

Сопоставительная оценка токсичности поверхностных вод и почвы по результатам биотестирования двумя независимыми лабораториями

© 2015. Е. А. Броницкая¹, с.н.с., В. В. Петраш¹, д.б.н., зав. лабораторией,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д.т.н., зав. кафедрой, зав. лабораторией,
Л. В. Кондакова^{2,3}, д.б.н., зав. кафедрой, с.н.с.,

¹Научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины ФМБА России,

²Вятский государственный гуманитарный университет,

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
e-mail: spbism@mail.ru

Проведена оценка сопоставимости результатов определения токсичности одновременно отобранных проб поверхностных вод и почв, проведённого по идентичным методикам биотестирования независимо друг от друга лабораториями ВятГГУ (г. Киров) и ФГУП НИИ ПММ (г. Санкт-Петербург). Пробы воды и смешанные образцы почв для химического анализа и биотестирования отбирались в зоне влияния Кирово-Чепецкого химического комбината. Биотестирование в лаборатории биомониторинга ВятГГУ проводили на низших ракообразных *Daphnia magna*, простейших *Paramecium caudatum* и бактериях *Escherichia coli* (тест-система «Эколюм») в ближайший после забора проб период. В Санкт-Петербург пересылали высушенные пробы почв, где проводили пробоподготовку с получением водной вытяжки. Пробы воды в период транспортировки (5 суток) хранили в сосудах из поливинилхлорида, помещённых в контейнеры-термостаты со льдом. Для биотестирования в лаборатории биофизических исследований ФГУП НИИ ПММ также использовали *Daphnia magna* и *E. coli*, но вместо простейших *Paramecium caudatum* тест-объектом служили высшие растения *Lemna minor*. Сравнивали сопоставимость результатов двух независимых лабораторий. Для наглядности сопоставления различных методик биотестирования в качестве показателя токсичности проб введён средний балл реакции тест-организмов.

The assessment of comparability of results of determination of toxicity of at the same time selected tests of a surface water and the soils, the biotesting carried out by identical techniques independently from each other is carried out by different laboratories Vyatka state University of Humanities (Kirov) and FGUP NII PMM (Saint-Petersburg). Water samples and mixed samples of soil for chemical analysis and bioassay were selected in the zone of influence of Kirovo-Chepetsk chemical plant. Bioassay in the laboratory of biomonitoring of the intersection of languages and cultures held on crustacean *Daphnia magna*, protozoa *Paramecium caudatum* and *Escherichia coli* test system «Ecolum» in the immediate aftermath of the sampling period. In St. Petersburg forwarded dried soil samples where sample preparation was performed to obtain the aqueous extract. Water samples in the period of transportation (5 days) kept in containers of PVC placed in containers thermostats with ice. For the bioassay in the laboratory of biophysical studies research FGUP NII PMM also used *Daphnia magna* and *Escherichia coli* test system «Ecolum», but instead of the protozoan *Paramecium caudatum* test subject served higher plants *Lemna minor*. Received the comparability of the results of two independent laboratories. For clarity, the comparison of the different methods of bioassay as an indicator of the toxicity of the samples entered the average score of responses of the test organisms.

Ключевые слова: биотестирование, тест-организмы, средний балл реакции, токсичность, пробы воды, образцы почв

Key words: bioassay, the test organisms, the average score of response, toxicity, water samples, soil samples

Введение

Биотестирование – одно из наиболее перспективных направлений в области интегральной оценки состояния окружающей среды и выявления факторов её химического загрязнения [1].

Современные методы биотестирования для оценки уровня загрязнения вредными химическими веществами территорий включают исследования поверхностных вод и водных вытяжек (экстракты) из проб почв, донных отло-

жений, отходов производства и других твёрдых субстратов. Оценка загрязнения воздуха также проводится по водной вытяжке из специальных фильтров после их нормированной продувки воздушным потоком в зоне контроля или на основании анализа снегового покрова также в жидкофазном состоянии. При определении класса опасности твёрдого отхода производства для окружающей природной среды с помощью метода биотестирования водной вытяжки из отхода применяется не менее двух тест-организмов из разных система-

тических групп (дафнии и инфузории, цериодафнии и бактерии или водоросли и т. п.). В настоящее время применяются высокотехнологичные тест-системы «Эколюм», «Toxkit®» (daphtoxkit, algalttoxkit, ostracodtoxkit и др.) с полной подготовкой тест-организмов к оперативному использованию и транспортировке в специальных ампулах. За окончательный результат принимается класс опасности, выявленный на виде тест-организмов, показавшем более высокую чувствительность к анализируемому отходу [2].

Регламентированный набор «не менее двух тест-организмов из разных систематических групп» свидетельствует об отсутствии универсальных по информативности тест-организмов. Кроме того, существуют методические и технические различия в подготовке тест-организмов и условий биотестирования в различных лабораториях.

Цель представленной работы – определить сходимость результатов определения токсичности одновременно отобранных проб поверхностных вод и почв, проведённого по идентичным методикам биотестирования независимо друг от друга лабораториями ВятГГУ (г. Киров) и ФГУП НИИ ПММ (г. Санкт-Петербург).

Материалы и методы

Пробы воды и смешанные образцы почв для химического анализа и биотестирования отбирались в зоне влияния Кирово-Чепецкого химического комбината непосредственно около предприятия «ГалоПолимер» и завода минеральных удобрений, в районе хвостохранилищ и шламонакопителей. Сточные воды этих предприятий поступают в реку Елховку. Три пробы воды были отобраны из русла этой реки и условно обозначены как «Полимер» (ниже выпусков сточных вод), с участка, обозначенного «904» (в среднем течении реки), и контрольная проба (фон) – выше по течению относительно промзоны. Также проба отбиралась из Ивановской протоки, состав воды в которой зависит от объёмов и химического состава стоков ТЭЦ-3, обслуживающей предприятия города Кирово-Чепецка.

Смешанные образцы почв отбирались в прибрежной полосе реки Елховки с участков, обозначенных как «904» и «907», на заболоченном участке в районе третьей и четвёртой секций шламонакопителя (участок «913»), а также на пойменном лугу, находящемся между руслами рек Вятки и Елховки (участок «920»).

Для биотестирования в лаборатории ФГУП НИИ ПММ отобранные пробы почв высушивали и пересылали в Санкт-Петербург, где проводили пробоподготовку с получением водной вытяжки. Пробы воды в период транспортировки хранили в сосудах из поливинилхлорида, помещённых в контейнеры-термостаты со льдом.

Биотестирование в лаборатории биомониторинга ВятГГУ проводили в ближайший после забора проб период с помощью трёх тест-организмов, принадлежащих разным систематическим группам: низшие ракообразные *Daphnia magna*, простейшие *Paramecium caudatum*, бактерии *E. coli* тест-системы «Эколюм».

В лаборатории биофизических исследований ФГУП НИИ ПММ также использовали три вида тест-организмов из разных систематических групп: низшие ракообразные *Daphnia magna*, бактерии *E. coli* тест-системы «Эколюм» и высшие растения *Lemna minor*. Поскольку для *Daphnia magna* одним из показателей токсичности при продолжительном их экспонировании в тестируемой воде является не только выживание особей, но также начало периода размножения и количество потомства, исследования проводили при длительных экспозициях.

Результаты и обсуждение

Сравнения степени токсичности анализируемых проб жидкости (поверхностные воды, вытяжки из проб почвы) проводили путём ранжирования по выраженности реакции тест-организма на воздействие исследуемой пробы в баллах: (0) – нет отрицательного воздействия, (1) – проба слаботоксичная, (2) – умеренная степень токсичности, (3) – острое токсическое воздействие. За основу ранжирования взяты известные нормативные данные по определению степени токсичности воды для оценки проб с использованием бактериального теста «Эколюм», простейших *Paramecium caudatum* и *Daphnia magna* [3 – 5].

Воздействие проб воды на плодовитость дафний в длительном эксперименте ранжировали от (0) – максимальное количество молодых на одну самку через 10 суток эксперимента, до (3) – отсутствие потомства.

Реакция на тестируемые воды *Lemna minor* определяли по индексу прироста – отношению количества растений через 10 суток к контролю. *Lemna minor* ранжировали от (0) – нет отрицательного воздействия (индекс

Таблица 1

Реакции различных тест-организмов на воздействие проб поверхностной природной воды в баллах

Наименование участка забора проб	Результаты лаб. ВятГУ, тест-организмы					Результаты лаб. ФГУП НИИ ПММ, тест-организмы				
	<i>Daphnia magna</i>	<i>Paramecium caudatum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Средний балл реакции (R)	<i>Daphnia magna</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Lemma minor</i>	Гибель	Плодовитость	Средний балл реакции (R)
Выше по течению реки Елховки от промзоны (фон)	0	1	2	1,00	0	1	2	0	1	0,45
В среднем течении реки Елховки (участок 904)	0	3	1	1,33	0	0	3	2	2	1,40
Ниже по течению от выпусков сточных вод (полимер)	2	3	0	1,66	0	2	0	0	2	0,80
Ивановская протока	0	1	0	0,33	0	2	0	0	0	0,40
Заболоченный участок в районе 6-й секции шламонакопителя	3	3	0	2,00	1	0	2	3	3	1,80

Таблица 2

Реакции различных тест-организмов на воздействие водной вытяжки из проб почв в баллах

Наименование участка забора проб	Результаты лаб. ВятГУ, тест-организмы					Результаты лаб. ФГУП НИИ ПММ, тест-организмы				
	<i>Daphnia magna</i>	<i>Paramecium caudatum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Средний балл реакции (R)	<i>Daphnia magna</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Lemma minor</i>	Гибель	Плодовитость	Средний балл реакции (R)
Пойменный луг между руслами рек Вятки и Елховки (участок 920)	2	0	0	0,66	3	2	2	-	-	2,33
Район третьей и четвёртой секций шламонакопителя (участок 913)	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0	0,00
Прибрежная полоса реки Елховки (участок 907)	0	2	0	0,66	0	0	3	3	3	1,80
Прибрежная полоса реки Елховки (участок 904)	0	0	0	0,00	1	0	2	1	2	1,20

Примечание: – тестирование не проводили

прироста соответствует контролю), до максимального угнетения роста – (3).

Для наглядности сопоставления результатов двух лабораторий определяли средний балл реакции тест-организмов R как отношение суммы (Σ) баллов выраженности реакций всех использованных при тестировании каждой пробы тест-организмов к n_{t_0} – количеству использованных для биотестирования тест-организмов, то есть:

$$R = R_{t_0} / n_{t_0},$$

где подстрочный индекс t-0 – (test-organism) тест-организм, R_{t_0} – балл реакции отдельного тест-организма.

Данные по влиянию на тест-организмы проб природной воды, полученные в обеих лабораториях, приведены в таблице 1.

Рассматривая результаты сравнения, следует отметить, что наибольшее токсическое воздействие на тест-организмы *Paramecium caudatum* и *Daphnia magna*, по данным обеих лабораторий, оказала проба с участка «6-я секция», при этом бактериальный тест «Эколюм» на токсичность не прореагировал. Наиболее слаботоксичной оказалась проба с участка забора «Ивановская протока», также по результатам двух лабораторий. При сравнении результатов тестирования, полученных по смертности суточных *Daphnia magna*, токсичность проб воды была выше при проведении анализа в лаборатории ВятГГУ, т. е. непосредственно после взятия проб и их доставки в лабораторию. Можно предполагать, что хранение проб в сосудах из поливинилхлорида, помещённых в контейнеры-термостаты со льдом в течение 5 суток, связанное с транспортировкой в г. Санкт-Петербург, привело к снижению их токсичности. Кроме того, различия результатов оценки токсичности проб может быть связано с некоторым отличием состава воды в г. Санкт-Петербурге и г. Кирове, используемой для культивирования тест-организмов и пробоподготовки суспензии биосенсора «Эколюм». По бактериальному тесту «Эколюм» полученные в лабораториях результаты отличались в пробах «Полимер» и «Ивановская протока». Данный тест в лаборатории ВятГГУ в этих пробах токсичность не выявил, тем не менее в лаборатории ФГУП НИИ ПММ показал её наличие. Наряду с этим в ряде других проб бактериальный тест давал близкие результаты в обеих лабораториях. Точно определить причины такого рода различий по отдельно взятым пробам не

представляется возможным. Для выявления определённых закономерностей и стандартизации такого рода межлабораторных исследований необходима более обширная база данных. Наиболее информативными и синхронно демонстрирующими неблагоприятное воздействие на тест-организм были методики, основанные на таксисах *Paramecium caudatum* и плодовитости *Daphnia magna*. Следует отметить, что обе лаборатории одинаково выявили самую токсичную и самую слаботоксичную пробы.

Анализ результатов биотестирования водной вытяжки из проб почв (табл. 2) по показателям, полученным на *Daphnia magna* в лаборатории ВятГГУ и по всем тест-организмам – в лаборатории ФГУП НИИ ПММ выявил самую токсичную пробу (участок 920). Проба с участка 913 была нетоксичной для всех тест-организмов. В целом вытяжки из проб почв оказали более значимое токсическое воздействие на тест-организмы при выполнении биотестирования в лаборатории ФГУП НИИ ПММ. Так же, как и при тестировании поверхностных вод, вытяжки из почв оказали наибольшее влияние на *Paramecium caudatum* и плодовитость *Daphnia magna*.

Анализ результатов показал, что состав большинства исследованных природных вод и вытяжек из почв негативно сказался на развитии тест-организма *Lemna minor*: из девяти проб только три не угнетали рост растения, что согласуется с литературными данными о достаточно высокой чувствительности *Lemna minor* к токсикантам [6].

Таким образом, проведённые исследования свидетельствуют в целом о близости результатов оценки токсичности идентичных проб, полученных по методикам биотестирования в разных лабораториях. Однако проведение анализа токсичности проб через определённый отрезок времени после взятия их на местности и хранения, даже в соответствующих методическим рекомендациям температурных условиях [3 – 5], может влиять на результат. Определение влияния на результаты биотестирования факторов длительности и условий хранения и транспортировки проб воды требует дополнительной проработки. В данном исследовании наиболее чувствительными к загрязнению оказались простейшие *Paramecium caudatum*, показательны также результаты определения хронической токсичности поверхностных вод по срокам появления первой молоди у *Daphnia magna*. Несомненно, что расширение спектра используе-

мых тест-организмов (представителей разных таксонов) позволит точнее оценить степень токсичности предъявляемых проб.

Выводы

1. Результаты биотестирования, проведённого лабораториями ФГУП НИИ ПММ и ВятГГУ на пробах поверхностных вод и почв, одновременно отобранных в районе влияния химических предприятий г. Кирово-Чепецка, показали сопоставимость результатов оценки их токсичности.

2. Проведение анализа проб воды через определённый отрезок времени после взятия их на местности требует соблюдения методически обоснованных условий хранения проб и учёта этого фактора при оценке токсичности.

3. Введённый в работе средний балл реакции тест-организмов (R) обеспечивает наглядность и удобство сопоставления результатов биотестирования различными методиками и в разных лабораториях.

Литература

1. Ашихмина Т.Я., Алалыкина Н.М., Домрачева Л.И. и др. Биологический мониторинг природно-

техногенных систем / Под общ. ред. Т.Я. Ашихминой. Сыктывкар: Изд-во Коми НЦ УрО РАН, 2011. 388 с.

2. Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды. Приказ Министерства природных ресурсов Российской Федерации от 15 июня 2001 г. № 511.

3. ФР.1.31.2005.01881 (ред. 2010). Методика определения токсичности проб природных, питьевых, хозяйственно-питьевых, хозяйственно-бытовых сточных, очищенных сточных, сточных вод экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». СПб.: ООО «СПЕКТР-М», 2010. 13 с.

4. ПНД Ф 14.1:2:3:4.11-04 / 16.1:2:3:3.8-04. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». М. 2004 (издание 2010 г.).

5. ФР.1.39.2007.03222. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Акварос, 2007. 52 с.

6. Заушинцен А.С., Заушинцена А.В., Свиркова С.В. Воздействие поллютантов на живые системы в Кемеровской области // Вестник КеМГУ. 2000. № 4. С. 5–8.