

**Литература**

1. Киреева Н.А., Водопоьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязнённых почв. Уфа: Гилем, 2001. 376 с.

2. Кабиров Р.Р., Киреева Н.А., Кабиров Т.Р. Принципы составления модельных тест-систем для оценки качества окружающей среды // Актуальные проблемы регионального экологического мониторинга: научный и образовательный аспекты: Мат-лы Всеросс. научной школы, Киров, 2006. – С. 173-174.

3. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.

4. Штина Э.А. Почвенные водоросли как компонент биогеоценоза // Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза. М.: Наука, 1984. С. 66-81.

5. Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Дабах Е.В., Кантор Г.Я., Калинин А.А., Вараксина А.И., Огородникова С.Ю. Эколого-аналитический

мониторинг антропогенно-нарушенных почв // Вестник ВятГГУ. 2006. №14. С. 153-169

6. Кузяхметов Г.Г., Дубовик И.Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. Уфа: Изд-во БашГУ, 2001. 56 с.

7. Кабиров Р.Р. Альготестирование и альгоиндикация (методические аспекты, практическое использование). Уфа: БашПИ, 1985. 112 с.

8. Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и исследование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. 1997. №6. С. 408-411.

9. Бабьева И.П., Зенова Г.М., Биология почв М.: МГУ, 1989. 336 с.

10. Ханисламова Г.М. Использование коллембол для лабораторной оценки токсичности загрязняющих почву соединений // Проблемы охраны окружающей среды на Урале. Межвуз. сб. научн. трудов. Уфа, 1995. С. 152-157.

УДК 577.4+576.809

## **Чувствительность к арсениту натрия тест-организмов, используемых в многокомпонентной системе биотестирования качества природных сред**

**В.Н. Чупис, Е.А. Луцкай, И.Н. Ларин, А.А. Загреков, Е.В. Ильина, Д.Е. Иванов**  
ФГУ Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии

Приведены результаты оценки влияния арсенита натрия в растворах различных концентраций на интенсивность биолуминесценции бактерий, смертность дафний и цериодафний, хемотаксическую реакцию инфузорий, двигательную активность дафний, рост хлореллы и флюоресценцию хлорофилла водоросли сценедесмус. Наибольшая чувствительность к арсениту натрия отмечена у дафний и цериодафний. Сделан вывод о целесообразности использования низших ракообразных при проведении экологического мониторинга предприятий по переработке арсенита натрия.

The results of an estimation of influence of natrium arsenite in solutions of various concentration on intensity of bioluminocity of bacteria, mortality of daphnia and ceriodaphnia, chemotaxic reaction of infusoria, impellent activity of daphnia, growth of chlorella and scenedesmus alga chlorophyll fluorescence are given. The greatest sensitivity to natrium arsenite is found for daphnia and ceriodaphnia. The conclusion about expediency of use lowest crayfishes in ecological monitoring of the enterprises on natrium arsenite processing is made.

**Введение**

Арсенит натрия образуется в процессе уничтожения боевого отравляющего вещества люизита на специальных заводах по уничтожению химического оружия (Белов и др., 2006). Для проведения эффективного биомониторинга зоны влияния опасных химических предприятий, занимающихся переработкой солей мышьяка, принципиальное значение имеет выбор тест-объек-

тов, имеющих выраженные реакции на эти вещества.

В настоящее время для проведения экотоксикологического анализа природных сред применяется система биотестов, как правило, включающая тест-организмы различных систематических групп (Кабиров и др., 1997). Достоверность оценки обеспечивается первоочередным использованием методик биотестирования, допущенных для целей государственного экологического контроля.

В связи с этим целью настоящей работы являлся поиск наиболее чувствительных к арсениту натрия тест-организмов.

Для этого нами проведено сравнительное исследование влияния растворов различных концентраций арсенита натрия на интенсивность биолюминесценции бактерий, смертность дафний и цериодафний, хемотаксическую реакцию инфузорий, двигательную активность дафний, рост хлореллы и флюоресценцию хлорофилла водоросли сценедесмус.

### **Объекты и методы исследования**

Изменение интенсивности биолюминесценции бактерий (*Escherichia coli M-17*) при воздействии различных концентраций арсенита натрия оценивали с помощью аттестованной методики (Методика., 2004). Острое токсическое действие растворов на бактерии определялось по гашению их биолюминесценции за 30-минутный период экспозиции.

Определение токсичности исследуемых растворов по реакции инфузорий оценивали по аттестованной методике (Методика., 2004). Инфузории (*Paramecium caudatum*) способны реагировать на присутствие в исследуемой среде веществ, представляющих опасность для их жизнедеятельности, и направленно перемещаться по градиенту концентраций (в направлении изменения концентраций) этих веществ (хемотаксическая реакция), избегая их вредного воздействия. Критерием токсического действия является значимое различие в числе клеток инфузорий, наблюдаемых в верхней зоне кюветы в пробе, не содержащей токсических веществ (контроль), по сравнению с этим показателем, наблюдаемым в исследуемой пробе (опыт).

Влияние растворов различных концентраций арсенита натрия на рост водоросли хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijer) изучали с помощью методики Ю.С. Григорьева (2004). Методика основана на регистрации различий в оптической плотности тест-культуры водоросли хлорелла, выращенной на среде, не содержащей токсических веществ (контроль), и тестируемых проб, в которых эти вещества присутствуют. Критерием токсичности воды являлось снижение на 20% (подавление роста) или увеличение на 30% (стимуляция роста) величины оптической плотности культуры водоросли, выращиваемой в течение 22 часов на тестируемом растворе, по сравнению с ее ростом на контрольной среде, приготовленной на дистиллированной воде.

Оценку изменений уровня флюоресценции хлорофилла клеток водорослей сценедесмус

(*Scenedesmus quadricauda* Breb.) под воздействием токсиканта осуществляли по методике Н.С. Жмур и Т.Л. Орловой (2001). Критерием токсичности являлось подавление уровня флюоресценции на 50% и более или стимуляция на 30% и более по сравнению с контролем в течение 96-часовой экспозиции.

Влияние растворов на смертность дафний (*Daphnia magna straus*) и цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*) исследовали с помощью методик Н.С. Жмур (2001 а, б), позволяющих достоверно определить степень токсичности среды. Острое токсическое действие исследуемого раствора на дафний и цериодафний определяли по их смертности (летальности) за определенный период экспозиции. Критерием острой токсичности являлась гибель 50% и более тест-объектов за 96 часов в исследуемом растворе при условии, что в контрольном эксперименте их гибель не превышала 10%.

Влияние растворов на спонтанную двигательную активность дафний (*Daphnia magna straus*) оценивали следующим образом: в стаканы с культивационной водой (контроль) и тестируемыми растворами (опыт) помещали по 6 особей. Через 3, 6 и 24 часа каждую дафнию помещали в центр чашки Петри (дно расчерчено на квадраты 1 см<sup>2</sup>) и регистрировали число пересеченных квадратов за каждую минуту опыта в течение трех минут. Степень изменения активности оценивали по среднему количеству пересеченных дафниями квадратов. Статистическую обработку полученных с помощью этой методики результатов проводили по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1973).

### **Результаты исследований**

Установлено, что концентрации арсенита натрия 0,1 и 0,05 г/л являются сильно токсичными и значительно ингибируют интенсивность биолюминесценции бактерий (индексы токсичности, соответственно, T1=93 и T2=90). Растворы с концентрациями 0,01 и 0,005 г/л не влияли на интенсивность биолюминесценции, следовательно, не оказывали острого токсического действия (табл. 1).

Достоверное влияние арсенита натрия на рост хлореллы было отмечено (табл. 2) при концентрациях раствора 0,1 г/л (среднетоксично) и 0,2 г/л (гиперттоксично).

Химические токсиканты могут оказывать влияние на животных и растения не только в больших дозах, но и в сверхмалых. Так, например, обнаружено токсическое влияние на

Таблица 1

Влияние различных концентраций арсенита натрия на интенсивность биолюминесценции бактерий (*Escherichia coli M-17*)

Концентрация арсенита натрия, г/л	Значение индекса токсичности, T	Степень токсичности
0,1	93,00±4,04	Сильная токсичность
0,05	90,00±6,50	Сильная токсичность
0,01	0	Не токсично
0,005	0	Не токсично

Таблица 2

Оценка токсичности различных концентраций арсенита натрия по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*)

Концентрация арсенита натрия, г/л	Величина разбавления исходного раствора, %	Результат анализа (оптическая плотность)	Процентное отклонение от контроля	Степень токсичности
0,2	100	0,195±0,004	-45,5	Гипертоксично
	33	0,258±0,009	-92,5	
	11	0,214±0,004	-59,7	
	3,7	0,188±0,010	-40,3	
	1,2	0,175±0,006	-30,6	
0,1	100	0,490±0,008	-226,8	Среднетоксично
	33	0,296±0,008	-37,0	
	11	0,260±0,008	-20,4	
	3,7	0,227±0,006	-5,1	
	1,2	0,231±0,002	-6,9	
0,01	100	0,192±0,010	-2,7	Не токсично
	33	0,195±0,007	-4,3	
	11	0,197±0,008	-5,3	
	3,7	0,197±0,003	-5,3	
	1,2	0,196±0,002	-4,8	
6·10 <sup>-6</sup>	100	0,258±0,017	-24	Не токсично
6·10 <sup>-9</sup>	100	0,226±0,017	-9	Не токсично
6·10 <sup>-12</sup>	100	0,248±0,009	-20	Не токсично
6·10 <sup>-15</sup>	100	0,237±0,002	-14	Не токсично
6·10 <sup>-18</sup>	100	0,231±0,001	-11	Не токсично

дафний сверхмалых концентраций инсектицидов (Ратушняк и др., 2000). Поэтому представляет также интерес изучение биологических эффектов сверхмалых доз. Однако изученные нами малые и сверхмалые концентрации арсенита натрия не оказывали существенного влияния на рост водоросли хлореллы и хемотаксическую реакцию инфузорий.

Одноклеточная водоросль сценедесмус также показала невысокую чувствительность к арсениту натрия. При измерении флюоресценции хлорофилла водорослей стимуляция, пре-

вышающая контроль на 36,1% и 41,6%, отмечалась для растворов с концентрациями 0,2 и 0,06 г/л, что говорит об их токсичности (>30%). Растворы с концентрациями 0,02-0,006 г/л не оказывали существенного влияния на интенсивность флюоресценции хлорофилла (табл. 3).

В экспериментах по установлению острого токсического действия арсенита натрия на цериодафнии была установлена высокая (80% и 90%) летальность тест-объектов при концентрациях раствора арсенита натрия 0,006 и 0,007 г/л соответственно (табл. 4).

**Таблица 3**

Влияние растворов арсенита натрия на интенсивность флюоресценции хлорофилла водорослей *Scenedesmus quadricauda* (через 96 час. от начала биотестирования)

Концентрация арсенита натрия, г/л	Среднее значение по повторностям, у. е.	Отклонение от контроля, %	Оказывает (не оказывает) острое токсическое действие
Контроль	295,5±21,0	—	—
0,2	402,3±28,2	36,14	Оказывает
0,06	418,5±29,3	41,6	Оказывает
0,02	300,7±21,0	1,7	Не оказывает
0,007	296,5±20,8	1,0	Не оказывает
0,006	272,4±19,1	7,8	Не оказывает

Нетоксичной была концентрация 0,005 г/л (смертность не превысила 10%).

При определении острого токсического действия на дафниях в концентрациях 0,1 г/л и 0,01 г/л гибель составила 100%. Концентрация 0,005 г/л обусловила гибель 40%, 0,003 г/л – гибель 26%, 0,0025 г/л – гибель 23% особей (табл. 5). Достоверное снижение двигательной активности дафний наблюдалось под влиянием растворов арсенита натрия с концентрациями 0,2; 0,02; 0,006 г/л (табл. 6).

Данные о влиянии различных концентраций арсенита натрия на хемотаксическую реакцию инфузорий представлены в таблице 7. Высокая степень токсичности обнаружена у раствора с концентрацией 0,2 г/л. Остальные растворы являлись умеренно токсичными.

Проведённые исследования позволяют сделать вывод о том, что водоросли, инфузории и бактерии менее чувствительны к арсениту натрия, чем дафнии и цериодафнии. Следовательно для проведения биомониторинга зоны

**Таблица 4**

Оценка токсичности различных концентраций арсенита натрия по смертности цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*)

Концентрация, (г/л)	Кол-во выживших особей, шт.	Гибель особей, %	Оказывает (не оказывает) острое токсическое действие	ЛКР <sub>50-48</sub>	БКР <sub>10-48</sub>
0,05	0	100	Оказывает	0,0058	0,0050
0,01	0	100	Оказывает		
0,005	9±0,72	10	Не оказывает		
0,003	10±0,8	0	Не оказывает		
0,0025	10±0,8	0	Не оказывает		

**Таблица 5**

Оценка токсичности различных концентраций арсенита натрия по смертности дафний (*Daphnia magna straus*).

Концентрация арсенита натрия, г/л	Количество выживших дафний	Смертность (%)	Оказывает (не оказывает) острое токсическое действие	ЛКР <sub>50-96</sub>	БКР <sub>10-96</sub>
0,1	0	100	Оказывает	0,00416	0,00234
0,01	0	100	Оказывает		
0,005	6±0,5	40	Не оказывает		
0,003	7,3±0,6	26	Не оказывает		
0,0025	7,6±0,6	23	Не оказывает		

**Таблица 6**

Влияние различных концентраций арсенита натрия на двигательную активность дафний (*Daphnia magna straus*).

Концентрация, г/л	Среднее число пересечённых квадратов через 3 час.	Среднее число пересечённых квадратов через 6 час.	Среднее число пересечённых квадратов через 24 час.
Контроль	17,2±3,2	17,2±3,2	12,8±3,2
0,2	0	0	0
0,02	6,05±2,37 <sup>1</sup>	6,1±3,6 <sup>1</sup>	0
0,006	10±3,6 <sup>2</sup>	8,4±3,9 <sup>1</sup>	12,2±4,3

**Таблица 7**

Определение острой токсичности различных концентраций арсенита натрия по хемотаксической реакции инфузорий (*Paramecium caudatum*)

Концентрации арсенита натрия, г/л	Среднее значение индекса токсичности, Т	Степень токсичности
0,2	0,93±0,01	Высокая степень токсичности
0,02	0,70±0,00	Умеренная степень токсичности
0,006	0,47±0,08	Умеренная степень токсичности
0,002	0,54±0,01	Умеренная степень токсичности
0,0006	0,47±0,03	Умеренная степень токсичности
6 · 10 <sup>-18</sup>	0,43±0,07	Допустимая степень токсичности

влияния промышленных предприятий по переработке арсенита натрия целесообразно использовать низших ракообразных как наиболее чувствительных тест-объектов.

### Литература

- Белов Ю.А., Никифоров Г.Е., Хохлов Р.В. и др. Переработка реакционной массы от детоксикации люизита в арсенит натрия гидролизный // Проблемы уничтожения и утилизации ОМП. – М.: 2006. №2. – С. 16-19.
- Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла. Красноярск: КГУ. – 2004. – 19 с.
- Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 141 с.
- Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. – М.: Акварос, 2001а. – 48 с.
- Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных

вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. – М.: Акварос, 2001б. – 52 с.

- Жмур Н.С., Орлова Т.Л. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. – М.: Акварос, 2001. – 44 с.
- Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. 1997. №6. С. 408-411.
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». МПР РФ. – М.: 2004. – 16 с.
- Методика определения токсичности проб вод (природных, хозяйственно-питьевых, промышленных сточных) экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». – Санкт-Петербург: Спектр-М, 2005. – 13 с.
- Ратушняк А.А., Андреева М.Г., Махнин В.Г. Эффект действия малых и сверхмалых доз пиретроидов на *Daphnia magna*. // Токсикологический вестник. 2000. №2, март-апрель. – С. 17-23.