

На правах рукописи

Гордеева Фаина Викторовна

**ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ
ВОДЫ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ВОДОЕМОВ И ПОЧВ
ТЕРРИТОРИИ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНФУЗОРИИ *PARAMECIUM CAUDATUM***

03.02.08 – экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Борок, 2010

Работа выполнена в Тюменской государственной сельскохозяйственной академии (ТГСХА)

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, профессор Людмила Владимировна Михайлова

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, Григорий Михайлович Чуйко;

доктор биологических наук, профессор Олег Федорович Филенко

Ведущая организация: Московский государственный университет технологий и управления (МГУТУ)

Защита диссертации состоится «22» апреля 2010 г. в «14⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета ДМ 002.036.01 в Институте биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина по адресу: 152742 п. Борок, Некоузского района, Ярославской области, тел/факс (48547)24042

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН

Автореферат разослан «21» марта 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Л.Г. Корнева

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Загрязнение окружающей среды – одна из глобальных экологических проблем современного мира. Особенно опасные последствия для водных и наземных экосистем сопряжены с совместным действием комплекса загрязняющих веществ и аномальных природных экологических параметров среды (рН, соленость и др.). Такая ситуация характерна для Тюменской области, значительная часть территории которой испытывает техногенную нагрузку: урбанизация (юг области) и добыча нефти и газа (северные территории). Современная экологическая обстановка, сложившаяся здесь, обусловлена как естественными, природными, так и техногенными факторами. Водные объекты на территории города Тюмени, представленные реками, озерами и прудами, испытывают постоянный антропогенный пресс, поскольку находятся в районах плотной городской застройки и на территории промышленных узлов (Гусейнов, 2001). Северные территории с низкой плотностью населения испытывает сильную техногенную нагрузку в связи с развитием крупнейшего в мире нефтегазового комплекса (НГК). Площадь, занимаемая нефтяными месторождениями в Ханты-Мансийском автономном округе, составляет 15,7%, площадь нарушенных земель, как минимум в 2-3 раза больше. Нефте-солевое загрязнение территории ХМАО-Югры сопоставимо с механической трансформацией земель (Соромотин, 2007). Основными причинами загрязнения почв, грунтов и природных вод являются аварии, в том числе порывы нефтепроводов (от 2000 до 4700 в год), а также утечки из коммуникаций, шламовых амбаров, отстойников и мест захоронения отходов, техногенные потоки загрязнителей от которых попадают в поверхностные воды и водоносные горизонты (Пиковский, 1993; Солнцева, 1998).

До настоящего времени основными методами, с помощью которых оценивается экологическое состояние почв и водоемов продолжают оставаться физико-химические. Однако, наряду с аналитическими методами, все шире применяются методы биологического тестирования, позволяющие оценить всю совокупность свойств исследуемой среды по ответным реакциям живых организмов. В качестве тест-объектов используются организмы, которые распространены в природе, участвуют в процессах самоочищения вод и обладают коротким жизненным циклом, что позволяет проследить результаты воздействия повреждающих факторов на потомство. Таким требованиям отвечают простейшие (Айвазова, 1988; Веселов, 1969). Этот выбор оправдан тем, что, во-первых, инфузории являются типичными представителями фауны водоемов, почв и биологических очистных сооружений (активный ил), во-вторых, они являются индикаторными видами при оценке загрязнения природных сред и, в-третьих, инфузории отличаются довольно высокой чувствительностью к токсикантам (Селивановская и др., 1998). Бiotестирование с использованием инфузорий *Paramecium caudatum* может служить эффективным методом эколого-аналитического контроля природных и сточных вод в комбинации с методами аналитической химии (Белова и др., 1998). Возможность непосредственного наблюдения под микроскопом морфологических и

функциональных реакций организмов (скорость фагоцитоза, хемотаксис, симптомокомплекс отравления), а также изменений популяционных характеристик (смертность, скорость размножения, численность) ставит их в особое положение по сравнению с другими тест-объектами.

Тем не менее, несмотря на наблюдаемые достижения в развитии эколого-аналитического контроля, многие теоретические и практические вопросы остаются не достаточно изученными. Так, слабо изучена взаимосвязь между химико-аналитическими данными загрязненности объектов природной среды и результатами биотестирования, не обоснован выбор оптимальных тест-систем для оценки экологического состояния водных объектов, почв и производственных отходов с точки зрения экспрессности, а одновременно и полноты информации, не достаточно изучены пределы адаптируемости тест-организмов к различным видам загрязнения, в том числе нефтяному.

В связи с этим исследование комплексного загрязнения водоемов и почв и совершенствование эколого-токсикологического контроля с применением биотестирования является **актуальной** проблемой.

Цель исследований

Исследование реакций лабораторной культуры инфузории *Paramecium caudatum* на химический состав и комплексное загрязнение природных сред (вода, донные отложения, почвы) и отходов производства (осадки сточных вод, нефть, хлориды, шламы после нефтедобычи), а также возможности ее адаптации к нефтяному загрязнению.

Задачи исследований

1. Оценить состояние некоторых природных и искусственных водных объектов (реки, озера, пруды, отстойники) на территории города Тюмени с помощью химических и биологических (биотестирование) методов.

2. Исследовать токсичность фильтратов органогенных (торф) и минеральных (суглинок) почв с дозированным внесением нефти, а также загрязненных почв с территории нефтедобычи ХМАО-Югры по показателям жизнедеятельности *Paramecium caudatum* и *Ceriodaphnia affinis* на организменном и популяционном уровнях.

3. Определить пределы резистентности *Paramecium caudatum* к рН, солености (NaCl) и водорастворимой фракции нефти (ВРФН) при отдельном и совместном действии.

4. Исследовать возможность адаптации *Paramecium caudatum* к нефтяному загрязнению и роль пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) в этом процессе.

Научная новизна и теоретическое значение

1. Впервые установлен диапазон резистентности *Paramecium caudatum* к действию рН, солености и нефти при отдельном и совместном действии, а также к комплексу химических веществ в воде, донных отложениях и почвах в условиях варьирующего значения величины рН.

2. Впервые выявлена возможность адаптации *Paramecium caudatum* к широкому диапазону нефтяного загрязнения органогенных и минеральных

почв и установлены модификации эффекта нефтяного загрязнения на простейших в присутствии репарагена ПАБК.

3. Впервые показано, что по чувствительности к токсическому действию исследованных загрязняющих веществ *Paramecium caudatum* близка к *Ceriodaphnia affinis*, не смотря на то, что популяции простейших довольно устойчивы к загрязнению, что позволяет им активно участвовать в процессах самоочищения вод и почв, в частности от компонентов нефти.

Практическое значение работы

Получены данные по состоянию 3 озер и 10 прудов г. Тюмени и даны рекомендации Управлению по экологии Администрации города для научного планирования мероприятий по охране, восстановлению и рациональному использованию водоемов, находящихся в рекреационной зоне, а также реконструкции пруда-ливнеотстойника ТЭЦ-2 с целью очистки от загрязняющих веществ и предотвращения загрязнения реки Туры. Результаты исследования токсичности нефтезагрязненных почв использованы при разработке ПДК нефти для органогенных и минеральных почв, наиболее характерных для территории Ханты-Мансийского автономного округа.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Токсичность воды и донных отложений более адекватный критерий для оценки сходства экологического состояния водных объектов.

2. Важным источником загрязнения почв и подземных вод на территории ХМАО-Югры являются шламовые амбары, поставляющие в сопредельные ландшафты нефтяные углеводороды, хлориды, сульфаты, тяжелые металлы и неидентифицируемые органические вещества, токсичность которых выявляется методом биотестирования даже при концентрациях ниже ПДК.

3. Тест-объект *P. caudatum* обладает высокой чувствительностью, но одновременно и высокой устойчивостью по отношению к загрязнению воды, донных отложений и почв. Популяция *P. caudatum* способна адаптироваться к нефтяному загрязнению природных сред. Использование репарагена ПАБК снижает степень повреждающего действия нефти.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы докладывались и обсуждались на: Конференции «Чистая вода» (Тюмень, 2007); Региональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Аграрная политика на современном этапе» (Тюмень, 2007); Международной академической конференции «Состояние, тенденции и проблемы развития нефтегазового потенциала Западной Сибири» (Тюмень, 2008); Всероссийской конференции по водной токсикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы»; конференции по гидроэкологии «Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок» (Борок, 2008); Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию образования Тюменской государственной сельскохозяйственной академии «Пути повышения эффективности сельскохозяйственного производства в Сибирском регионе» (Тюмень, 2009); Первой конференции молодых ученых НАСЭЕ «Вопросы аквакультуры» (Тюмень,

2009); Региональной конференции молодых ученых «Современные тенденции развития АПК в Северном Зауралье» (Тюмень, 2009).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 работ и 2 статьи приняты к печати, в том числе 2 работы в изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем работы

Материал изложен на 183 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц, 52 рисунка, 6 приложений.

Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материала и методов исследования (глава 2), результатов и их обсуждения (глава 3), выводов, списка литературы и 6 приложений.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ.

Глава 1. Обзор литературы

На основе литературных данных сформулированы направления использования *Paramecium caudatum* в качестве тест-объекта. Обобщены данные о роли простейших в природных экосистемах и системах очистки сточных вод. Проанализированы сведения о токсическом влиянии нефти и других загрязняющих веществ и возможности адаптации к ним простейших.

Глава 2. Материал и методики

Настоящая работа основана на результатах, полученных автором в 2005-2009 гг. при оценке токсичности 1272 проб воды, донных отложений и водных вытяжек почв по ответным реакциям простейших.

Исследовали:

1. Некоторые водоемы г. Тюмени, используемые населением для рекреации и любительского рыболовства: в 2006 г. – пруды Южный, Лесной, Утиный, Кристальные родники, Чистый (площадь - 0,83-101,0 га) и озеро Кривое (17,6 га); в 2007 г. - пруды Южный, Утиный, Кристальные родники, Лесной (площадь – 0,83-3,7 га) и озера Андреевское и Круглое (площадь – 1840 и 60,0 га соответственно); в 2008 г. – пруды Лесной, Утиный, Кристальные родники, Чистый, Березовый, Войновский, Ключевской, Северный, Садовый (площадь – 0,83-101,0 га). Пробы воды и донных отложений (ДО) отбирали посезонно. Химический состав воды и ДО определялся по общепринятым методикам (ПНД Ф 16.1:2.2.22-98; ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98; РД 52.24.407-2006; РД 52.24.403-2007 и др.) в аттестованной лаборатории ФГУП «Госрыбцентр». Для комплексной оценки состояния водоемов использовали индекс загрязненности воды (ИЗВ) и суммарный показатель загрязненности ДО (СПЗ_{ДО}) по приоритетным загрязняющим веществам (ЗВ), с учетом более жестких рыбохозяйственных ПДК (Экология, 1999). Суммарную токсичность определяли с помощью метода биотестирования. Качественную оценку состояния исследованных водоемов давали в соответствии с классификацией (Михайлова, 2006), которая позволяет определить класс качества и класс токсичности воды и ДО и сравнить между собой исследованные водоемы.

2. Пруд-ливнеотстойник (ПЛО) ТЭЦ-2 и река Тура в зоне сброса стоков. Пробы отбирали на 4-х станциях ПЛО и 3-х в р. Тура (выше, в месте и

ниже сброса) посезонно. Исследовали химический состав, содержание загрязняющих веществ (ЗВ) и токсичность.

3. Пробы почв и грунтовых вод, отобранных на территории Самотлорского нефтяного месторождения в Ханты-Мансийском автономном округе (ХМАО) в районах захоронения отходов бурения. Исследовалась миграция ЗВ (нефть, хлориды, сульфаты, тяжелые металлы, органические вещества) из шламовых амбаров (ША) в почву и грунтовые воды по показателям химического состава, рН, токсичности почв и грунтовых вод. Токсичность оценивали по показателям жизнедеятельности *P. caudatum* и *Ceriodaphnia affinis*.

4. Суммарную токсичность водорастворимой фракции нефти (ВРФН), хлоридов и рН в разных сочетаниях экспериментально.

5. Фильтраты и водные экстракты почв (верховой торф и суглинок) с дозированным внесением нефти.

6. Возможность адаптации *Paramecium caudatum* к нефтяному загрязнению и роль ПАБК в этом процессе.

В качестве тест-объекта использовали культуру пресноводной инфузории (*Paramecium caudatum* Ehrenberg) в фазе экспоненциального роста. В число исследуемых тест-функций вошли: выживаемость, численность, интенсивность деления, фагоцитарная активность, хемотаксис.

Токсичность исследуемых сред оценивали по изменению показателей опытных парамеций по сравнению с контролем в 3-5 повторностях в ходе 1-4 дневных опытов (Голубкова, 1900; Р 52.24-94; ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.2-98). Биотестирование проводили при комнатной температуре в нестерильных условиях в защищенном от прямого солнечного света месте.

Возможность адаптации культуры *Paramecium caudatum* к нефтяному загрязнению изучали в длительных (16 сут) экспериментах с дозированным внесением нефти, а также нефти и ПАБК, в торфяные и суглинистые почвы. Каждые 4 сут по 10 экз парамеций перемещали в свежие опытные и контрольные среды (K_1 – вода + питательная среда; K_2 – водный экстракт чистой почвы + питательная среда; K_3 – вода + питательная среда + ПАБК; K_4 – водный экстракт чистой почвы + питательная среда + ПАБК). Контролировали: выживаемость, численность, темп деления, хемотаксис и фагоцитоз инфузорий.

Хемотаксис инфузорий определяли по методике, разработанной ВНИЦ «Экология», которая вошла во Временное методическое руководство (2002 г.). На предметное стекло наносили 2 капли по 0,1 мл испытуемой суспензии и контроля (K_1). Помещали 10 инфузорий в опытную каплю, капли соединяли тонкой перемычкой. В течение 2-х часов наблюдали перемещение парамеций в поле зрения бинокюляра. Изменения отмечали каждые 15 минут (0, 15, 30, 45, 60) в трех повторностях.

Фагоцитарную активность определяли в течение 15 мин в 1 сут, а также каждые 4 сут при смене растворов по методике, предложенной Э.Г. Голубковой (1990).

Критерием острой и хронической токсичности считалось статистически достоверное различие или снижение численности простейших на 50% и 25%

по сравнению с контролем в течение 24-х и 96-часовой экспозиции соответственно, а также стимуляция роста культуры более чем на 30% (Р 52.24-94).

Для статистических расчетов использованы: критерий Стьюдента, приемы оценки криволинейной связи через корреляционное отношение (η_{yx}) (Лакин, 1980), кластерный анализ с помощью программы Statistica (Боровиков, 2001).

Объем проведенных исследований приведен в таблице 1.

Таблица 1 - Объекты исследования, регистрируемые показатели и количество исследованных проб

Объект исследования	Показатели	Количество проб
1. Городские водоемы (вода, ДО, 2006-2008 гг.), 10 прудов, 3 озера	Численность, коэффициенты прироста численности, индекс численности, интенсивность деления	426
2. ПЛО ТЭЦ-2 и р. Тура (ДО, исходные вытяжки и разведения в 2-20 раз)		219
3. Почвы в районе ША		123
4. Фильтраты почв с дозированным внесением нефти (рН нативная и выровненная)		174
5. Опыты по изучению действия ВРФН, рН и хлорида натрия и их совместного влияния		42
6. Водные экстракты нефтезагрязненных почв (торф (1:10); суглинок (1:10); суглинок (1:4))	Численность, коэффициенты прироста численности, индекс численности, интенсивность деления, фагоцитоз, хемотаксис	162
7. Влияние ПАБК на эффект нефтяного воздействия (суглинок (1:10), суглинок (1:10) + ПАБК)		126
ИТОГО		1272

Глава 3. Результаты исследований и их обсуждение.

3.1. Динамика роста культуры *Paramecium caudatum* в разных средах.

Исследована динамика роста культуры *P. caudatum* в разных средах: отстоянной кипяченой воде с питательной средой; водной эмульсии нефти; водопроводной воде с питательной средой; питательной среде; водопроводной воде. Показано, что в нефтяной эмульсии, несмотря на угнетение темпа роста культуры по сравнению с контролем (К), прирост ее численности выше, чем в отстоянной водопроводной воде, что, вероятно, связано с питанием инфузорий нефтеокисляющими бактериями. Фактор питания на ранних этапах взаимодействия с загрязняющим веществом преобладает над токсичностью.

3.2. Оценка качества природных вод и донных отложений по химическим показателям и ответным реакциям культуры *Paramecium caudatum*.

Сравнительный анализ химического состава воды исследованных водоемов показал, что большинство из них относится к пресноводным гидрокарбонатного класса, кальциевой группы, I типа, средней минерализации (Алекин, 1970). Из общего ряда выпадают пруд Войновский с очень низкой минерализацией (44-52 мг/дм³) и пруд Чистый с минерализацией, приближающейся к границе солоноватых вод (922-976 мг/дм³), обусловленной по-

вышенным содержанием хлоридов, сульфатов, одно- и двухвалентных катионов, за счет сброса загрязненных вод ТЭЦ-1.

Все водоемы содержат повышенное содержание биогенов (азота, фосфора, железа), сапробных органических веществ (по показателям окисляемости и БПК₅), нефтепродуктов (НП), тяжелых металлов (ТМ) – меди, цинка, свинца, ртути. Химический состав, содержание и сочетание токсических веществ в воде и ДО изменяется по сезонам и годам.

В разные годы и сезоны изменяется и токсичность воды и ДО исследованных водоемов, оцениваемая по ответным реакциям *P. caudatum*.

На примере результатов оценки качества воды по химическим и токсикологическим критериям в 2007 г. (табл. 2) видим, что эти оценки (ИЗВ₆ и индекс токсичности) не всегда совпадают, особенно по результатам кратковременного (1 сут) тестирования. Так, по результатам 1-сут тестирования изменение численности *P. caudatum* отличается от К весной – на 3-36%, летом – на 49-81%, осенью – на 2-24%. При 4-сут тестировании эта разница возрастает: весной – 53-91%, летом – 80-97%, осенью – 27-83% и в большей степени соответствует химическим показателям, о чем свидетельствуют корреляционные отношения между содержанием загрязняющих веществ и токсичностью воды и ДО (табл. 3-5). Токсичность определяли по изменению численности (N) *P. caudatum* по отношению к К.

Таблица 2 – Оценка качества воды по химическим и токсикологическим критериям (2007 г.) по классификации Л.В. Михайловой (2006)

Водоем	Сезон года	Показатели качества воды					
		ИЗВ ₆	класс и характеристика качества воды	отклонения N, % от К		класс и характеристика токсичности	
				1 сут	4 сут	1 сут	4 сут
Пруд Лесной	В	3,40	IV, загрязненная	-3	-53	6, очень малая	3, средняя
	Л	24,01	VII, чрезвыч. грязная	-66	-80	2, высокая	2, высокая
	О	5,77	V, грязная	+8	-27	6, очень малая	4, умеренная
Пруд Кристальные родники	В	1,90	III, умер. загрязнен.	-22	-69	4, умеренная	2, высокая
	Л	76,52	VII, чрезвыч. грязная	-49	-83	4, умеренная	1, оч. высокая
	О	2,50	III, умер. загрязнен.	-2	-70	6, очень малая	2, высокая
Пруд Утиный	В	0,80	II, чистая	-36	-73	4, умеренная	2, высокая
	Л	42,18	VII, чрезвыч. грязная	-50	-85	4, умеренная	1, оч. высокая
	О	1,54	III, умер. загрязнен.	-26	-47	4, умеренная	4, умеренная
Озеро Андреевское	В	5,30	V, грязная	-22	-66	4, умеренная	2, высокая
	Л	23,65	VII, чрезвыч. грязная	-56	-89	3, средняя	1, оч. высокая
	О	5,09	V, грязная	-7	-45	6, очень малая	4, умеренная
Пруд Южный	В	1,15	III, умер. загрязнен.	-30	-85	4, умеренная,	1, оч. высокая
	Л	22,44	VII, чрезвыч. грязная	-62	-94	3, средняя	1, оч. высокая
	О	2,75	IV, загрязненная	-24	-83	4, умеренная	1, оч. высокая
Озеро Круглое	В	6,10	VI, очень грязная	-8	-91	6, очень малая	1, оч. высокая
	Л	36,70	VII, чрезвыч. грязная	-81	-97	1, оч. высокая	1, оч. высокая
	О	5,30	V, грязная	-10	-78	6, очень малая	2, высокая

Примечание: ИЗВ₆ – нефтепродукты, Zn, Cu, Pb, Hg, Fe; В – весна, Л – лето, О – осень.

В острую токсичность воды для парameций в 2007 г. внесли вклад все химические ингредиенты, в меньшей степени сульфаты, кальций, органические вещества (ОВ) и нефтепродукты. В 2008 г. снижалась доля участия сульфатов, нитратов, аммония, гидрокарбонатов и одновалентных катионов и

нефтепродуктов. Хроническая токсичность в меньшей степени была связана с рН и сульфатами в 2007 г., с аммонием, Mg, Na+K, HCO₃ и ОВ (по БПК₅) в 2008 г. (табл. 3, 4).

Таблица 3 – Корреляционные отношения (η_{yx}) между содержанием ЗВ и токсичностью воды городских водоемов

Сутки	рН	Cl	SO ₄	NH ₄	NO ₂	NO ₃	P ₂ O ₅	Ca	Mg	Na+K	HCO ₃	БПК ₅
	2007 год											
1	0,80*	0,81*	0,69*	0,85*	0,77*	0,89*	0,87*	0,65*	0,87*	0,80*	0,80*	0,60*
4	0,56*	0,79*	0,68*	0,78*	0,86*	0,93*	0,77*	0,82*	0,81*	0,79*	0,76*	0,73*
2008 год												
1	0,77*	0,83*	0,69*	0,54*	0,86*	0,61*	0,77*	0,72*	0,77*	0,67*	0,63*	0,70*
4	0,82*	0,88*	0,75*	0,62*	0,88*	0,79*	0,81*	0,86*	0,50*	0,51*	0,51*	0,64*

Примечание: здесь и далее - * - статистически достоверные значения; **жирным шрифтом** выделены значения корреляционных отношений, соответствующих сильной связи между изученными показателями; **жирным подчеркнутым** – очень сильной, близкой к функциональной связи.

Таблица 4 – Корреляционные отношения (η_{yx}) между содержанием ЗВ и токсичностью воды городских водоемов 2008 год

Сутки	Zn	Cu	Pb	Hg	НП	Fe
1	0,73*	0,81*	0,87*	0,77*	0,58*	0,54*
4	0,86*	0,75*	0,75*	0,74*	0,66*	0,75*

Таким образом, основной вклад в токсический эффект воды исследованных водоемов для *P. caudatum* вносят ТМ (кроме железа), хлориды и биогены совместно.

Острая токсичность ДО исследованных водоемов в 2006 г. для парамеций в наибольшей степени зависела от суммы ОВ, затем следуют ТМ, НП и аммоний ($\eta_{yx} \geq 0,7$). Хронический токсический эффект обусловлен величиной рН, содержанием ОВ, ионов Pb и Zn. В 2007 г. в острую токсичность ДО для парамеций максимальный вклад внесли сульфаты, Zn, Cu, аммоний и хлориды, в хроническую - ионы Cu, аммония и Zn. В 2008 г. компонентами ДО, оказывающими острое токсическое действие на простейших, были ионы аммония, сульфатов, Zn, нитритов, а также ОВ и рН. Хронический токсический эффект связан с действием аммония, ТМ, хлоридов (табл. 5).

Таблица 5 – Корреляционные отношения (η_{yx}) между содержанием ЗВ и токсичностью ДО городских водоемов

Сутки	рН	Cl	SO ₄	NH ₄	NO ₂	ОВ	Zn	Cu	Pb	Hg	НП
2006 год											
1	0,48	0,69*	0,65*	0,81*	0,57	0,93*	0,79*	0,77*	0,86*	0,74*	0,81*
4	0,83*	0,53	0,64*	0,47	0,64*	0,76*	0,75*	0,52	0,82*	0,62*	0,59*
2007 год											
1	0,46*	0,72*	0,84*	0,81*	0,69*	0,45*	0,82*	0,82*	0,68*	0,67*	0,67*
4	0,68*	0,69*	0,69*	0,83*	0,68*	0,69*	0,71*	0,83*	0,66*	0,62*	0,66*
2008 год											
1	0,82*	0,62*	0,75*	0,81*	0,70*	0,70*	0,71*	0,57*	0,62*	0,64*	0,72*
4	0,57*	0,79*	0,68*	0,87*	0,66*	0,72*	0,70*	0,73*	0,74*	0,81*	0,60*

Кластеризация исследованных водных объектов по показателям загрязненности и токсичности может позволить государственным органам разрабатывать природоохранные мероприятия для групп сходных водоемов.

Кластерный анализ водоемов по химическому составу и токсичности воды на примере 2007 года представлен на рисунках 1-2.

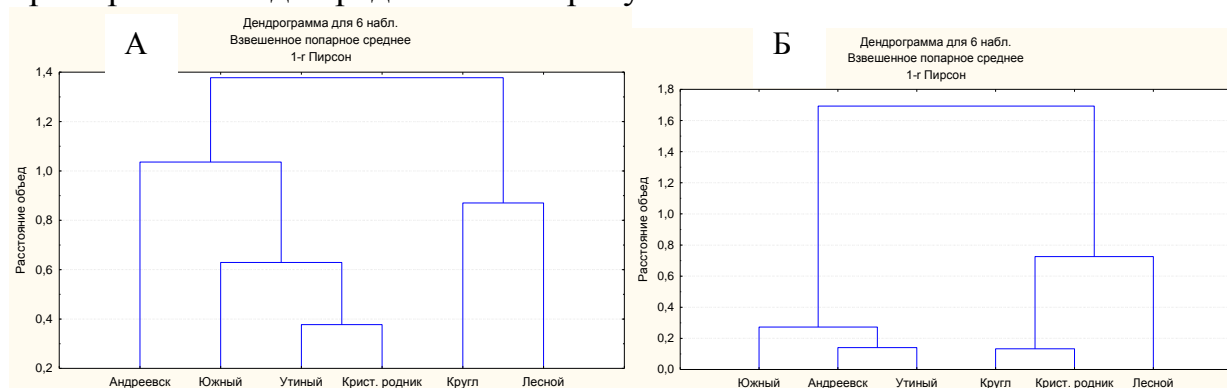


Рис. 1. Дендрограмма водоемов по химическому составу (А) и токсичности (Б) воды (2007 г.).

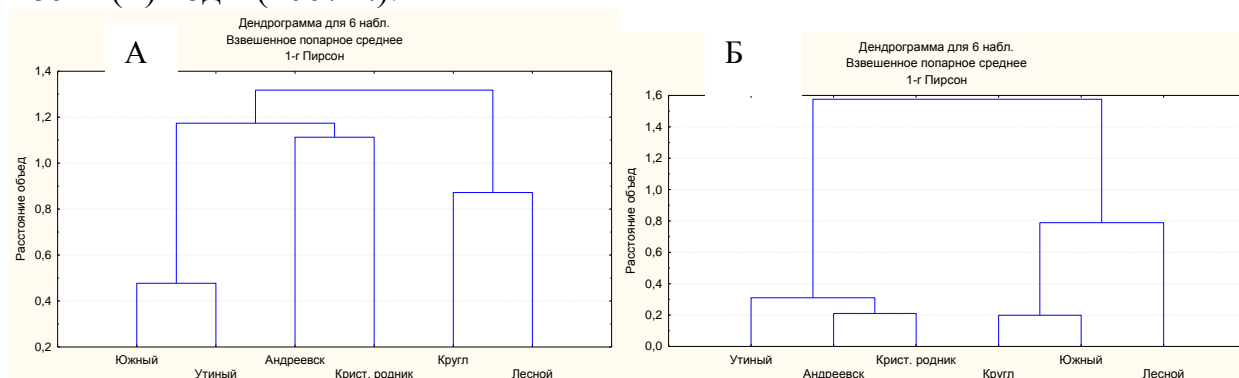


Рис. 2. Дендрограмма водоемов по химическому составу (А) и токсичности (Б) донных отложений (2007 год).

Кластеризация водных объектов по показателям токсичности воды и донных отложений более тесная, чем по их химическому составу. Аналогичные результаты с расширенным набором водных объектов наблюдались и в 2008 г.

Таким образом, по результатам корреляционного и кластерного анализа можно заключить, что все ЗВ оказывают токсическое действие на парамедий. Токсичность обусловлена как синергическим, так и антагонистическим действием ЗВ, поэтому кластеризация водоемов по химическому составу ДО не всегда совпадает с таковой по критерию биотестирования. Следовательно, для оценки экологического состояния водоемов недостаточно только химических данных, необходимо комплексное исследование.

3.3. Исследование токсичности донных отложений прудаливнеотстойника ТЭЦ-2.

Донные отложения ПЛО и р. Тура в районе сброса стоков ТЭЦ-2 сильно загрязнены сапробными и специфическими органическими веществами – фенолом, НП, СПАВ, а также ТМ, особенно цинком, медью, марганцем, хромом, ртутью и мышьяком. По химическим показателям (ОВ, биогены) исследованные водные объекты оцениваются как α - β -мезосапробные весной и осенью и полисапробные – летом. ДО ПЛО содержат значительное содержание сульфатов, что не характерно для поверхностных водоемов данной зоны. Донные отложения ПЛО ТЭЦ-2 загрязнены в большей степени, чем в р. Тура, тяжелыми металлами (цинком, марганцем, никелем, медью), мышьяком и

могут быть источником дополнительного загрязнения реки, о чем свидетельствует повышение загрязнения и токсичности ДО на ст. 6 и 7 (район сброса стоков). Донные отложения ливнеотстойника и р. Тура обладают острой и хронической токсичностью по отношению к *P. caudatum* (рис. 3, табл. 6): они снижают численность инфузорий как за счет гибели наименее устойчивых особей, так и замедления темпа деления культуры.

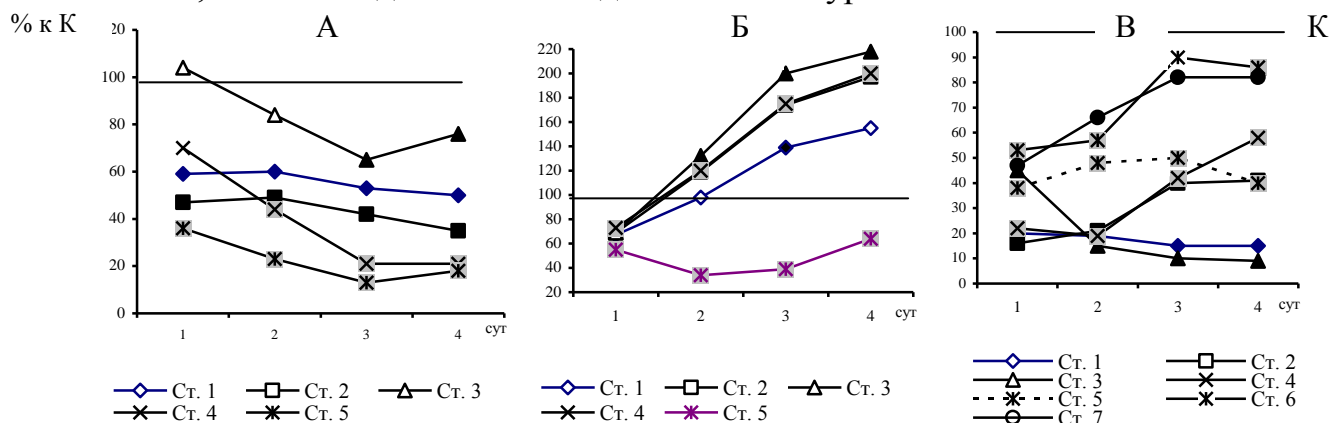


Рис. 3. Изменение численности *P. caudatum* в опыте с водными вытяжками ДО исходной концентрации ПЛО ТЭЦ-2 и р. Туры (А – весна; Б – лето, В - осень). Примечание: здесь и далее - прозрачные маркеры – не достоверные различия с контролем, затушеванные – статистически достоверные.

Таблица 6 – Изменение численности простейших (процент к К) в опытах с разведениями водных вытяжек ДО ПЛО ТЭЦ-2 (ст. 1-4) и р. Тура (ст. 5-7)

Станции	Сезон	1 сут			2 сут			3 сут			4 сут		
		Разведения, раз											
		2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10
1	В	50	124	-	15	102	-	17	108	-	15	107	-
	О	79	98	-	81	103	-	90	99	-	92	101	-
2	В	47	93	-	39	90	-	35	95	-	40	96	-
	О	95	-	-	99	-	-	101	-	-	100	-	-
3	В	100	-	-	107	-	-	124	-	-	105	-	-
	О	84	98	-	77	98	-	95	106	-	88	100	-
4	В	124	-	-	110	-	-	85	-	-	106	-	-
	О	104	-	-	102	-	-	102	-	-	101	-	-
5	В	92	-	-	81	-	-	90	-	-	91	-	-
	Л	21	74	33	2	98	58	6	98	73	7	93	83
	О	144	109	-	125	101	-	157	100	-	134	100	-
6	В	36	89	-	44	81	-	27	76	-	33	81	-
	Л	71	67	70	26	60	38	51	49	54	50	44	68
	О	349	252	96	216	223	99	186	263	99	174	209	101
7	В	0	55	98	0	47	94	0	42	94	0	43	96
	Л	2	71	79	0	56	51	0	66	51	0	50	50
	О	650	224	96	420	156	104	286	177	101	220	168	99

Примечание: В – весна, Л- лето, О – осень; жирным выделены статистически достоверные отличия от К.

Весной острой токсичностью по отношению к простейшим обладали исходные и разведенные в 2 раза экстракты ДО со станций 1-2 ПЛО ТЭЦ-2

($P < 0,05-0,001$). Водные экстракты ДО р. Тура были еще токсичнее, чем в ПЛО ТЭЦ-2. Неразбавленные экстракты 6 и 7 проб (район сброса и на 500 м ниже сброса) вызывали 100%-ную гибель инфузорий.

Водные экстракты донных отложений из ПЛО ТЭЦ-2, отобранные летом, были менее токсичны, чем весенние пробы. Ввиду отсутствия выраженного угнетающего эффекта, биотестирование разведенных исходных растворов не производили. В исходных вытяжках из ДО реки Тура (пробы 6 и 7) так же, как и весной, все парамеции погибали и только при 20-кратном разведении экстрактов этих проб разница с К нивелировалась.

Исходные водные вытяжки проб, отобранных в ПЛО ТЭЦ-2 в осенний период, были менее токсичны, чем весенние, но более токсичные, чем летние. Водные вытяжки ДО исходной концентрации, отобранные на ст. 5, 6, 7 в р. Тура, снижали численность *P. caudatum* относительно К в 1 сут опыта примерно в равной степени, что связано с гибелью низкорезистентных клеток. При разведении экстрактов ДО в 2 (ст. 5, 6, 7) и 5 (ст. 6, 7) раз наблюдалась существенная стимуляция численности простейших по сравнению с К. По-видимому, это связано с разложением органических веществ при повышенных температурах, регенерацией биогенов и цветением воды в ПЛО ТЭЦ-2.

Таким образом, наиболее токсичными являются ДО р. Тура в месте сброса сточных вод ТЭЦ-2 (ст. 6) и на 500 м ниже сброса (ст. 7), особенно отобранных в весенний и летний периоды. В связи с постоянным движением воды в ПЛО происходит взмучивание и переход в воду накопившихся в ДО загрязняющих веществ и вынос их в р. Туру, которая является главной водной артерией юга Тюменской области - источником питьевого, сельскохозяйственного и промышленного водопотребления, а также рыбохозяйственным водоемом. Даны рекомендации по реконструкции ПЛО.

3.4. Исследование миграции загрязняющих веществ из шламовых амбаров (ША).

Объекты, на которых отбирались пробы почв и грунтовых вод, располагаются в Нижневартовском районе ХМАО-Югры на территории Самотлорского месторождения. Территория, расположенная на водоразделе рек Вах и Ватинский Еган, которые являются притоками реки Оби, в значительной степени заболочена, тип грунтов от торфянистых – торфянисто-подзолисто-глеевых до подзолисто-глеевых. Реакция среды кислая – рН – от 4,05 до 6,7. Для целей биотестирования водные экстракты нейтрализовали до рН 6,5-7,5, чтобы исключить дополнительное влияние на гидробионтов. Пробы почв и грунтовых вод отбирались выше ША на 20 м (фон - Ф) и ниже ША - на 1, 10 м по линиям стока.

В таблице 7 приведены результаты химического анализа отобранных проб. Видно, что из 34 проб независимо от того фоновые это пробы или отобранные ниже ША, одна половина содержит повышенное содержание нефтепродуктов (от 325 до 2789 мг/кг), другая – низкое от 34 до 299 мг/кг. В целом в 29 пробах из 34 содержание нефтепродуктов превышает ОДУ_п (100-180 мг/кг), а в некоторых пробах и региональный норматив (100-1000 мг/кг) для

рекультивированных почв (Осипова, Сеидов, 1982; Правила охраны почв..., 1993; Постановление № 466-П ..., 2004). Кроме нефтепродуктов некоторые пробы загрязнены хлоридами (16 проб) и сульфатами (6 проб). В отдельных пробах присутствует повышенное содержание Mn, Pb и Zn, Hg и неидентифицированных ОВ.

Таблица 7 – Содержание некоторых загрязняющих веществ (мг/кг) и токсичность (% к К) проб почв вокруг ША

№ пробы	Нефтепродукты (ОДУп - 100-180 мг/кг)	Хлориды (ПДКп – 266,8 мг/кг)	Сульфаты (ПДКп – 160 мг/кг)	<i>Paramecium caudatum</i>		<i>Ceriodaphnia affinis</i> *	
				численность		выживаемость	плодовитость
				1 сут	4 сут		
1ф	1284	155	108	81	39	80,0	103,6
2	1230	515	210	88	88	60,0	84,6
5Ф	157	31	26	87	92	86,7	78,3
6	46	71	8	90	93	86,7	104,3
9ф	2463	640	108	87	254	86,7	84,6
10	1909	1214	765	115	92	93,3	53,6
13ф	1386	97	69	69	284	0,0	0,0
14	2110	42	72	83	175	33,3	20,0
17Ф	2789	38	63	69	39	93,3	58,5
18	1162	169	305	60	132	0,0	0,0
21ф	747	38	32	48	84	86,7	49,2
22	1028	78	90	35	246	33,3	41,3
25ф	173	8	30	113	150	93,3	21,7
26	129	58	15	111	146	93,3	136,2
29ф	132	11	18	98	87	100	40,6
30	1880	3206	61	73 [#]	102	0,0	0,0
33ф	149	266	22	100	48	66,7	33,8
34	558	2634	78	46	123	0,0	0,0
37ф	101	71	8	66	55	100	33,9
38	103	24	10	64	45	73,3	50,0
41ф	627	356	102	94	62	93,3	125,0
42	87	22	9	64	44	73,3	55,5
45ф	2862	682	86	106	283	60,0	12,3
46	299	3	10	122	132	93,3	121,4
49ф	128	15	16	110	109	93,3	144,6
50	34	8	8	106	123	80,0	100,0
53ф	1737	376	267	84	140	100	184,6
54	126	5	9	57	97	80,0	79,7
57ф	172	20	13	102	155	93,3	72,5
58	2069	761	61	99	172	66,7	62,3
61ф	183	71	21	89	141	46,7	27,7
62	325	2230	98	100	64	93,3	17,4
65ф	115	19	17	88	108	80,0	73,2
66	175	5	6	118	131	53,3	32,1

Примечание: выделены статистически достоверные отличия от К и превышения ПДКп, ОДУп; ф – фоновая проба, 20 м выше ША, следующая за ней проба – 1 м ниже ША; * - данные предоставлены исполнителем раздела темы к.б.н. Рыбиной Г.Е.

В грунтовых водах содержание нефтепродуктов колеблется от 0,02 до 0,08 мг/л и только в 1 пробе № 21ф, где содержание нефтепродуктов в почве не самое высокое (747 мг/кг), содержание нефтепродуктов в грунтовой воде – 0,19 мг/л. Это подтверждает наши данные (Кудрявцев и др., 2009), что тор-

фяные почвы связывают компоненты нефти до 1000-2000 мг/кг (при их определении методом ИК-спектрофотометрии).

Вместе с тем, метод биотестирования фиксирует токсичность водных экстрактов (снижение плодовитости *Ceriodaphnia affinis* на 50 % и более, а также численности парамеций) даже тех проб, где дополнительные токсические факторы ниже ПДК, а содержание нефтепродуктов колеблется от 101 до 325 мг/кг (№№ 29ф, 33ф, 37ф, 38, 42, 66). Пробы, где содержание нефтепродуктов превышает 600 мг/кг (13ф, 14, 17ф, 21ф) и также дополнительные токсические факторы ниже ПДК, наблюдается 50-100 % гибель и снижение плодовитости рачков и численности *P. caudatum*. В пробах, где содержание нефтепродуктов сочетается с высоким содержанием хлоридов, наблюдается полное отсутствие воспроизводства рачков. Только пробы, где содержание НП не превышает 300,0 мг/кг (разработанная нами ПДК для торфяных почв) и содержащие следовые количества дополнительных токсикантов (№ 5ф, 6, 26, 46, 49ф, 50, 54, 57ф, 65ф), не оказывают токсического действия на использованные тест-объекты.

Тестирование грунтовых вод с нативной и нормализованной рН, свидетельствует о том, что в пробе, где содержание нефтепродуктов выше гигиенической и рыбохозяйственной ПДК (№ 21ф), токсичность проявляется и на рачках и на простейших. Но и в тех случаях, когда в воде ИК-методом определяется 0,02-0,04 мг/л (№ 30, 42, 62), отмечается гибель рачков и нарушение функциональной активности простейших. В этих пробах наблюдается высокое содержание хлоридов (выше 1000 мг/л).

Таким образом, почвы (особенно торфяные) могут связывать компоненты нефти до 2000 мг/кг, не отдавая их в грунтовые воды. Однако живые организмы оказываются более чувствительными и реагируют на то содержание нефти в грунтовых водах, которое не выявляется аналитическим методом. Кроме того, тест-организмы реагируют на комплексное воздействие суммы загрязняющих веществ, даже если они содержатся в концентрациях ниже ПДК.

Поэтому методы аналитического анализа оценки загрязненности почв и воды при экоаналитическом контроле следует сопровождать биологическим анализом (методом биотестирования). При этом следует нормализовать рН и определять кроме НП, хлориды, сульфаты и ТМ, особенно в районах нефтедобычи и захоронения отходов.

3.5. Экспериментальные исследования миграционной активности нефтяных углеводородов из нефтезагрязненных почв под контролем биотестирования.

Дистиллированная вода, пропускаемая через слой нефтезагрязненных торфов была закислена - рН 5,3-5,5. Вероятно, она вымывала из них не только компоненты нефти, но и гуминовые и фульвокислоты и другие органические вещества, содержащиеся в матрице торфа (Кудрявцев и др., 2009). Для исключения действия на простейших добавочного фактора, половину фильтрата нейтрализовали, доводя рН до приемлемого для гидробионтов диапазона – 6,5-7,5. Тестировали как нативные, так и выровненные по рН фильтраты.

Полученные опытные данные оценивали как по отношению к K_1 (вода), так и к K_2 (фильтрат незагрязненного торфа).

Из полученных данных (рис. 4) видно, что токсическим действием для простейших обладают фильтраты как нефтезагрязненной, так и контрольной проб (K_2), причем численность инфузорий в 3-й порции фильтрата выше в нейтрализованных, чем в нативных пробах почти в 2 раза. В 4, 5, 6 порциях фильтратов разность с K_1 существенно ниже. Это свидетельствует о том, что первые порции воды вымывают максимальное количество водорастворимых кислот, которые совместно с нефтяными углеводородами существенно влияют на численность простейших. В 4 и 5 порциях, где нефтяные углеводороды аналитически не определялись (не отличались от контрольной пробы), токсичность фильтратов проявлялась в угнетении скорости деления клеток, сопровождающейся снижением численности парамеций на 21-61%, что четко просматривается по отношению к K_1 особенно в фильтратах из максимально загрязненных почв (3,0 и 10,0 г/кг).

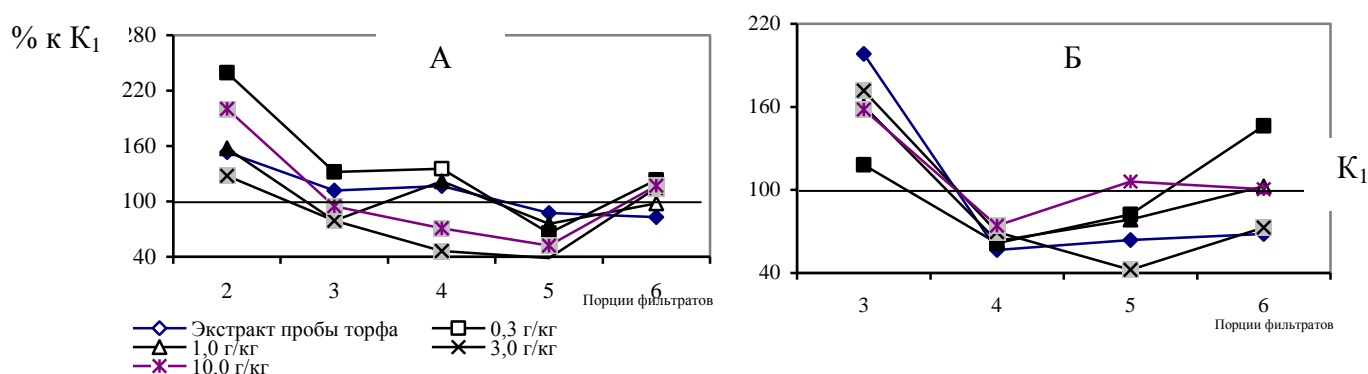


Рис. 4. Численность *P. caudatum* на 4 сутки в нативных (А) и нейтрализованных (Б) фильтрах из торфа, процент к контролю (K_1).

Таким образом, эффект токсического действия на *P. caudatum* обусловлен не только вымываемой из торфа нефтью, но и переходом в фильтрат кислых продуктов торфа, а возможно и других сорбированных торфом компонентов.

3.6. Хроническое действие водных экстрактов нефтезагрязненных почв (торфа и суглинка) на *Paramecium caudatum*.

Специальные исследования по изучению резистентности популяции *P. caudatum* к нефтяному загрязнению и возможности ее адаптации к нефти проводили на двух типах почв, характерных для территории ХМАО-Югры, - верховом торфе и суглинке.

В длительном опыте (16 сут), когда парамеций пересаживали в свежие растворы аналогичной концентрации, а в контроле – в питательную среду (K_1), каждые 4 сут, наблюдалась следующая динамика численности популяции простейших (табл. 8).

Таблица 8 - Сравнительная токсичность водных экстрактов нефтезагрязненных почв (отличия от K_1 , %) для *Paramecium caudatum*

Показатель	Сутки опыта	Торф (1:10)				Суглинок (1:10)			
		0,3 г/кг (O _I)	1,0 г/кг (O ₂)	3,0 г/кг (O ₃)	10,0 г/кг (O ₄)	0,3 г/кг (O _I)	1,0 г/кг (O _{II})	3,0 г/кг (O _{III})	10,0 г/кг (O _{IV})
Численность	1	-2	+16	-12	+14	-6	-35	+3	-31
	2	+37	+2	+1	+26	-10	-39	+21	-44
	3	-19	-48	-40	-40	-20	-39	+33	-14
	4	-22	-61	-35	-39	-37	-60	-7	-3
	8	+317	+226	+340	+173	-18	-21	-5	+16
	12	-4	-3	-46	-53	-20	-29	-37	-11
	16	+58	+103	+115	+128	-33	-66	-58	-35
Фагоцитоз	1	-12	-13	+8	-19	-6	-1	-41	-22
	4	+19	+21	+19	+60	-13	+5	+11	+4
	8	+8	-17	-1	-6	-16	+9	+6	+7
	12	-5	-26	-20	-25	-41	-30	-37	-45
	16	-16	-10	+2	+2	-30	-30	-38	-22

Примечание: выделены статистически достоверные ($P < 0,05$) различия с K_1 .

Сравнивая токсичность водных экстрактов торфа и суглинка, видим, что торфяные экстракты по отношению к K_1 в определенные сроки эксперимента оказывают стимулирующее действие во всем диапазоне исследуемых концентраций: по показателю численности парамеций на 2, 8 и 16 сут, по показателю фагоцитоза – на 4 сут. В остальные сроки наблюдается либо угнетение (3, 4, 12 сут – численность; 1, 8, 12, 16 сут – фагоцитоз), либо отсутствие статистически достоверных отличий от K . В отношении численности *P. caudatum* отмечались четко выраженные фазные изменения: угнетение (3, 4, 12 сут) – стимуляция (8, 16 сут), что свидетельствует о гибели низкорезистентных особей и усиленном размножении высокорезистентных, то есть об адаптационных возможностях культуры *P. caudatum*. Количество фагосом опытных инфузорий в остром опыте (1 сут) с нефтезагрязненным торфом ниже уровня контроля, к 4 сут выше – на 19-60%. В дальнейшем функция пищеварения подавляется, но к 16 сут в варианте с концентрациями нефти в почве 3,0 и 10,0 г/кг количество вакуолей достигает уровня контроля.

Экстракты нефтезагрязненного суглинка во всем диапазоне концентраций угнетают культуру *P. caudatum* за исключением O_{III} на 2 и 3 сут и O_{IV} – на 8 сут. Максимальная степень снижения численности парамеций отмечается для O_{II} (1,0 г/кг) во все сроки регистрации, с максимумом к 16 сут. Максимальное угнетение пищевой активности отмечается к концу опыта (12, 16 сут). В водных вытяжках нефтезагрязненного суглинка у парамеций наблюдается изменение количества пищеварительных вакуолей. Наиболее выраженное снижение числа вакуолей у простейших по сравнению с уровнем K_1 и K_2 прослеживается при максимальном содержании нефти 3,0-10,0 г/кг на 1, 12 и 16 сут.

При анализе динамики численности *P. caudatum* по отношению к фону (K_2) в глинистых субстратах отмечается более четкая картина влияния нефтяного загрязнения. Здесь также наблюдается фазность действия НУВ на

простейших и прослеживается возможность адаптации *P. caudatum* к относительно низким концентрациям нефти в почве (0,3 и 1,0 г/кг) (рис. 5).

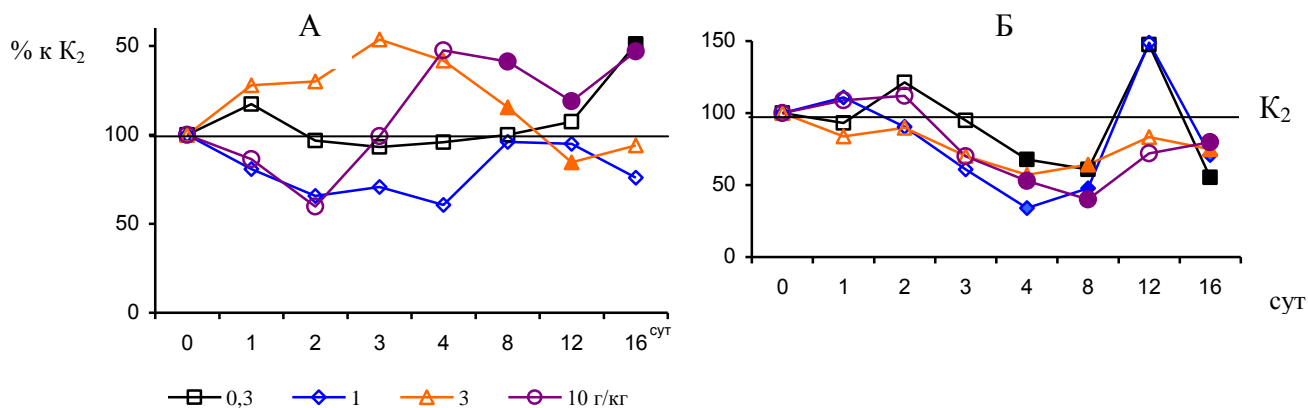


Рис. 5. Численность *Paramecium caudatum* в водных экстрактах нефтезагрязненного суглинка (А) и торфа (Б) относительно K_2 .

Результаты, полученные при изучении хемотаксиса у парамеций в водных вытяжках нефтезагрязненного торфа, показали, что опытные инфузории в 1 сут наблюдения в большинстве случаев (0,3-3,0 г/кг) проявляют положительный хемотаксис (рис. 6). Вероятно, это связано с отбором более резистентных особей к данному уровню нефтяного загрязнения в течение короткого времени. Наблюдается также смена отрицательного хемотаксиса на положительный при изучении водных вытяжек нефтезагрязненного суглинка. При максимальном содержании нефти в почве (3,0 и 10,0 г/кг) в водных экстрактах суглинка отмечен положительный хемотаксис (рис. 7).

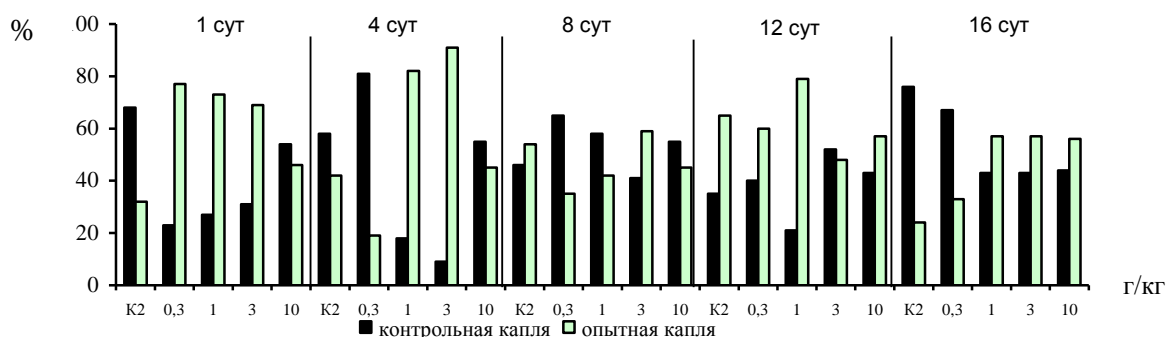


Рис. 6. Хемотаксис *P. caudatum* в водной вытяжке (1:10) нефтезагрязненного торфа.

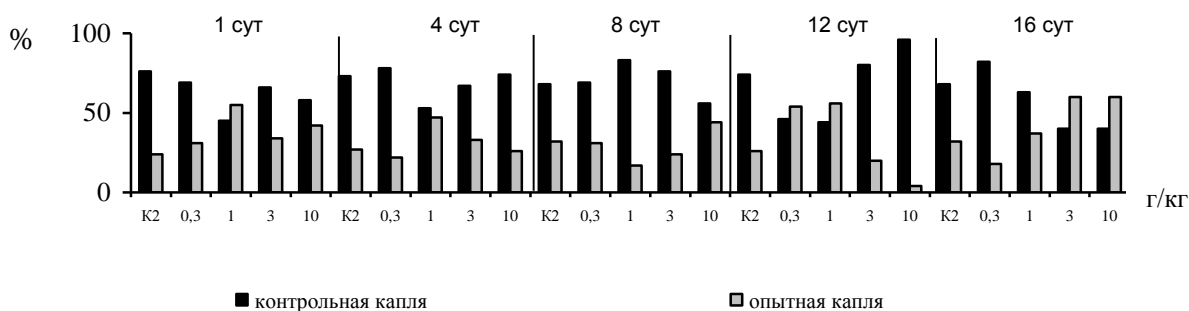


Рис. 7. Хемотаксис *P. caudatum* в водной вытяжке (1:10) нефтезагрязненного суглинка.

Таким образом, такое поведение *P. caudatum* может свидетельствовать об адаптации к данному уровню нефтяного загрязнения, что позволяет простейшим перемещаться в среду с повышенным содержанием корма (нефтеокисляющие бактерии).

3.7. Влияние ПАБК на эффект нефтяного воздействия на *Paramecium caudatum*.

Для выявления адаптационного потенциала популяции простейших к водным экстрактам нефтезагрязненного суглинка была проведена серия экспериментов с использованием репарагена ПАБК (0,001 мг/л).

Установлено, что экстракт нефтезагрязненного суглинка снижал численность и пищеварительную активность парамеций во всем диапазоне концентраций от 0,1 до 100,0 г/кг. Максимальное угнетение культуры наблюдалось на 8 и 16 сут в наибольшей концентрации (табл. 9).

Таблица 9 - Сравнительная токсичность водных экстрактов нефтезагрязненных почв (% к K_1) для *Paramecium caudatum*

Показатель	Сутки опыта	Суглинок (1:10) + нефть					Суглинок (1:10) + ПАБК + нефть				
		0,1 г/кг	1,0 г/кг	5,0 г/кг	10,0 г/кг	100,0 г/кг	0,1 г/кг	1,0 г/кг	5,0 г/кг	10,0 г/кг	100,0 г/кг
Численность	1	-20	-39	-34	-17	-3	+10	+17	+24	-10	+2
	2	-43	-48	-55	-58	-44	-21	-41	-25	-55	-49
	3	-66	-49	-55	-58	-27	-11	-32	-19	-65	-61
	4	-77	-56	-30	-50	-15	+21	-32	-10	-39	-32
	8	-82	-79	-75	-77	-73	+77	+93	+48	+54	+44
	12	-22	-2	-42	-29	-52	-12	-32	-32	-12	-54
	16	-55	-67	-58	-36	-77	+67	+37	+52	+42	+57
Фагоцитоз	1	-28	-34	-36	-19	-28	-22	-18	-6	-25	-18
	4	-27	-22	-30	-24	-14	-13	-26	-32	-24	-19
	8	-19	-33	-28	-20	-16	-23	-38	-41	-44	-46
	12	-7	-14	-20	-8	-9	-23	-34	-20	-8	-9
	16	-22	-64	-7	-29	-16	-16	-12	-6	-26	-13

При добавлении ПАБК (0,001 мг/л) угнетение (снижение численности), наблюдаемое на 2 и 3 сут опыта, сменилось стимуляцией в минимальной концентрации с 4 сут, в остальных – с 8 сут. За снижением численности парамеций на 12 сут последовало новое увеличение к концу эксперимента (16 сут). То есть, начиная с 8 сут, популяция *P. caudatum* вышла на новый уровень обмена, заработал механизм отбора. В отношении фагоцитоза существенного влияния ПАБК не обнаружено (см. табл. 9).

Хемотаксис. Контрольные особи равномерно распределялись в обеих каплях. В первые 15 минут экспозиции (в 1 сут) парамеции из растворов нефтезагрязненного суглинка перемещались в чистую среду (рис. 8), причем наиболее сильно это было выражено в максимальных концентрациях нефти в почве 10,0-100,0 г/кг. К 4 сут эта тенденция сохранялась особенно в концентрации 100,0 г/кг. С 8 сут опытные инфузории стали перемещаться в загрязненную каплю, то есть менять отрицательный хемотаксис на положительный во всех опытных вариантах.

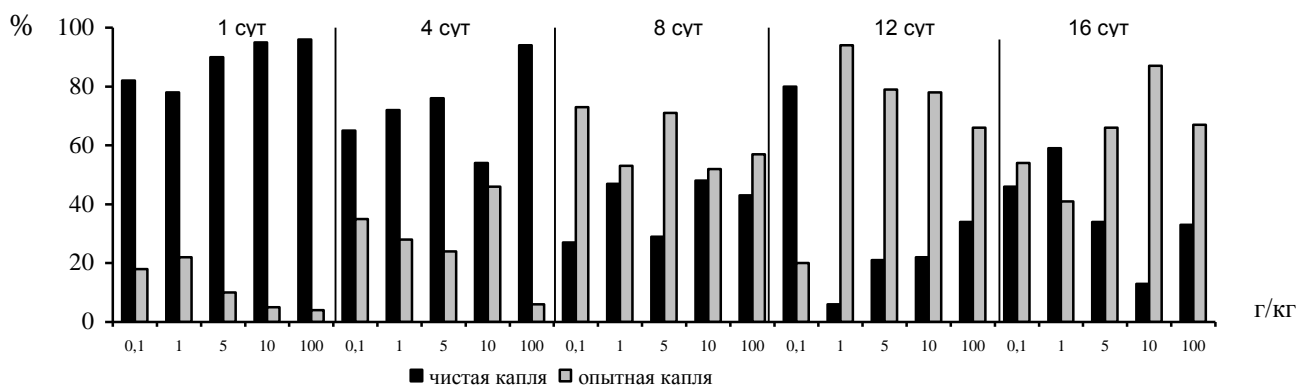


Рис. 8. Хемотаксис *P. caudatum* в водной вытяжке (1:10) нефтезагрязненного суглинка.

При изучении ответной реакции *P. caudatum* на действие водных вытяжек из нефтезагрязненного суглинка с ПАБК наблюдали положительный хемотаксис (рис. 9), начиная с 1-х сут. И это также наиболее характерно было для особей парамеций из экстракта наиболее загрязненной почвы (100,0 г/кг). Это свидетельствует о более быстрой адаптации *P. caudatum* к нефтяному загрязнению в присутствии репарагена ПАБК и повышению устойчивости к более высоким концентрациям.

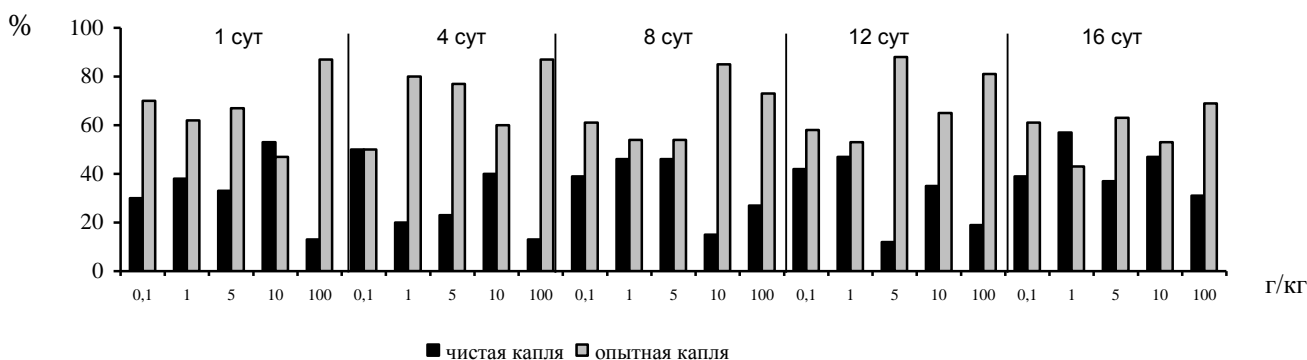


Рис. 9. Хемотаксис *P. caudatum* в водной вытяжке (1:10) нефтезагрязненного суглинка и ПАБК.

Таким образом, репараген ПАБК активизирует защитные механизмы простейших. Эффект нарастает по мере отбора наиболее резистентных клеток и к 8 сут наблюдается наиболее существенные перестройки в популяции, что позволяет ей адаптироваться даже к таким концентрациям нефти в почве (10,0-100,0 г/кг), которые являются летальными в отсутствие ПАБК для *P. caudatum* и других организмов (Ратушняк и др., 2000; Ковальчук и др., 2001; Алексеенко, 2004) и.

ВЫВОДЫ

1. Исследованные водоемы города Тюмени по влиянию на состояние лабораторной культуры *Paramecium caudatum* в разные сезоны года оценены как токсичные на уровне от «умеренной» до «очень высокой» (4-1 класс токсичности), по суммарному химическому показателю (ИЗВ₆) – как «умеренно загрязненные» - «чрезвычайно грязные» (III-VII класс качества). Ни в одном из 13 исследованных водных объектов, а также ПЛО ТЭЦ-2 и р. Тура, не

обеспечено соблюдение рыбохозяйственных и санитарно-гигиенических критериев качества воды и ДО.

2. Установлена высокая статистически значимая корреляционная связь ($\eta > 0,7$) между токсичностью воды и донных отложений и содержанием в них тяжелых металлов, хлоридов, биогенов и рН. Кластеризация исследованных водоемов по химическому составу воды и донных отложений не всегда совпадает с таковой по критерию биотестирования, поскольку степень токсичности обусловлена как синергическим, так и антагонистическим действием загрязняющих веществ.

3. Важным источником загрязнения почв, поверхностных и подземных вод на территории ХМАО-Югры являются шламовые амбары, поставляющие в почвы сопредельных ландшафтов нефтяные углеводороды, хлориды, сульфаты, некоторые тяжелые металлы и неидентифицированные органические вещества, токсичность которых выявляется методами биотестирования даже при концентрациях ниже ПДК.

4. Исследование фильтрации нефти через 20 см слой почв показало, что торф и суглинок связывают и удерживают значительное количество веществ нефти (примерно, 1 г/кг), но механизмы связывания различны: в первом случае это объемная сорбция пористой гуминовой матрицей, во втором – удерживание молекул углеводородов коллоидно-пленочной системой.

Биотестирование позволяет зафиксировать токсическое действие даже тех фильтратов, в которых содержание нефтепродуктов стандартным методом ИК-фотометрии не обнаруживается (то есть не превышает фоновый уровень чистой пробы).

5. Совместное действие в течение 4-х часов рН+NaCl, NaCl+ВРФН и рН+NaCl+ВРФН усиливает токсичность (100%-ная гибель парameций), рН+ВРФН – ослабляет (гибель парameций 23,5%).

6. Хроническое действие (16 сут) на *P. caudatum* водных экстрактов модельно-загрязненных почв сопровождается фазными изменениями численности, фагоцитоза и хемотаксиса простейших с нормализацией или стимуляцией к концу эксперимента, что свидетельствует об адаптивных возможностях популяции *Paramecium caudatum* к нефтесодержащим почвам (до 3 г/кг) за счет отбора наиболее резистентных форм. Парааминобензойная кислота снижает эффект нефтяного воздействия на *P. caudatum* и повышает их устойчивость к экстремально высокому содержанию нефти (100 г/кг).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Акатьева Т.Г., Гордеева Ф.В. Исследование токсичности донных отложений пруда-ливнеотстойника ТЭЦ-2 и р. Тура в районе сброса сточных вод // Тезисы докладов Международной конференции «Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем». (РАН, Институт озероведения РАН, ГБО РАН, 23-27 октября 2006 г.) – С.-П., 2006. - С. 3.

2. Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В., Акатьева Т.Г. Исследование токсичности донных отложений (ДО) пруда-ливнеотстойника (ПЛО) ТЭЦ-2 и реки Тура в районе сброса стоков ТЭЦ // Материалы конференции молодых уче-

ных «Наука и образование аграрному производству», декабрь 2006 г. – Тюмень: ТГСХА, 2006. - С.19-21.

3. Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В. Исследование токсичности донных отложений (ДО) некоторых обособленных водных объектов города Тюмени методом биотестирования с помощью *Paramecium caudatum* // Сборник материалов Региональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Аграрная политика на современном этапе», 26 апреля 2007 года. – Тюмень: ТГСХА. - С.16-21.

4. Михайлова Л.В., Рыбина Г.Е., Масленко Е.А., Гордеева Ф.В. Эколого-токсикологическое исследование некоторых обособленных водных объектов на территории города Тюмени // Тезисы докладов конференции «Чистая вода» - Тюмень, 2007. – С. 20-24.

5. Михайлова Л.В., Кузьмина Т.А., Рыбина Г.Е., Масленко Е.А., Гордеева Ф.В. Токсикологические проблемы в районах нефтедобычи Западной Сибири // Материалы международной академической конференции «Состояние, тенденции и проблемы развития нефтегазового потенциала Западной Сибири» (г. Тюмень, 20-22 ноября 2007 года). – Тюмень: ФГУП «ЗапСибНИИГГ», 2008. – С. 416-423.

6. Каурова Ж.В., Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В. Влияние воды и донных отложений (ДО) обособленных водных объектов города Тюмени на функциональные показатели инфузорий *Paramecium caudatum* // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов (11-13 марта 2008 года) «Повышение эффективности сельскохозяйственного производства в Северном Зауралье». – Тюмень: ТГСХА, 2008. - С. 137-140.

7. Михайлова Л.В., Гордеева Ф.В. Химическая и токсикологическая оценка состояния почв вокруг шламовых амбаров (ША) // Материалы III Всероссийской конференции по водной токсикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы»; конференции по гидроэкологии «Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок». 11-16 ноября 2008 г. Ч.3. – Борок, 2008. – С. 93-97.

8. Михайлова Л.В., Рыбина Г.Е., Масленко Е.А., Гордеева Ф.В. Эколого-токсикологическое состояние обособленных водных объектов на территории города Тюмени за 2007 г // Тезисы докладов конференции «Чистая вода» - Тюмень, 2008. – С. 25-27.

9. Кудрявцев А.А., Михайлова Л.В., Рыбина Г.Е., Гордеева Ф.В., Знаменщиков А.Н., Ключова И.А. Исследование миграционной активности и трансформации нефти в почвах верховых болот ХМАО под контролем биотестирования // Материалы международной академической конференции «Состояние, тенденции и проблемы развития нефтегазового потенциала Западной Сибири» (г. Тюмень, 17-19 сентября 2008 года). – Тюмень: ФГУП «ЗапСибНИИГГ», 2009. – С. 553-557.

10. Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В. Оценка токсичности донных отложений (ДО) некоторых водных объектов города Тюмени методом биотести-

рования // Сборник материалов Региональной конференции молодых ученых «Современные тенденции Развития АПК в Северном Зауралье». – Тюмень: ТГСХА, 2009. – С. 223-225.

11. Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В. Исследование токсичности воды и донных отложений некоторых прудов города Тюмени // Вестник Тюменской Государственной Сельскохозяйственной Академии. – Тюмень: издательско-полиграфический комплекс ТГСХА, 2009. - №1(8) 2009. - С. 38-44.

12. Гордеева Ф.В., Михайлова Л.В., Петухова Г.А. Функциональные показатели *Paramecium caudatum* в водных экстрактах нефтезагрязненного торфа // Вестник Тюменского государственного университета. - Тюмень: ТГУ, 2009. - №3. – С. 232-237.

13. Гордеева Ф.В., Рыбина Г.Е. Качество воды и донных отложений водоемов города Тюмени, определяемое по тест-реакциям *Paramecium caudatum* и *Ceriodaphnia affinis* // Первая конференция молодых ученых NACCE (28-29 апреля 2009 г., г. Тюмень, Россия) ВОПРОСЫ АКВАКУЛЬТУРЫ. Тезисы докладов. Тюмень, Госрыбцентр, 2009. – С. 13-14.

Gordeeva F.V., Rybina G.E. Quality of water and bottom sediments of water bodies of the city of Tyumen, defined on the basis of test reactions of *Paramecium caudatum* and *Ceriodaphnia affinis* // The First NACCE Conference of Young Researchers (28-29 April 2009, Tyumen, Russia) ISSUES OF AQUACULTURE. – С. 67-68.

14. Михайлова Л.В., Рыбина Г.Е., Масленко Е.А., Гордеева Ф.В. Сравнительная оценка токсичности и загрязненности донных отложений некоторых водных объектов города Тюмени методами корреляционного и многомерного (кластерного) анализа // Аграрный вестник Урала, 2009. - №11 (65). – С. 97-99.

15. Масленко Е.А., Рыбина Г.Е., Гордеева Ф.В. Тестирование торфяных почв с площади водосбора рек ХМАО с помощью разных тест-объектов // Тезисы докладов X Съезда Гидробиологического общества при РАН (г. Владивосток, 28 сентября – 2 октября 2009 г.) / Отв.ред. Алимов А.Ф., Адрианов А.В. – Владивосток: Дальнаука, 2009. - С. 258-259.

Автор выражает глубокую благодарность д.б.н. Галине Александровне Петуховой за теоретическую и практическую подготовку при определении адаптационного потенциала простейших, а также всем сотрудникам кафедры водных биоресурсов и гидроэкологии за помощь и поддержку, а также с.н.с. ФГУП «Госрыбцентр» - А.И. Коваленко и к.ф.-м.н. А.А. Кудрявцеву за выполнение химического анализа.

Особую признательность и благодарность выражаю моему научному руководителю к.б.н. Людмиле Владимировне Михайловой за постоянную помощь при выполнении, обсуждении и написании диссертации.

Подписано в печать 16.03.2010. Тираж 100 экз.
Печать трафаретная. Заказ 057.
Отпечатано в печатном цехе «Ризограф»
Тюменского Аграрного Академического Союза
625003, г. Тюмень, ул. Республики, 7