

ВОДНЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ

УДК 519.24:581.526.325

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ ВОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ИХТИОФАУНЫ.

© 2012 г. С.П. Чехомов¹, С.Н. Егоров²

1 – ФГУП «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»,
Астрахань, 414056

2 – ООО «Эко-Лайн», Астрахань, 414000

Статья поступила в редакцию 4.07.2012 г.

Окончательный вариант 10.09.2012 г.

Сравнивается чувствительность тест-объектов ихтиофауны чернополосой цихлиды (*Cichlasoma nigrofasciatum*) и гуппи (*Poecillia reticulata*) к действию стандартного токсиканта – калия двуххромовокислого ($K_2Cr_2O_7$). Оценивается токсичность проб морской воды Северного Каспия по проценту гибели тест-объектов ихтиофауны. Введение нового тест-объекта ихтиофауны в стандартный набор тест-объектов позволит увеличить достоверность оценки токсичности водной среды.

Ключевые слова: биотестирование, тест-объект, процент гибели, Северный Каспий.

ВВЕДЕНИЕ

Отрицательное влияние антропогенного фактора на водную среду обуславливает необходимость соблюдения экологических приоритетов для сбалансирования требований к охране водных экосистем – с одной стороны, и решения задач рационального хозяйственного использования водных биологических ресурсов – с другой (Никаноров и др., 2000).

В этой связи особую актуальность приобретают характеристика и оценка с экологических позиций качества воды как интегрального показателя состояния водных экосистем.

Из-за большого числа различных соединений естественного и техногенного происхождения при оценке качества воды, помимо обычного химического анализа наиболее распространенных загрязнителей, необходимо проводить суммарную токсикологическую оценку воды, основанную на сочетании различных методов биотестирования. По мнению ряда авторов (Брагинский и др. 1979; Лесников, 1983; Филенко, 1989; Крайнюкова, 1988) ни один из отдельно взятых организмов не может служить универсальным тест-объектом, чувствительным к веществам различной химической природы, следовательно, для гарантированного выявления в среде токсического агента должен использоваться набор биотестов, представляющих организмы различных таксономических групп.

Целью данной работы является модификация методики биотестирования природных сред на представителях ихтиофауны (Руководство..., 2002) путем введения нового тест-объекта – чернополосой цихлиды с целью повышения чувствительности метода при идентификации уровня токсичности водной среды.

В задачи исследований входило:

– Сравнение чувствительности тест-объектов ихтиофауны к действию стандартного токсиканта – калия двуххромовокислого ($K_2Cr_2O_7$);

- Оценка токсичности проб морской воды Северного Каспия по проценту гибели тест-объектов ихтиофауны;
- Сопоставление полученных результатов биотестирования на объектах ихтиофауны с тест-организмами других таксонов;
- Определение степени влияния фона токсикологического загрязнения водной среды на чувствительность тест-объектов;
- Возможность применения модифицированной методики биотестирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Район отбора проб для проведения экспериментов охватывал северную часть Каспийского моря. За условную границу между Северным и Средним Каспием обычно принимают линию, соединяющую о. Чечень с м. Тюб-Караган. На долю Северного Каспия приходится более 24,3 % площади всего моря. Наибольшая глубина северной части моря – 25 м, средняя – 4,4 м (Каспийское море, 1986).

Пробы поверхностных вод отбирались согласно ГОСТ 17.1.5.05. Пробы, отобранные для биотестирования, не подлежат консервированию химическими веществами или замораживанию. Объем пробы составлял 5 л. Для отбора и хранения проб использовались пластиковые емкости объемом 5 л. Перед биотестированием пробы воды перемешивались (вручную) и при необходимости фильтровались через фильтровальную бумагу по ГОСТ 12026.

Для проведения экспериментальных работ использовались мощности лаборатории водных проблем и токсикологии ФГУП «КаспНИРХ».

Тест-объекты, используемые при проведении биотестирования, являются лабораторными культурами. В опыте использовались 2-х суточные мальки гуппи, согласно методике (Руководство..., 2002) и мальки цихлид в возрасте 10 сут. Этот возраст был выбран потому, что именно в это время молодь переходит на смешанное питание и наиболее чувствительна к изменениям условий среды обитания (Лукияненко и др., 1987). Плотность посадки тест-объектов составляла 10 шт./л. Контролем служила отстоянная водопроводная, дехлорированная вода, аэрированная в течение 7 сут. Эксперимент проводился в аквариумах, объем пробы воды – 5 л, при температуре 24-26 °С. Аэрация воды осуществлялась при помощи компрессора. Степень чувствительности тест-объектов при интоксикации определялась по времени выживания. Повторность опыта 3-кратная.

По результатам эксперимента строились графики, на которых отображался процент гибели тест-объектов, т. е. величины отличные от нуля, таким образом, на станциях, где гибель одного из тест-объектов не наблюдалась (процент гибели был равен нулю) диаграмма не строилась.

В период проведения биотестирования производился контроль над изменением кислородного режима, как показателя газового состояния среды, определялась температура. Содержание кислорода в пробах воды было в норме и колебалось в пределах 4,56-6,9 мг/л. Учитывая этот факт, можно исключить отрицательное влияние низкого содержания кислорода на используемые тест-объекты.

Сбор и обработка материала для исследования эколого-токсикологической обстановки на Северном Каспии были произведены в 2005-2007 гг. Точки отбора проб располагались согласно стандартной сетке станций отбора проб

ФГУП «КаспНИРХ» (рис. 1). Пробы отбирались в летне-осенний период всех трех лет исследований. Всего было проанализировано 102 пробы.

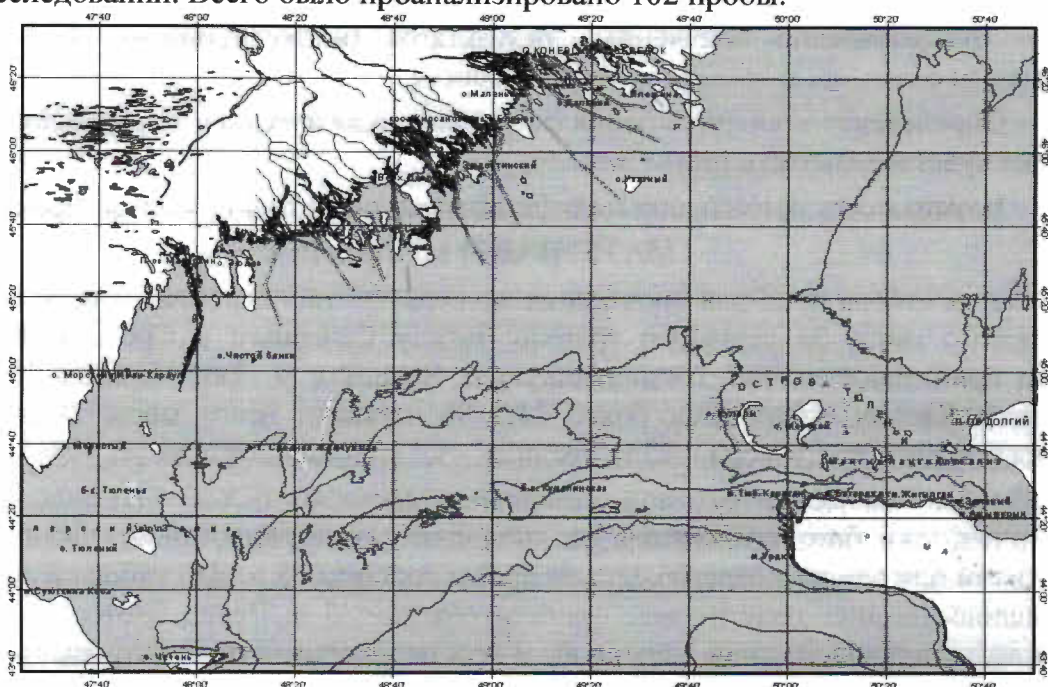


Рис. 1. Стандартная сетка станций отбора проб на Северном Каспии.

Fig. 1. Standard grid sampling stations in the North Caspian.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Обоснованность использования цихлид подтверждается целым рядом положительных особенностей:

- позволяют в короткий срок получить несколько генераций;
- достаточно неприхотливы при содержании в лабораторных условиях;
- в таксономии занимают более высокую ступень, чем гуппии;
- в сравнении с гуппи являются более высокоорганизованными;
- имеют более узкую экологическую валентность по отношению к большинству абиотических факторов среды по сравнению с гуппи;
- характеризуются меньшей биологической разнокачественностью.

Наряду с этим, следует учитывать тот факт, что у цихлид период от оплодотворения до появления молоди значительно продолжительнее такового у гуппи, в связи с этим становится проблематичным одномоментное получение большого количества молоди.

Биотестирование природной морской воды на тест-объектах ихтиофауны

Для проверки чувствительности чернополосых цихлид был поставлен эксперимент со стандартным токсикантом, в качестве которого выступал раствор эталонного вещества – калия двуххромовокислого ($K_2Cr_2O_7$). Данное вещество используют для определения степени чувствительности и пригодности рыб для биотестирования. Рабочие концентрации анализируемого вещества составляли 100, 125, 150, 175, 200 мг/л. Для количественной оценки токсичности раствора вещества установили среднюю летальную концентрацию за 24 ч. эксперимента ($ЛК_{50}$ за 24 ч.) графическим способом согласно методике (Руководство, ...2002).

Так, в результате эксперимента было установлено, что средняя летальная концентрация для гуппи составила 174 мг/л, а для цихлид – 111 мг/л (рис. 2).

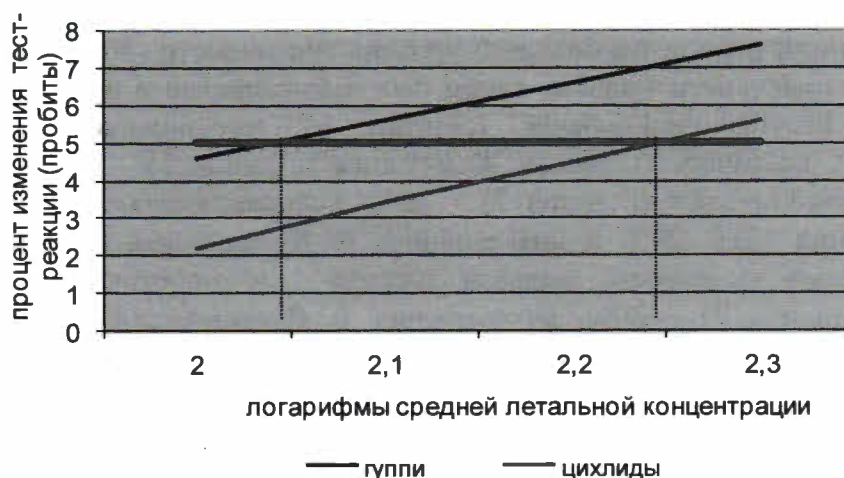


Рис. 2. Значения средней летальной концентрации токсического раствора для тест-объектов.

Fig. 2. Average lethal concentrations of a toxic solution for test objects.

Таким образом, сравнивая средние летальные концентрации двухромовокислого калия для выбранных тест-объектов, можно сделать вывод, что цихлиды на порядок чувствительнее гуппи, и, следовательно, могут улавливать более низкие значения концентрации токсикантов в природной воде при проведении биотестирования.

Биотестирование морской воды.

В летний период 2005 г. наибольший уровень смертности гуппи в интервале 13,3-16,7% был отмечен в пробах, отобранных в районе б. Большая Жемчужная (станция №6), б. Кулалинская (станция 5); у цихлид – 13,3% – в пробах воды акватории о. Укатный (станция 1), о. Малый Жемчужный (станция 2), б. Кулалинская (станция 5) (рис. 3).

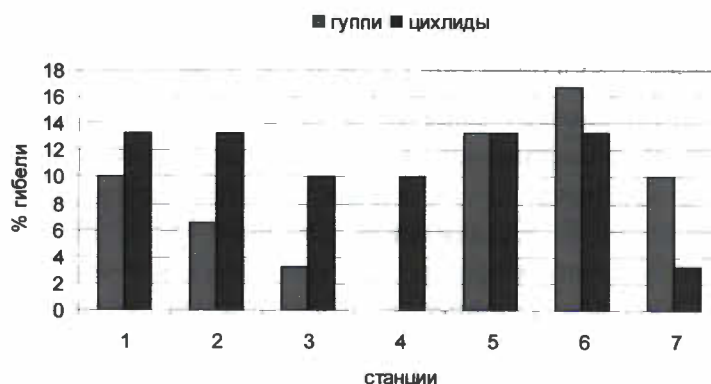


Рис. 3. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50% гибель тест-объектов).

Fig. 3. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

Сравнивая результаты биотестирования, представленные на рисунке, с величиной острой токсичности – 50% гибель тест-объектов, можно сказать о нормальном состоянии водной среды исследуемой акватории.

В осенний период наибольший уровень токсичности (30%) морской воды по показателям смертности мальков гуппи был зафиксирован в пробах, отобранных в районе б. Ракушечная-Горбачек (станция 6), юго-западнее б. Кулалинская (станция 17), восточнее б. Малая Жемчужная (станция 3) – 20%, юго-восточнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 7) – 20%, западнее свала Средней Жемчужной банки (станция 12) – 20% и юго-западнее б. Кулалинская (станция 14) – 20%; по показателям смертности мальков цихлид – юго-восточнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 7) – 20%, юго-западнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 5) – 23,3% и юго-западнее б. Кулалинская (станция 17) – 26,7% (рис. 4).

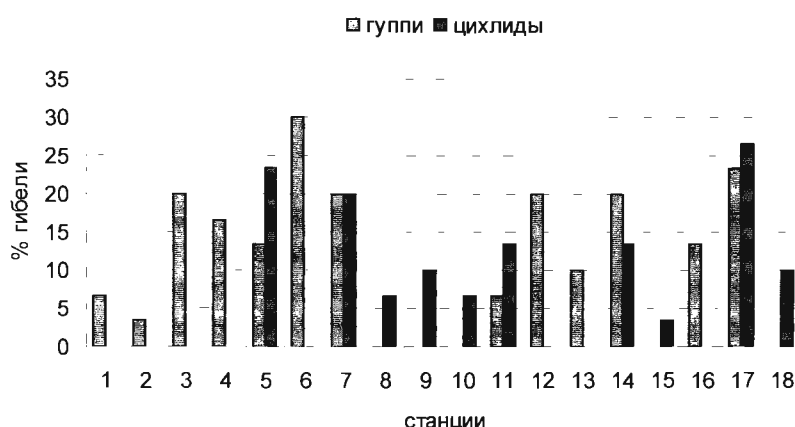


Рис. 4. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50% гибель тест-объектов).

Fig. 4. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

Анализ результатов биотестирования по сезонам выявил общие районы отбора проб, оказавших токсическое воздействие на оба тест-объекта: районы банок Ракушечная-Горбачек и Кулалинская. Острой токсичности не выявлено.

При проведении биотестирования в 2006 г. летних пробах с использованием гуппи наибольший отход наблюдался в воде, отобранной в районе свала Средней Жемчужной банки (станция 11) – 26,7%, Смирновского осередка (станция 10) – 23,3% и юго-западнее б. Кулалинская (станция 18) – 20 %; с использованием цихлид – южнее б. Кулалинская (станция 19) – 20%, восточнее б. Малая Жемчужная (станция 4) – 13,3%, юго-западнее б. Кулалинская (станция 15, 16) – 13,3%, юго-восточнее б. Большая Жемчужная (станция 20) – 13,3% (рис. 5).

В осенний период картина распределения уровней токсичности изменилась. Наибольший процент гибели мальков гуппи был отмечен в пробах воды, отобранных южнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 13) – 26,7%, б. Малая Жемчужная (станция 7) – 16,7%, западнее свала Средней Жемчужной банки (станция 15) – 16,7%. Для цихлид наиболее токсичными оказались пробы воды, отобранные западнее свала Средней Жемчужной банки (станция 15) – 23,3%), свал Укатного

(станция 2) – 16,7%, выходной участок Кировского банка (станция 4) – 16,7%, южнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 13) – 16,7% (рис. 6).

Обобщая данные, полученные в ходе экспериментов, можно сделать следующие выводы:

- наибольший процент гибели тест-объектов в летне-осенний период был отмечен в районах б. Кулалинская и б. Средняя Жемчужная;
- превышения уровня острой токсичности не отмечено, что говорит о благоприятной токсикологической обстановке в районах исследования.



Рис. 5. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50 % гибель тест-объектов).

Fig. 5. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

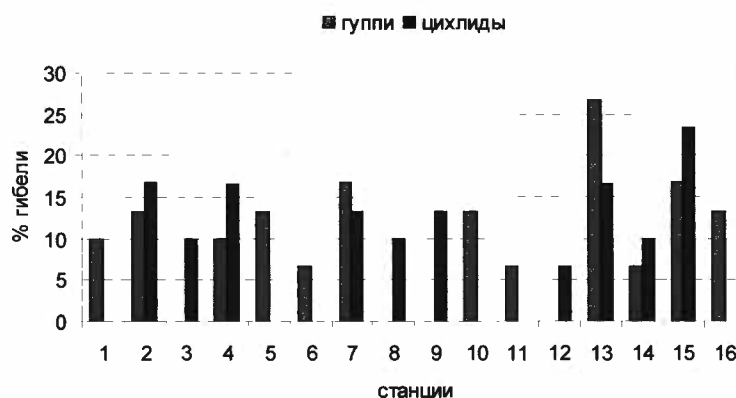


Рис. 6. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50% гибель тест-объектов).

Fig. 6. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

Анализ результатов биотестирования проб воды, отобранных в летний период 2007 г., с использованием гуппи выявил следующие районы с токсичностью, превышающей контрольные величины: свал Укатного (станция 3) – 23,3%, южнее б. Кулалинская (станция 15) – 16,7%, юго-западнее б. Кулалинская (станция 14) – 13,3%, южнее б. Кулалинская (станция 19) – 13,3% (рис. 7).

Для цихлид наиболее токсичными оказались пробы воды, отобранные северо-западнее б. Кулалинская (станция 10) – 26,7%, свал Укатного (станция 3) – 20%, о. Чистой Банки (станция 5) – 16,7%, юго-западнее б. Кулалинская (станция 13) – 16,7%, южнее б. Кулалинская (станция 17) – 16,7%.



Рис. 7. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50% гибель тест-объектов).

Fig. 7. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

В осенний период наибольший уровень токсичности (13,3-16,7%) морской воды по показателям смертности мальков гуппи был зафиксирован в пробах, отобранных в районе б. Малая Жемчужная (станция 7), юго-западнее б. Кулалинская (станция 18), о. Очиркин (станция 5), б. Средняя Жемчужная (станция 11), северо-западнее б. Кулалинская (станция 14); по показателям смертности мальков цихлид – в районе свала Хохлатского (станция 1) – 20%, о. Очиркин (станция 5) – 16,7%, западнее б. Ракушечная-Горбачек (станция 8) – 16,7%, северо-западнее б. Кулалинская (станция 14) – 16,7% (рис. 8).

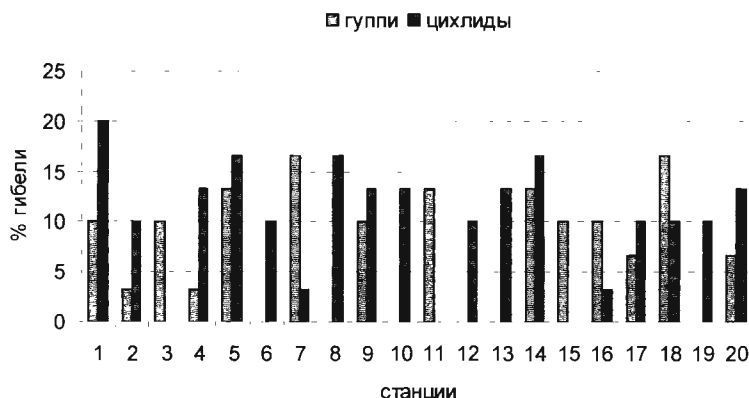


Рис. 8. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды (острая токсичность – 50% гибель тест-объектов).

Fig. 8. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity (acute toxicity means 50% mortality of test objects).

Сравнивая полученные данные можно отметить, что наиболее токсичными были пробы воды, отобранные в районах о. Чистой Банки и о. Укатный. По сезонам, после сравнения трех лет исследований, можно установить закономерность увеличения процента гибели тест-объектов от лета к осени; в среднем, наибольший уровень токсичности исследуемых проб по показателям обоих тест-объектов был отмечен в 2006 г.

Как показали результаты исследований, используемые тест-объекты ихтиофауны не выявили острой токсичности проб воды. Однако при этом нельзя дать однозначного ответа о состоянии водной среды исследуемой акватории и о ее пригодности для жизнедеятельности других гидробионтов. В этом можно убедиться на примере нижеприведенной таблицы, содержащей результаты биотестирования морской воды с применением набора тест-объектов.

Таблица. Сравнительная характеристика отношения тест-объектов к уровню токсичности морской воды.

Table. Comparative characteristic of relations between test objects and sea water toxicity.

Показатель	Фитопланктон	Зоопланктон	Зообентос	Гуппи	Цихлиды
фитопланктон – % отклонения численности водорослей от контроля, остальные – % гибели	19,4	22,6	21,2	0,5	2,4

Судя по проценту гибели тест-объектов ихтиофауны, можно сделать вывод, что в анализируемой пробе токсичность отсутствовала, хотя показатели других тест-объектов превышали уровень допустимых контрольных величин (10%).

Сопоставление полученных результатов биотестирования с данными токсикологических исследований в период 2005-2007 гг., а точнее, с уровнем загрязнения морской воды экстрагируемыми нефтяными углеводородами (ЭНУ), выявило общие районы, в которых определяемые показатели превысили контрольные величины и уровень ПДК. Сравнение производилось по двум сезонам – лето и осень.

В летний период наиболее загрязненными по рассматриваемым показателям явились районы о. Укатный, банок Кулалинская, Малая Жемчужная, Смирновского осередка, где наблюдалось превышение уровня ПДК по ЭНУ в 3 и более раз.

В осенний период было отмечено повышение фонового содержания ЭНУ в морской воде по сравнению с летом (за исключением 2007 г.). Повышенные значения анализируемых показателей были зарегистрированы в пробах, отобранных в районах выхода Волго-Каспийского канала, банок Ракушечная-Горбачек, Средняя и Малая Жемчужная, свала Укатного. Сезонное изменение концентраций ЭНУ в водной среде могло быть результатом, как антропогенного влияния, так и динамических факторов, а также следствием различной интенсивности продукционно-деструкционных процессов, характерных для Северного Каспия.

Необходимо напомнить, что авандельтовые участки морских акваторий характеризуются высокой степенью динамичности и изменчивости течения физико-химических процессов. Это обусловлено целым рядом факторов, которые разнятся по своей природе и мощности воздействия. Сюда можно отнести особенности

климата, гидродинамики, формирования соленостного статуса и кислородного режима, сезонные изменения биогенной составляющей, наблюдаемые стогно-нагонные и ледовые явления, вынос взвесей речным стоком и пр. В этом отношении Северная часть Каспийского моря может рассматриваться как яркий пример зоны мощнейших трансформационных процессов, обуславливающих существование уникального биоценоза.

Пресс неконтролируемых при постановке опытов с биотестированием факторов способен существенно исказить реальную картину токсичности воды. Наблюдаемое различие реакции конкретных тест-объектов, подтверждаемое результатами биотестирования природных морских вод, когда на некоторых станциях процент гибели гуппи превышал таковой цихлид, является яркой тому иллюстрацией. При этом при эксперименте со стандартным токсикантом в полностью контролируемых условиях наибольшую чувствительность однозначно проявляли цихлиды.

Этот факт лишний раз подтверждает правильность принципа использования в биотестировании набора тест-объектов, состоящего из представителей фито- и зоопланктона, зообентоса, ихтиофауны при проведении биотестирования, что позволяет избежать ошибки при определении токсичности среды.

В связи с этим, предполагаемая модификация методики, когда целесообразнее использовать (в дополнение или заменять гуппи) в стандартном наборе тест-объектов молоди чернополосых цихлид оправдана при выполнении биотестирования непериодического характера, в случаях, требующих более «тонкого» лабораторного анализа в полностью контролируемых (стационарных) условиях, а не массовых исследований (например, экологический мониторинг водоема, включающий в себя десятки станций отбора проб).

ВЫВОДЫ

– По результатам сравнения средних летальных концентраций двухромовокислого калия для выбранных тест-объектов, оказалось, что цихлиды на порядок чувствительнее гуппи, и, следовательно, могут откликаться на более низкие значения концентрации токсикантов в природной воде при проведении биотестирования.

– Как показали результаты исследований, используемые тест-объекты не выявили острой токсичности проб воды. Наиболее токсичными были пробы воды, отобранные в районах о. Чистой Банки и о. Укатный. Можно установить закономерность увеличения процента гибели тест-объектов от лета к осени; в среднем, наибольший уровень токсичности исследуемых проб по показателям обоих тест-объектов был отмечен в 2006 г.

– При отсутствии у тест-объектов ихтиофауны реакции на токсическое воздействие проб воды, тест-организмы других таксонов могут индизировать токсичность. Поэтому целесообразнее при оценке этого показателя использовать результаты биотестирования на группе тест-организмов.

– Сопоставление полученных результатов биотестирования с данными токсикологических исследований показало, что в летний период наиболее загрязненными явились районы о. Укатный, б. Кулалинская, б. Малая Жемчужная,

Смирновского осередка, в осенний период – районы выхода Волго-Каспийского канала, банок Ракушечная-Горбачек, Средняя и Малая Жемчужная, свала Укатного.

– Введение нового тест-объекта ихтиофауны (чернополосой цихлиды) в стандартный набор тест-объектов (модификация методики), используемых в целях биотестирования, оправдано только в случаях лабораторных исследований в контролируемых (стационарных) условиях, направленных на увеличение достоверности оценки токсичности водной среды.

Авторы благодарят сотрудника лаборатории водных проблем и токсикологии Н.В. Карыгину за предоставленную информацию по содержанию ЭНУ в воде Северного Каспия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Щербань Э.П., Линник П.Н. Эколого-токсикологическая ситуация в водной среде. Основные принципы оценки и прогнозирования // Гидробиол. журнал. 1989. №6. С. 91-101.

Каспийское море: Гидрология и гидрохимия. М.: Наука, 1986. 261 с.

Крайнюкова А.Л. Биотестирование и охрана вод от загрязнения. Сб. Методы биотестирования вод. Черноголовка: (б. и.), 1988. С. 4-14.

Лесников Л.А. Особенности действия загрязнений на популяции водных организмов. В кн. Вопросы водной токсикологии. М.: Наука, 1970. С. 61-65.

Лукияненко В.И., Черканин С.А., Кандинский П.А. Поведение молоди рыб и мизид в растворах токсикантов органического происхождения // Гидробиол. журнал. 1987. Т. 27. №4.

Никаноров А.М., Хоружая Т.А., Бражникова Л.В., Жулидов А.В. Мониторинг качества вод: Оценка токсичности. С-Пб.: Гидрометеиздат, 2000. 156 с.

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

Филенко О.Ф., Лазарева В.В. Влияние токсических агентов на общебиологические и цитогенетические показатели у дафний // Гидробиол. журнал. 1989. Т. 25. №3. С. 56-59.

MODIFICATION OF METHODS FOR NATURAL WATER BIOTESTING USING TEST OBJECTS OF ICHTHYOFAUNA

© 2012 y. S.P. Chekhomov¹, S.N. Yegorov²

1 – Caspian Fisheries Research Institute, Astrakhan

2 – ООО Eco-Line, Astrakhan

Sensitivity of ichthyofauna test-objects: black-striped cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) and guppy (*Poecilia reticulata*) to the impact of a standard toxic substance potassium 2-chromate ($K_2Cr_2O_7$) was compared. Toxicity of sea water samples taken from the Northern Caspian was determined from the percentage of mortality of ichthyofauna test-objects. Introduction of a new test-object of ichthyofauna to the standard set of test-objects will make it possible to increase reliability of the estimate of aquatic environment toxicity.

Key words: biotesting, test-object, percentage of mortality, the Northern Caspian.