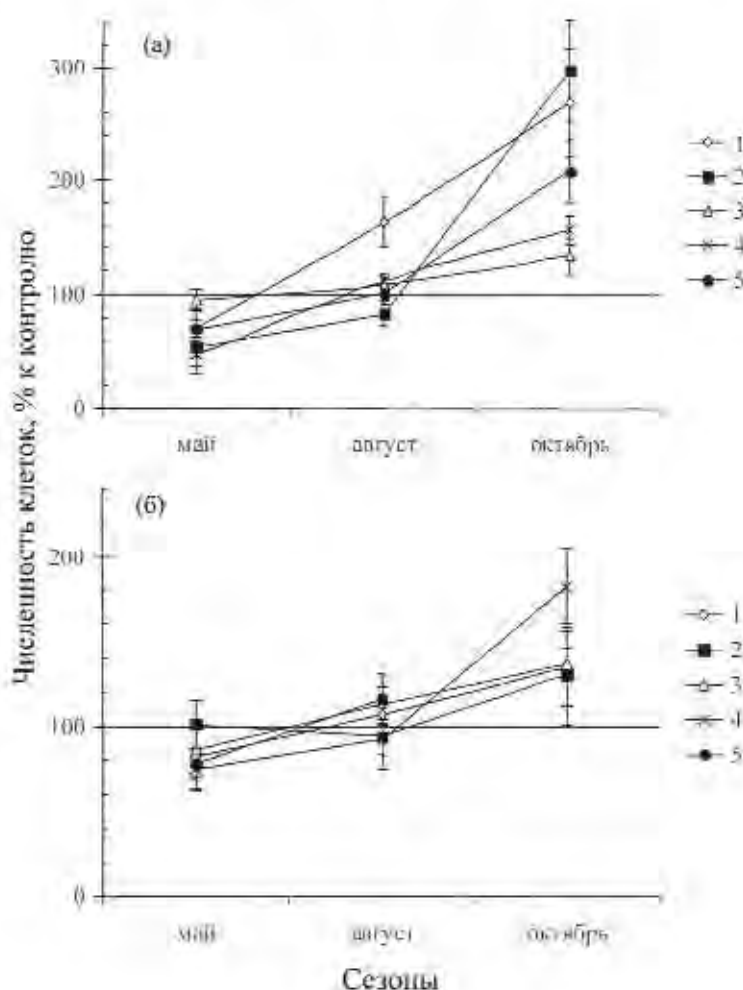


Рис. 2. Численность клеток (% к контролю): (а) – острый опыт, (б) – хронический опыт.

Fig. 2. Cells number (percent to control) (a) – acute test, (b) – chronic test. 1-5 – station numbers.

Острый опыт показал, что в мае на 3-и сутки численность клеток *P. tricornutum* в воде со всех станций снижалась: минимально на станции 3 – до 95% от контроля, максимально – в воде со станции 4 – до 46% (рис. 2а). В августе на 3-и сутки количество клеток в воде со станции 1 значительно превышало контрольное, достигнув 164%, в воде со станции 3 составляло 83%, а в случае станций 3-5 практически не отличалось от контрольного. В октябре в остром опыте численность клеток микроводоросли, выращенной в воде со всех станций, превышала таковую в контроле: минимально в воде со станций 3 и 4 – 134 и 157% от контроля соответственно, максимально в воде со станций 1, 2 и 5, достигая 270, 299 и 208% соответственно.

Хронический опыт показал, что в мае на 7-е сутки число клеток водоросли в воде со станций 1 и 3-5 оставалось ниже уровня контроля, а в случае станции 2 – не отличалось от него (рис. 2б). В августе на 7-е сутки рост популяции микроводоросли в воде со станций 2 и 4 не отличался от контрольного и был интенсивнее его в воде со станций 1, 3 и 5. В октябре в хроническом опыте, также как и в остром, наблюдали стимуляцию роста водоросли в воде со станций 1-4, однако менее выраженную, чем на 3-и сутки. Хронический опыт для воды со станции 5 осенью не проводили. Подробные данные для всех сезонов исследования по динамике численности клеток в течение 7 суток хронического опыта представлены в таблице (табл. 2).

**Таблица 2.** Относительная численность клеток микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum* (% к контролю) в воде со станций из Амурского залива и зал. Находка (1-5 номера станций, соответствующие таковым в таблице 1).

**Table 2.** Cells number (percent to control) of microalga *Phaeodactylum tricornutum* in water from Amursky bay and Nakhodka bay (1-5 stations number in table 1).

Сезон	Сутки	Станции				
		1	2	3	4	5
Май	0	100±15	100±15	100±15	100±15	100±15
	1	94±8	69±10	144±12	40±7	105±16
	2	88±9	68±11	135±19	58±12	55±9
	3	71±16	54±17	95±9	46±16	69±9
	4	70±8	63±13	98±12	65±7	53±10
	7	82±19	101±14	86±15	75±11	78±9
Август	0	100±12	100±12	100±12	100±12	100±12
	1	101±14	171±25	78±10	86±9	66±13
	2	115±19	55±7	124±16	158±21	104±10
	3	164±22	83±12	108±7	112±6	101±9
	4	139±20	96±8	110±15	111±18	129±8
	7	107±12	94±19	113±10	93±9	116±
Октябрь	0	100±10	100±10	100±10	100±10	100±100
	1	105±18	107±14	103±9	135±18	171±21
	2	107±10	147±5	115±8	144±10	107±15
	3	270±48	299±55	134±16	157±13	209±28
	4	181±23	137±18	127±12	105±9	55±8
	7	134±22	130±30	137±9	182±23	37±4

Таким образом, число клеток *P. tricornutum* в воде, отобранной на станциях в течение трех сезонов, в той или иной мере отклонялось от контрольных значений. С одной стороны причиной ингибирования роста микроводоросли может быть недостаток фосфатов (Финенко и др., 1971). Однако по данным В.А. Лучина с соавторами (2005), в Амурском заливе и зал. Находка в течение всего года



сохраняются концентрации фосфатов, достаточные для поддержания фотосинтеза и не являющиеся лимитирующим фактором в развитии фитопланктона. С другой стороны, вероятно, отмеченные нами отклонения динамики численности *P. tricornutum* и других показателей от контрольных связаны с присутствием в Амурском заливе и зал. Находка загрязняющих веществ. Известно, например, что низкие концентрации пестицидов, тяжелых металлов и детергентов, с одной стороны, способны стимулировать рост микроводорослей (Брагинский и др., 1987). В водной толще и донных осадках изучаемых районов неоднократно зарегистрированы концентрации тяжелых металлов, поверхностно-активных веществ, пестицидов, фенолов, существенно превышающие фоновые, что свидетельствует о хроническом загрязнении заливов (Tkalin et al., 1993; Доклад..., 2003; Ковековдова, Симоконь, 2004; Черкапин, Вейдеман, 2005; Наумов, 2006).

В результате обогащения заливов биогенными элементами и поступления загрязняющих веществ продуктивность фитопланктона увеличилась в период с 2000-2004 гг. по сравнению с 1982-1985 гг., также произошли изменения доминирующих видов, и наметилась тенденция к обеднению фитопланктонных сообществ (Стоник, Орлова, 1998; Стоник, 1999).

Те или иные изменения наблюдали также в сообществах макрофитов, произрастающих в Амурском заливе. Так, в настоящее время его растительные сообщества деградируют: число видов в них уменьшилось в 1,5 раза по сравнению с 1970-1980 гг., усилилась ценотическая роль зеленых водорослей; сократились заросли водорослей и морских трав (Levenets, Skriptsova, 2008). На большей части зал. Находка водоросли находятся в угнетенном состоянии, у большинства из них оборваны или повреждены талломы, на которых поселилось большое количество полихет-спирорбисов (Наумов, 2006).

Таким образом, по результатам как острого (3 сут.), так и хронического опыта (7 сут.) можно сделать вывод об ингибирующем действии водной среды заливов на рост водоросли в мае 2007 г. В августе отмечено слабое эвтрофирующее действие тестируемой среды как в остром, так и в хроническом опыте, за исключением станции 1 на 3-и сутки, где отмечена наиболее ярко выраженная стимуляция роста микроводоросли. Однако наиболее яркий эвтрофирующий эффект наблюдали в октябре, особенно в остром опыте. Следовательно, в воде из Амурского залива и зал. Находка нами зарегистрированы выраженные отклонения численности микроводоросли *P. tricornutum* клеток от контрольной. Проведенные исследования показали эффективность метода биотестирования и необходимость его применения для оценки качества вод заливов в долговременном мониторинге состояния среды.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Брагинский Л.П., Величко И.М., Щербань Э.П. Пресноводный планктон в токсической среде. Киев: Наукова думка, 1987. 180 с.

Ващенко М.А. Загрязнение залива Петра Великого Японского моря и его биологические последствия // Биология моря. 2000. Т. 26. №3. С. 149-159.

Доклад о состоянии окружающей природной среды Приморского края в 2002 г. Владивосток: Министерство природных ресурсов РФ, Главное управление природных ресурсов и охраны окружающей среды МПР России по Приморскому краю (ГУПР по Приморскому краю), 2003. 162 с.

*Жмур Н.С., Орлова Т.Л.* Методика определения токсичности вод, водных вытяжек, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флюоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. М.: Акварос, 2001. 44 с.

*Кабанова Ю.Г.* О культивировании в лабораторных условиях морских планктонных диатомовых и перидиниевых водорослей // Тр. Института Океанологии АН СССР. 1961. Т. 47. С. 203-216.

*Ковековдова Л.Т., Симоконов М.Н.* Тенденции изменения химико-экологической ситуации в прибрежных акваториях Приморья. Токсичные элементы в донных отложениях и гидробионтах // Изв. ТИНРО. 2004. Т. 137. С. 310-320.

*КНД 211.1 4.047-95.* Біотестирования морської води та стічної, яка відводиться в море. Методика. Видання офіційне. Київ, 1995. 37 с.

*Лакин Г.Ф.* Биометрия. М: Высшая школа, 1973. 343 с.

*Лучин В.А., Тихомирова Е.А., Круц А.А.* Океанографический режим вод залива Петра Великого (Японское море) // Изв. ТИНРО, 2005. Т. 140. С. 130-169.

*Моисеенко Т.И.* Водная экотоксикология в теории и практике // Мат. III Всерос. конф. по водной токсикологии, посвящ. памяти Б.А. Флерова, «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы», конф. по гидроэкологии «Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок» и школы-семинара «Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки». Часть 1. (Борок, 11-16 ноября 2008 г.). Борок: Ярославский печатный двор, 2008. С. 127-136.

*Наумов Ю.А.* Антропогенез и экологическое состояние геосистемы прибрежно-шельфовой зоны залива Петра Великого Японского моря. Владивосток: Дальнаука, 2006. 300 с.

*Огородникова А.А.* Эколого-экономическая оценка воздействия береговых источников загрязнения на природную среду и биоресурсы залива Петра Великого. Владивосток: ТИНРО-центр, 2001. 193 с.

*Руководство* по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М: РЭФИА, НИА – Природа, 2002. 118 с.

*Стоник И.В.* Фитопланктон Амурского залива (Японское море) в условиях евтрофирования: автореф. диссерт. на соиск. уч. степени кандидата биол. наук. Владивосток, 1999. 26 с.

*Стоник И.В., Орлова Т.Ю.* Летне-осенний фитопланктон в Амурском заливе Японского моря // Биология моря. 1998. Т. 24. №4. С. 205-211.

*Филленко О.Ф.* Нормирование загрязнения и биотестирование вод: что дальше? // Мат. III Всерос. конф. по водной токсикологии, посвящ. памяти Б.А. Флерова, «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы», конф. по гидроэкологии «Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок» и школы-семинара «Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки». Часть 1. (Борок, 11-16) Борок: Ярославский печатный двор, 2008. С. 148-156.

*Финенко З.З., Тен В.С., Акинина Д.К., Сергеева Л.М., Берсенева Г.М.* Пигменты морских одноклеточных водорослей и интенсивность фотосинтеза. Сб. Физиологическая экология морских планктонных водорослей (в условиях культур). Киев: Наукова думка, 1971. С. 51- 92.

Черкашин С.А., Вейдеман Е.Л. Экоотоксикологический анализ состояния прибрежных экосистем залива Петра Великого (Японское море) // Вопросы рыболовства. 2005, Т. 6, №4, С. 637-652.

Levenets I.R., Skriptsova A.V. Ecological studies and state of the ecosystem of Amursky bay and estuarine zone of the Razdolnaya river (Sea of Japan). V. 1. Vladivostok: Dalnauka, 2008. Pp. 284-301.

Tkalin A.V., Belan T.A., Shapovalov E.N. The State of the Marine Environment near Vladivostok, Russia // Mar. Pollut. Bull. 1993. V. 26. №8. Pp. 418-422.

Water quality. Algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. Draft International Standart ISO/DIS 10253.2, 1994. 12 p.

## ECOTOXICOLOGICAL ANALYSIS OF AMURSKY BAY AND NAKHODKA BAY WATERS WITH USING DIATOM *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

© 2011 y. Zh.V. Markina, N.A. Aizdaicher

*A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok*

Bioassay of water from Amursky bay and Nakhodka (Japan Sea) with using microalgae *Phaeodactylum tricornutum* were conducted. In acute (3 days) and chronic (7 days) tests water from bay inhibited microalgae growth in May 2007. In August slight inhibited impact of water on algae in acute (3 days) and chronic (7 days) tests were registered. But more dramatic effect of eutrophication was observed in October, especially in acute test.

*Key words:* bioassay, water pollution, Amursky bay, Nakhodka bay, *Phaeodactylum tricornutum*.