

МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА, ОРДЕНА ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

ГРОЗДОВ Андрей Олегович

УДК 628.394(26):(574.5:615.9)

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ
ЗООПЛАНКТОНА В СВЯЗИ С БИОТЕСТИРОВАНИЕМ СТОЧНЫХ ВОД
И ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

(03.00.18 - гидробиология)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 1987

Работа выполнена в лаборатории прикладной физиологии и токсикологии Всесоюзного ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
С.А. Пагин

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Ю.Г. Симаков
доктор биологических наук, профессор
В.Н. Максимов

Ведущее учреждение: Всесоюзный научно-исследовательский институт по охране вод ВНИИВО, г. Харьков

Защита состоится " " _____ 1987 г. на заседании
Специализированного Ученого совета Д 053.05.71. Биологического
факультета Московского государственного университета по адресу:
Москва П17234, Ленинские горы, Биологический факультет МГУ.

Автореферат разослан " " _____ 1987 г.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета МГУ.

Ученый секретарь совета

Н.В. БЕЛОВА

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Острота современной ситуации химического загрязнения водоемов диктует необходимость не только наблюдений, констатирующих эффекты и последствия загрязнения, но и проведение работ, направленных на его предотвращение и контроль. В настоящее время система контроля загрязнения водоемов основана на гидрохимических методах исследования и нормативах предельно-допустимых концентраций (ПДК). Однако эффективность такого контроля невысока, так как регулярно контролируется лишь незначительная часть попадающих в воду загрязняющих веществ, и, что самое главное, с помощью гидрохимических определений не оценивается биологический эффект загрязнения. Обобщенную характеристику качества природных и сточных вод, основанную на оценке биологических эффектов загрязнения, могут дать методы биотестирования. В настоящее время биотестирование начинает внедряться в промышленные комплексы с целью контроля за производственным процессом и сточными водами, сбрасываемыми в водоемы. В этой связи возникает необходимость тщательной разработки, обоснования и апробации биотестов.

Цели и задачи исследования. Цель настоящей работы состояла в разработке и практическом применении чувствительных и экспрессных методов биотестирования, основанных на реакциях некоторых видов планктонных и планктобентосных беспозвоночных. В соответствии с этим в задачи работы входило: 1) дать сравнительную токсикологическую характеристику некоторых видов морских и пресноводных инфузорий, коловраток, низших ракообразных; 2) провести биотестирование загрязняющих веществ и промышленных стоков, а также загрязненных природных вод и донных грунтов; 3) разра-

ботать рекомендации по применению исследованных тест-объектов для биотестирования различных групп токсикантов и типов стоков.

Научная новизна работы. В унифицированных условиях исследованы реакции и отклики водных беспозвоночных различных систематических групп. Выявлены особенности изменения токсикорезистентности различных видов морских инфузорий в зависимости от их размеров. Разработана методика выделения из естественной среды протестированных морских инфузорий. Исследована токсикорезистентность инфузории *Stylonichia mytilus* (Ehrbg) в зависимости от различных факторов среды. Впервые для целей биотестирования использована одна из самых распространенных поведенческих реакций планктонных беспозвоночных - фототаксис. Выявлено существенное различие в токсикорезистентности основных стадий онтогенеза рачка *Artemia salina* (L) и рассмотрены основные факторы, влияющие на ее изменчивость.

Практическая значимость работы. На основании проведенных исследований даны заключения и рекомендации: 1) по безопасному уровню разбавления сточных вод йодобромного и бромного заводов, химического производства; 2) об эффективности работы очистных сооружений рыбообработывающих предприятий; 3) по выбору наиболее эффективных методов очистки судовых сточных вод от гидро-транспортной перевозки мелкой рыбы; 4) по устранению наиболее токсичных компонентов из состава технологических (цеховых) вод химического производства; 5) по выбору наименее токсичных препаратов, применяемых для бурения нефтяных скважин, борьбы с разливами нефти, промывки нефтеналивных емкостей (технические моющие средства); 6) по оценке уровня загрязнения природных вод в районе сброса стоков химического производства.

Получено авторское свидетельство (в соавторстве) № 933699 "Способ определения токсичности водной среды" - по нарушению фототаксиса планктонных беспозвоночных. Внедрен метод биотестирования промышленных сточных вод с целью определения их токсичности с использованием рачка *Daphnia magna Straus* (с актом внедрения на химическом производстве).

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на I съезде Советских океанологов (Москва, 1977), на Всесоюзном совещании по влиянию загрязнителей на морские организмы (Дальние Зеленцы, 1979), на Всесоюзном совещании молодых ученых МРХ СССР "Биологические ресурсы Мирового океана и их использование" (Москва, 1980), на конференции молодых ученых ВНИРО (Москва, 1981), на научно-техническом семинаре ВНИИВО "Методы токсикологического контроля сточных вод" (Харьков, 1982), на Всесоюзном симпозиуме "Обобщенные показатели качества вод-83" (Черноголовка, 1983), на объединенном коллоквиуме лабораторий ВНИРО (1987), на заседании кафедры Общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ (1987).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ.

Объем и структура работы. Работа изложена на 187 страницах машинописного текста, содержит 35 рисунков и 18 таблиц. Она состоит из введения, 3 глав, выводов и списка литературы, содержащего 226 названий научных работ (в том числе 154 отечественных и 72 иностранных).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе показана перспективность применения при биотестировании сточных вод и загрязняющих веществ, поступающих в мор-

скую и пресную среду, трех групп зоопланктонных беспозвоночных, включая представителей простейших, коловраток и низших ракообразных. При разработке методов биотестирования мы исходили из следующих основных требований, предъявляемых к ним: экспрессность, простота и возможность постановки опытов в любое время года, длительное культивирование тест-объектов в лабораторных условиях, отсутствие надобности в дорогостоящих реактивах и оборудовании, чувствительность тест-объектов к минимальным концентрациям токсических агентов.

К настоящему времени многие работы по биотестированию проводились на водорослях и рыбах, а среди зоопланктонных организмов использовали, в основном, пресноводных ветвистоусых рачков дафний и инфузорий парамеций. О токсикологии морского зоопланктона в литературе имеются отрывочные сведения. Поэтому мы поставили задачу исследовать морские зоопланктонные организмы для выяснения возможности их применения в качестве тест-объектов при биотестировании различных загрязняющих веществ.

Большое внимание в работе уделено одной из наиболее многочисленных групп морского зоопланктона - инфузориям. При выборе инфузорий в качестве тест-объектов мы исходили из экологической значимости данных организмов. Кроме того, изучены эвригалинные коловратка *Brachionus plicatilis* Miller и жаброногий рачок *Artemia salina* (L). Выбор их в качестве тест-объектов обусловлен тем, что эти организмы культивируются в качестве корма для ценных пород рыб в рыбоводных хозяйствах, и проведение токсикологических работ с этими объектами представляет определенный практический интерес.

Выполнено биотестирование отдельных загрязняющих веществ, сточных вод различных предприятий, природных вод в районе сброса стоков химического производства, а также грунтов, предназначенных к дампингу при проведении дноуглубительных работ.

Общее представление об исследованных тест-организмах и объеме экспериментальных работ можно получить из табл. Iа и Iб. Всего в экспериментах использовано 16 видов беспозвоночных разных систематических группы. Проведено 285 опытов с инфузориями, 130 - с артемиями, 80 - с коловраткой, 30 - с дафниями, 25 - с природным зоопланктоном. Каждый опыт включал от 2-х до 10-ти (для инфузорий) повторностей и проводился при 4-7 концентрациях исследуемого вещества.

Оценку токсического действия вещества определяли по следующим ответным реакциям организмов: выживаемости (LC_{50} , LC_{100}) - для всех используемых тест-объектов; изменению прироста численности инфузорий (EC_{50} , EC_{100}); нарушению фототаксиса коловраток (EC_{50} , EC_{100}). Длительность опытов составляла от 15 минут (фототаксис коловраток) до 72 часов (прирост численности инфузорий), при изучении адаптационных эффектов длительность опытов с инфузориями достигала 60 суток.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

I. Влияние факторов среды на токсикорезистентность тест-организмов

Температура. Увеличение токсического действия с возрастанием температуры от 8 до 30°C исследовано для инфузорий *Styloni-
chia mytilus* (Ehrbg) при действии трех веществ с различным уровнем токсичности: меди (мкг/л), диспергента "хорексид" (мг/л), собирателя нефти "СН-79" (г/л). Установлено, что бо-

Таблица I, а

Тест-организмы и варианты токсикологических исследований
(знаком + отмечены реализованные серии опытов)

Тест-организм	Токсиканты											
	Металлы				Пестициды			Диспергенты			ПХБ (Нафт)	НП
	Hg CH ₂	Hg	Cu	Cd	Pb	Хло-ро-фос!	ДТП-зон!	Фе-ЮМ-Брек-сил!	Кок-	Кок-		
Инфузории												
<i>Stylonichia mytilus</i> x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Euplotes harpae</i> x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Euplotes balteatus</i>			+	+								
<i>Euplotes trisulcatus</i>				+		+						
<i>Keronopsis mytilistilata</i>			+			+						
<i>Urostyle marina</i>			+			+						
<i>Frontonidae</i> (20 мкм)			+			+						
<i>Paramecium caudatum</i>				+								
Коловратки x												
<i>Brachionus plicatilis</i>			+	+	+	+	+					+
Низшие ракообразные												
<i>Artemia salina</i> x x	+	+	+	+	+	+	+					+
Природный зоопланктон:												
<i>Polychaeta</i> (личинки)								+	+		+	+
<i>Cerriredia</i> (науплии)								+	+		+	+
<i>Centropages Krøyeri pontica</i>								+	+		+	+
<i>Acartia clausi</i>								+	+		+	+

Таблица I, б

Тест-организмы	Токсиканты									
	СН-79	КМЦ	Бу-ро-вой шам	Технич. моющие средст-ва МЛ-6 МЛ-72	Сточные воды			При-род-ные во-ды	Грунты	для дам-пни-га
					Хим. пр-ва	Рыб-обр-ств	Гид-ро-тир-рыб			
Инфузории										
<i>Stylonichia mytilus</i> x				+	+	+		+	+	
<i>Euplotes harpae</i> x			+							+
<i>Euplotes balteatus</i>				+						+
<i>Paramecium caudatum</i>						+				
<i>Frontonidae</i>							+			
Коловратки										
<i>Brachionus plicatilis</i> x			+					+	+	
Низшие ракообразные										
<i>Artemia salina</i> (науплии на активном питании)								+	+	
<i>Daphnia magna</i>								+		+
<i>Cyclops sp.</i>								+		+

Примечание: x - исследованы по различным критериям токсичности;
xx - исследованы на разных стадиях онтогенеза;
ПХБ - полихлорированные бифенилы; НП - растворенные нефтепродукты;
СН-79 - собиратель нефти; КМЦ - карбоксиметилцеллюлоза (19 препаратов для бурения нефтяных скважин).

лее токсичное вещество в меньшей степени увеличивает токсичность при повышении температуры по сравнению с малотоксичным веществом. Для указанных веществ токсичность увеличивалась в 1,6; 5,3 и 60 раз соответственно. Выявленная зависимость согласуется с литературными данными (Брагинский, Щербань, 1978) по действию металлов (медь, кадмий) на некоторые виды водных беспозвоночных (дафнии, личинки поденок, водяной ослик). Вместе с тем снижение токсикорезистентности инфузорий с возрастанием температуры не столь значительно, как для других гидробионтов (низшие ракообразные и др.), что позволяет проводить токсикологические опыты с инфузориями без стабилизации температуры в комнатных условиях 18-24°C.

Соленость. В условиях стрессового воздействия повышенной солености (35 ‰) обнаружено значительное снижение устойчивости коловертки *Brachionus plicatilis* Müller, культивируемой при 17 ‰, к действию ионов высокотоксичных металлов - ртути и меди (соответственно в 100 и 4 раза), тогда, как в присутствии кадмия, не обладающего острой токсичностью, снижения устойчивости не наблюдалось.

Исследование влияния различной солености без добавления токсиканта на солоноватоводную инфузорию *Stylonichia mytilus* Ehrbg (культивирована при 3 ‰) показало, что повышенная соленость оказывает наименьшее угнетающее действие (по показателю снижения темпа деления) на инфузорий, вышедших из цист при этой же повышенной солености, по сравнению с инфузориями из исходной культуры, при солености 3 ‰. Верхняя граница солености для инфузорий (13 ‰) была определена при их выходе из цист, а не ступенчатым увеличением солености в культуре

инфузорий. Наши результаты показывают, что солоноватоводную инфузорию *S. mytilus* можно адаптировать к существованию и соответственно проводить с ней токсикологические опыты в достаточно широком диапазоне солености от 0 до 13 ‰.

Корм. Реакцию инфузорий на действие ионов меди исследовали в зависимости от присутствия или отсутствия в опытной среде сенного отвара, служащего в качестве дополнительного источника питания. В опытах на инфузориях, культивируемых ранее на сенном отваре, величины LC_{50} (24 час.) в присутствии и отсутствии отвара отличались в 3,3 раза. Результаты аналогичного опыта с инфузориями, адаптированными в течение месяца к отсутствию сенного отвара, показали, что величины LC_{50} в том и другом случае отличались незначительно - в 1,2 раза. Следовательно, условия культивирования инфузорий могут быть упрощены и в качестве корма достаточно использовать высушенные пекарские дрожжи без дополнительного введения растворенной органики (сенного отвара).

Состояние культуры. Исследования по действию меди на культуру солоноватоводной инфузории *S. mytilus*, находящуюся в различных фазах развития, показали, что устойчивость инфузорий из старой культуры ($LC_{50} = 0,65 \pm 0,12$ мг/л) в 1,4 раза выше, чем у инфузорий из культуры, находящейся в логарифмической фазе роста ($LC_{50} = 0,45 \pm 0,07$ мг/л). Инфузории из культуры в лог-фазе морфологически (по размеру) и физиологически (по темпу деления) однородны. Следовательно, в токсикологических опытах необходимо использовать культуру инфузорий в логарифмической фазе роста.

Плотность культуры. Определяли действие высоких (0,85 мг/л) и низких (0,003 мг/л) концентраций меди на инфузорий *S. mytilus*

и *Paramecium caudatum* Ehrbg при различной плотности посадки 3, 10, 20 кл/мл. Выявлено, что при высоких концентрациях меди с возрастанием плотности посадки гибель инфузорий *S. multilue* снижалась и через 48 ч. опыта их численность соответственно составляла 25, 55 и 90 % от исходного количества. При низких концентрациях меди с увеличением плотности посадки происходило снижение прироста численности инфузорий *P. caudatum*. Та же зависимость наблюдалась и при отсутствии токсиканта. Следовательно, при постановке токсикологических опытов как по показателю выживаемости инфузорий, так и по нарушению прироста их численности плотность посадки организмов должна быть строго стандартизирована. В наших опытах (72 ч.) в качестве оптимальной была определена плотность посадки 5 кл/мл (по две инфузории в микроаквариуме емкостью 0,4 мл).

Освещенность. Опыты длительностью 72 часа по определению скорости роста культуры инфузорий в темноте и на свету показали, что в краткосрочных экспериментах фактор освещенности не оказывает влияния на темп деления инфузорий из культуры, находящейся в экспоненциальной фазе роста. Опыты можно проводить как в темноте, так и при искусственном люминесцентном освещении или рассеянном естественном. При постановке аналогичных опытов со стареющей культурой было выявлено, что численность клеток на свету в 1,5 раза больше, чем в темноте. Стабильность культуры, находящейся в экспоненциальной фазе развития, по отношению к фактору освещенности послужила одной из причин для рекомендации ее использования в биотестировании.

2. Сравнительная токсикологическая характеристика тест-объектов

Инфузории. Из прибрежных вод Черного моря нами были выделены 4 вида инфузорий, существенно отличающихся по своим размерам: *Keronopsis multistilata* Kahl - 350 мкм, *Urostila marina* Kahl - 100 мкм, *Euplotes trisulcatus* Kahl - 50 мкм, равносезоничные инфузории из семейства Frontonidae - 20 мкм. При действии меди и хлорофоса выявлена гиперболическая зависимость резистентности инфузорий от их размера - чем меньше размер клеток, тем выше их устойчивость к токсическому воздействию. Более высокая токсикорезистентность мелких форм инфузорий связана, по всей вероятности, с более высокой скоростью их размножения и в связи с этим с большей адаптационной способностью.

Анализ результатов по действию тяжелых металлов и хлороорганических соединений на выживаемость инфузорий показал их незначительную устойчивость к первым и высокую устойчивость ко вторым. При изучении токсического действия веществ, не вызывающих гибели инфузорий (растворенные нефтепродукты, полихлорбифенилы, ДДТ), мы использовали более чувствительную тест-функцию - нарушение темпа деления инфузорий, которое проявлялось в изменении прироста их численности в % от контроля. Прирост численности инфузорий (ΔN) определяли по формуле: $\Delta N = N_t - N_0$ (где N_t и N_0 - численность клеток в конце и начале опыта). Использование данного показателя токсичности при тестировании таких металлов как медь и кадмий показало, что значительное снижение прироста численности морских инфузорий *Euplotes balteatus* Dujardin (на 70 - 80 %) происходит при концентрациях меди 0,0001 и кадмия 0,001 мг/л на третьи сутки опыта. Эти

концентрации оказались ниже утвержденных ПДК для морской воды (0,005 мг/л). Чувствительность инфузорий к действию меди и кадмия по критерию нарушения темпа деления клеток превосходит их чувствительность по выживаемости на три-четыре порядка. Критерий нарушения темпа деления инфузорий (прирост численности клеток) можно использовать для биотестирования широкого класса загрязняющих веществ.

Артемии. Биотестирование проводили на основных этапах развития рачка, включая выход науплиев из яиц, науплии после выхода из яиц (эндогенное питание), науплии в возрасте одной недели (активное питание), половозрелые самки. Результаты биотестирования показали, что по критерию выживаемости стадия выхода науплиев из яиц наименее устойчива к действию хорошо растворимых солей металлов и абсолютно устойчива к действию органических соединений. Науплии на эндогенном питании устойчивы к действию как солей металлов, так и органических соединений, а науплии на активном питании обладают средней устойчивостью к действию этих веществ, тогда как половозрелые особи устойчивы к действию тяжелых металлов и проявляют низкую устойчивость к действию органических соединений. Следовательно, для биотестирования стоков, содержащих хорошо растворимые соли металлов, целесообразно использовать стадию выхода науплиев из яиц; для стоков, содержащих пестицидные препараты - половозрелые особи и для стоков сложного или неопределенного состава - науплии в возрасте одной недели.

Коловратки. Устойчивость коловраток (по выживаемости) к действию ряда солей тяжелых металлов (ртуть, медь, свинец) соответствует уровню устойчивости инфузорий. По сравнению со все-

ми исследованными тест-объектами (за исключением половозрелых самок артемий), коловратки обладают также низкой устойчивостью и к действию хлорорганических соединений. Однако в отличие от всех исследованных организмов (инфузории, артемии) коловратка *Brachionus plicatilis* Müller обладает ярко выраженным фототаксисом, сохраняющимся в течение всей жизни. Исследование фототаксической реакции позволило выявить в тест-культуре коловраток три клона с одинаковой численностью организмов в каждом, но с различной положительной фототаксической активностью: высокой, средней и очень низкой. Коловратки клона с высокой фототаксической активностью обладают наибольшей устойчивостью как к фактору голодания, так и к токсическому воздействию. Снижение фототаксиса коловраток при токсическом воздействии наступает в первую очередь у клона со средней фототаксической активностью. В токсикологических исследованиях показатель нарушения фототаксиса коловраток чувствительнее показателя выживаемости. При действии остротоксичных металлов (ртуть, медь) нарушение фототаксиса и гибель организмов наблюдаются при близких концентрациях. При действии органических веществ, не обладающих острой токсичностью, нарушение фототаксиса отмечено при концентрациях, значительно ниже тех, которые вызывают гибель организмов. Длительность опытов при этом, в зависимости от характера действия вещества, должна составлять от 15 минут до 24 часов. Выше 24 часов проявляется колебательный характер фототаксической реакции коловраток. Коловратку *B.plicatilis* можно использовать по критерию выживаемости при биотестировании металлосодержащих стоков и по критерию нарушения фототаксиса при биотестировании малотоксичных веществ.

3. Сравнительная токсикологическая характеристика загрязняющих веществ

В общем виде ряд последовательного снижения токсических свойств металлов для исследованных организмов (инфузории, коловратки, артемии) имеет следующий вид (в скобках дан диапазон значений $L_{C_{50}}$, 48 ч. в мг/л): ртуть (0,025 - 0,06), медь (0,28 - 1,0), кадмий (2,8 - 130), свинец (5,0 - 150), что соответствует общему ходу изменения электроотрицательности этих металлов и способности к комплексообразованию с белковыми группами.

В соответствии с результатами действия (по критерию выживаемости) органических компонентов химического загрязнения на исследованные группы организмов-фильтраторов (коловратки и науплии артемии на стадии активного питания) можно составить соответствующий ряд снижения токсических свойств органических веществ: ПХБ, ДДТ, растворенные нефтепродукты, хлорофос.

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Биотестирование веществ и препаратов в связи с нефтяным загрязнением. Биотестирование донных грунтов Каспийского моря из районов бурения нефтяных скважин выявило идентичность характера ответных реакций планктобентосных инфузорий *Euplotes balteatus* Du Jardin, что, вероятно, отражает специфику загрязнения грунтов буровыми шламами.

Исследованные препараты различного состава и назначения, которые используются в практике бурения нефтяных скважин и для ликвидации нефтяных разливов в море, существенно различаются по своей токсичности. Для диспергентов наблюдается усиление их токсичности в присутствии нефти, что следует учитывать при оценке биологических последствий их применения для борьбы с разливами

нефти. По снижению устойчивости к растворенным нефтепродуктам природные зоопланктонные организмы можно расположить в ряд: личинки полихет - Tintinidae - Copepoda. Одновременное действие нефти и диспергентов (ОМ-6, корексид) приводило к полной гибели личинок полихет и науплиев Copepoda, наиболее устойчивыми оказались науплии Cirripedia. Лабораторная культура инфузорий оказалась более устойчивой к указанным токсикантам.

Результаты биотестирования буровых шламов, препаратов карбоксиметилцеллюлозы, собирателя нефти "СН-79" и ПАВ позволили оценить сравнительную токсичность этих веществ и дать рекомендации по выбору наиболее безопасных из них в экологическом плане.

Биотестирование сточных вод химического производства. Биотестирование цеховых стоков, а также входящих в их состав компонентов, показало, что их действие различно, как по уровню, так и по характеру их токсичности для каждого тест-объекта (инфузории, дафнии). Это еще раз подтверждает положение о том, что для биотестирования необходимо использовать организмы различных систематических и экологических групп. Токсичность сточных вод, отобранных в различное время, существенно меняется. При этом также меняется характер колебания токсичности стоков на разных этапах очистки, что, вероятно, говорит о существенном различии химического состава стоков во времени. Биологическая очистка сточных вод приводит к незначительному снижению уровня их токсичности (выживаемость тест-организмов увеличивается на 10-20%), при этом все гидрохимические показатели приводятся в норму. Сточные воды в некоторые периоды их сброса могут оказывать угнетающее действие на представителей активного или очистных сооружений.

Разбавление сточных вод производства при их сбросе в реку происходит неравномерно. Наблюдаются загрязненные струйные зоны, сохраняющиеся вниз по течению реки на длительном расстоянии (выше 650 м).

Биотестирование в рыбообработывающей отрасли. Биотестирование сточных вод двух рыбообработывающих предприятий с различными типами очистки и сопутствующих вод от судовой гидротранспортировки только показало следующее. Сточные воды оказывают различное действие на разные группы зоопланктонных организмов. На низкоорганизованные формы - мелкие виды инфузорий (до 20 мкм) стоки оказывают стимулирующее действие, которое прямо-пропорционально концентрации стоков. На более высокоорганизованные формы - коловратки, низшие ракообразные (науплии артемий), стоки оказывают угнетающее действие с заметным возрастанием токсичности в низких концентрациях (инверсия токсичности). Химическая очистка стоков с использованием извести и хлорного железа, улучшая многие гидрохимические показатели стоков, приводит к увеличению их токсичности. Наименее токсичны стоки рыбообработывающего предприятия, использующего флотационный способ очистки. Для экспрессного определения токсичности сточных вод рыбной промышленности перспективно использовать коловраток по критерию нарушения фототаксиса. Сточные воды предприятия даже с наиболее удовлетворительной очисткой (флотационной) вызывают нарушение фототаксиса коловраток в течение 24 ч.

Биотестирование сточных вод йодобромных производств. Исследованные стоки йодобромного и бромного заводов характеризовались высокой степенью минерализации (соленость 210 и 260 ‰) и низкой величиной pH (1,8 и 2,3). При биотестировании сточных вод

Йодобромного завода с использованием брехоресничных инфузорий *Stylonichia mytilus* Ehrbg и *Euploetes harpae* Stein (по темпу деления), а также науплиев артемий (по выживаемости) было показано на недопустимость сброса кислых стоков. Наиболее чувствительной среди исследованных тест-организмов оказалась *S. mytilus*, для которой безопасный уровень разбавления стоков составил I: 1000 раз ($EC_{0,48}$ ч. = 0,1 %). В низких концентрациях стока, при которых факторы pH и солености не оказывали действия, нейтральные стоки были токсичней кислых. Повышенная токсичность нейтрализованных стоков обусловлена наличием взвешенных частиц технической гашеной извести. Перед сбросом нейтрализованных стоков в море их необходимо подвергать механической очистке в отстойниках.

Биотестирование сточных вод бромного завода проводили в три этапа с пробами, отобранными в разное время.

На первом этапе была проведена сравнительная токсикологическая оценка сточных вод двух основных цехов предприятия, вод из отстойника-накопителя и природных морских вод в зоне сброса сточных вод предприятия. Результаты биотестирования показали, что токсичность сточных вод обусловлена в основном высокой соленостью стоков. Пробы морской воды, отобранные в I км от места сброса стоков, считая по береговой линии (расстояние от берега составляло 200 м), не оказывали токсического действия.

На втором этапе оценивали токсичность различных вариантов смешения сточных вод отстойника-накопителя со сточными водами основных цехов производства. Результаты биотестирования показали, что разбавление сточных вод из отстойника-накопителя (113 ‰) нейтрализованными водами цеха № I в 10 раз и более приводит к

уровню, не вызывающему каких-либо нарушений у инфузорий *Euplotes balteatus* Dujardin в течение 48 ч. Разбавление в различных сочетаниях стоков производства в 100 раз морской водой приводит к снижению токсичности стоков до безопасного для жизнедеятельности инфузорий уровня.

На третьем этапе определяли токсичность сточных вод производства из отстойника-накопителя в смеси с пресными водами, поступающими с рисовых чеков. В результате биотестирования необходимо было выявить наименее токсичные сочетания этих вод для определения возможности их сброса в Черное море. Показатель токсичности - нарушение темпа деления морских инфузорий *Euplotes* sp. за 6 суток. Результаты биотестирования показали следующее. Сточные воды бромного производства и пресные сточные воды с рисовых чеков оказались токсичными в диапазоне всех испытанных концентраций от 0,1 до 100 %, при этом первые стоки были менее токсичны, чем вторые. Однако при смешении этих стоков их токсичность значительно снижалась. Оптимальное соотношение смешения стоков производства с пресными водами рисовых чеков при их сбросе в Черное море составляет 1 : 5, при этом разбавление стоков морской водой в месте сброса должно составлять не менее 10 раз.

Биотестирование донных грунтов, предназначенных к дампингу.

Биотестирование грунтов, предназначенных к сбросу в море (дампингу), проводилось по заданию ГИИТ, разработанному в соответствии с Международной конвенцией по предотвращению загрязнения морей сбросами отходов и другими материалами (1972 г.).

Исследовано 64 пробы грунта из районов дноуглубительных работ, которые проводились в прибрежных акваториях наших внутренних и окраинных морей. В качестве проб сравнения (фоновых проб) для

биотестирования были отобраны грунты из близлежащих к дноуглубительным работам районов. Среди исследованных нами зоопланктонных тест-организмов для биотестирования была выбрана планктобентосная инфузория *Euplotes balteatus* Dujardin по показателю изменения прироста численности клеток в % от контроля (морская вода). Для выявления кумуляции загрязнения проводили исследование фильтрованных и нефилтрованных водных растворов грунтов. Результаты исследований позволили выявить несколько основных типов ответных реакций планктобентосных инфузорий, характеризующих степень и характер загрязнения грунтов:

1) Прирост численности организмов для фильтрованных и нефилтрованных растворов грунтов дампинга был приблизительно на уровне фоновых проб, а отклонение от контроля составляло ± 30 %. Такие грунты можно отнести к условно чистым. Их сброс в море, вероятно, не окажет токсического действия на гидробионтов.

2) Прирост численности инфузорий для фильтрованных и нефилтрованных растворов грунтов дампинга был выше, чем у фоновых и значительно превышал контроль (на 300 %), что показывало на высокое содержание растворенных и взвешенных органических веществ. Сброс в море указанных грунтов может вызвать заморные явления в бентосных сообществах.

3) Нефильтрованные растворы грунтов вызвали полную или частичную гибель инфузорий. Токсичность фильтрованных растворов этих проб была значительно ниже, что указывало на высокую кумуляцию загрязняющих веществ взвесью. Данные грунты можно отнести к высокотоксичным. Их сброс необходимо производить вблизи районов дноуглубительных работ, характеризующихся высокой степенью загрязнения.

Биотестирование грунтов прибрежной зоны показало на почти повсеместное их загрязнение. Часто пробы, отобранные как фоновые, оказывались гораздо токсичнее проб на свалках грунта. С удалением от берега моря токсичность фоновых проб значительно снижалась.

ВЫВОДЫ

1. Проведено токсикологическое исследование представителей зоопланктона - инфузорий, колеровок, низших ракообразных (артемии) с целью выявления наименее устойчивых организмов и наиболее чувствительных тест-функций к различным видам токсического воздействия.

Показана перспективность использования определенных тест-организмов для биотестирования различных групп токсикантов и типов стоков, а также загрязненных природных вод и грунтов.

2. Определены основные требования к условиям постановки токсикологических экспериментов с инфузориями (состояние культуры, плотность посадки, наличие корма, температура, соленость, освещенность).

3. Выявлена закономерная обратная связь между видовым размером морских инфузорий и их токсикорезистентностью.

4. Показано, что инфузории могут адаптироваться к высоким уровням содержания металлов в среде (свинец - 5,0; кадмий - 1,0 мг/л), однако при этом происходит нарушение основной защитной реакции к неблагоприятным факторам среды - цистообразование.

5. Выявлена различная устойчивость отдельных стадий развития артемии к токсикантам.

6. Показано, что кратковременное воздействие высоких концентраций различных токсических веществ (ДДТ, метил-ртуть) приводит к абортному вымету яиц у артемии. Половозрелые самки, выращенные из этих яиц в чистой среде, гибнут, не оставляя потомства.

7. Выявлена зависимость снижения устойчивости водных беспозвоночных с возрастанием температуры от 10 до 30°C при действии веществ различной природы и уровня токсичности. Показано, что более токсичное вещество в меньшей степени увеличивает токсичность по сравнению с малотоксичным веществом при повышении температуры.

8. Разработан и подтвержден авторским свидетельством способ определения токсичности водной среды, основанный на регистрации изменения одной из основных поведенческих реакций зоопланктонных организмов - фототаксиса. Выявлено, что чем менее токсично вещество, тем раньше и при более низких концентрациях проявляется нарушение фототаксиса по сравнению с гибелью организмов.

9. Биотестирование сточных вод химического производства позволило выявить наиболее токсичные компоненты стоков, низкую эффективность биологической очистки этих стоков, определить струйность распределения сточных вод при сбросе их в реку.

10. Токсичность стоков рыбообработывающих предприятий во многом зависит от содержания в них жира. Химическая очистка стоков, улучшая многие гидрохимические показатели, приводит к возрастанию токсичности стоков.

II. Биотестирование грунтов, предназначенных к дампингу, из прибрежной морской зоны показало на почти повсеместное их загрязнение (в различной степени) по показателям токсичности.

12. Разработанные нами методы биотестирования по регистрации прироста численности (темп роста) инфузорий и по изменению фототаксиса коловраток признаны перспективными для оценки уровня загрязнения природных вод Временной научно-технической комиссией по биотестированию при ГКНТ от 06.04.1983 г.

РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Различные виды инфузорий (оптимальный размер от 100 до 300 мкм) целесообразно использовать для биотестирования широкого класса загрязняющих веществ по критерию нарушения прироста численности клеток (темп деления инфузорий), который на три-четыре порядка величин превосходит по чувствительности критерий выживаемости. Длительность опытов должна составлять 3-е суток.

2. Показатель нарушения фототаксиса коловраток *Bosmina plicatilis Müller* целесообразно использовать для биотестирования веществ, не обладающих острой токсичностью. Длительность опытов в зависимости от характера действия вещества должна составлять от 15 минут до 24 часов.

3. Лабриногого рачка *Artemia salina L.* на различных стадиях развития целесообразно использовать для биотестирования следующих видов токсикантов: хорошо растворимые соли металлов - стадия выхода науплиев из яиц; пестициды - половозрелые особи; токсиканты неопределенного состава - науплии в возрасте одной недели.

4. По результатам биотестирования ряда препаратов даны рекомендации к промышленному использованию наиболее безопасных в экологическом плане веществ в каждой группе: 1. карбоксиметилцеллюлоза - СМС МР, СМС Gellogen 7a, СМС Gellogen КМЛ; 2. поверхностно-активные вещества - препарат "МД-6"; 3. собира-

тель нефти - "СН-79".

5. Токсичность сточных вод бромного производства высокой солености снижается путем их смешения с пресными водами рисовых чеков, при этом токсичность смеси становится значительно ниже, чем токсичность каждого стока в отдельности. Наименее токсичное сочетание стоков в смеси для их сброса в Черное море составляет 1:5.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гроздов А.О., Соколова С.А. Простейшие как тест-объекты в прикладных токсикологических исследованиях. // Биотестирование природных и сточных вод.: Сборник научных трудов ВНИРО. - М., 1981. - С.30-36.

2. Гроздов А.О., Патин С.А., Соколова С.А. Биотестирование токсичности природных и сточных вод с помощью культуры простейших. // Гидробиологический журнал - 1981. - т.17, № 4. - С.69-74.

3. Гроздов А.О., Переладов М.В., Старцева А.И. Биотестирование поверхностно-активных веществ. // Биотестирование природных и сточных вод.: Сборник научных трудов ВНИРО. - М., 1981. - С.64-69.

4. Цылев О.П., Гроздов А.О., Патин С.А. Описание изобретения к авторскому свидетельству № 933699. Способ определения токсичности водной среды. - Бюллетень Гос.ком. СССР по делам изобретений и открытий № 21 от 07.06.82.

5. Гроздов А.О., Соколова С.А. Оценка степени загрязнения морской среды с помощью биотестирования. // Экологические аспекты химического и радиоактивного загрязнения водной среды.: Сборник научных трудов ВНИРО. - М., 1983. - С.97-103.

6. Гроздов А.О. Использование критерия нарушения фототаксиса беспозвоночных в практике биотестирования сточных вод и загрязняющих веществ.// Обобщенные показатели качества вод-83. Практические вопросы биотестирования и биоиндикации.:Тезисы докладов на Всесоюзном симпозиуме, Черноголовка, февраль 1983г.- Черноголовка, 1983. - С.41-42.

7. Гроздов А.О., Соколова С.А. Исследование влияния различных факторов среды на инфузорий в токсикологических экспериментах.// Биогеохимические и токсикологические исследования загрязнения водоемов.: Сборник научных трудов ВНИРО.-М., 1984.- С.52-67.

8. Айвазова Л.Е., Гроздов А.О. Биотестирование сточных вод рыбообработывающих предприятий.// Биогеохимические и токсикологические исследования загрязнения водоемов.: Сборник научных трудов ВНИРО.- М., 1984. - С.47-52.

9. Соколова С.А., Гроздов А.О. Эколого-токсикологическое исследование морских беспозвоночных.// Проблемы химического загрязнения вод Мирового океана, т.5. - Л.: Гидрометеиздат, 1985. - С.54-65.

10. Гроздов А.О. Фототаксис как тест-функция при биотестировании.// Гидробиологический журнал. - 1986. - № 3. - С.68-71.

Гроздов

Л - 55997

Формат 60x84 I/16

Заказ № 232

Объем I уч.-изд.л.

Подписано к печати 29.05.87.

Тираж 100экз.

Ротапринт ВНИРО

107140, Москва, Верхняя Красносельская, 17.