

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НЕФТЕПРОДУКТОВ
НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
*DAPHNIA MAGNA STRAUS***

© 2018 Д.Н. Перегудов, А.В. Васильев, В.В. Заболотских

Самарский государственный технический университет, Самара (Россия)

Поступила 21.05.2018

В данной статье рассматривается воздействие различных видов нефтепродуктов и их смесей на морфометрические параметры ветвистоусых ракообразных *Daphnia magna* Straus.

Ключевые слова: ветвистоусые ракообразные; биомониторинг; морфология; токсиканты; нефтепродукты; сырая нефть; дизельное топливо; моторное масло.

Peregudov D.N., Vasiliev A.V., Zabolotskikh V.V. Influence of different kinds of oil products on the morphometric parameters of *Daphnia magna* Straus. - This article examines impact of different types of petroleum products and their mixes on the morphometric parameters of the cladoceran *Daphnia magna* Straus.

Key words: cladoceran; bioindication; morphology; toxicants; petroleum products; raw oil; diesel fuel; engine oil.

ВВЕДЕНИЕ

Водные объекты Самарской области характеризовались умеренным уровнем суммарного загрязнения.

Загрязнение водных объектов связано с отсутствием в ряде районов области очистных сооружений, удовлетворяющих установленным требованиям (Розенберг и др., 2007).

В условиях развитой автомобильной промышленности и все увеличивающегося уровня автомобилизации населения водоемы испытывают на себе влияние различных нефтепродуктов (нефтяных углеводородов) – бензина, дизельного топлива, моторного масла и т.д.

Нефтепродукты действуют на все группы организмов, обитающих в поверхностном слое, в толще воды, а также в донном грунте. Наибольшую опасность для гидробиоты представляют водорастворимые и диспергированные компоненты нефти.

В первую очередь от повышенных концентраций нефтепродуктов страдают планктонные ракообразные, а также личиночные формы

многих беспозвоночных и рыб (Черкашин, 2005).

Данные группы гидробиоты более чувствительны к воздействию углеводородов, чем другие. При этом, вопрос о минимально допустимых концентрациях углеводородов для здоровья животных остается открытым (Rice, 1977).

Кроме прямого токсического эффекта, вред пресноводным биоценозам причиняет такая особенность нефтепродуктов, как создание ими пленки на поверхности водоемов.

Таким образом, в связи с дальнейшим развитием техногенной инфраструктуры на территории, все большее значение для рациональной хозяйственной деятельности человека приобретает мониторинг экологического состояния экосистем.

Биомониторинг имеет ряд преимуществ перед другими видами мониторинга состояния окружающей среды – относительная простота, отсутствие необходимости в дорогостоящих реактивах и оборудовании, информативность.

Не существует универсального критерия по отношению к оценке всех многообразных факторов антропогенного воздействия (Моисеенко, 2010).

Таким образом, важна разработка новых методов биомониторинга.

С этой целью необходим поиск новых организмов-индикаторов, а также эффективных в

Перегудов Дмитрий Николаевич, магистрант; *Васильев Андрей Витальевич*, доктор технических наук, профессор, ecology@samgtu.ru; *Заболотских Влада Валентиновна*, кандидат биологических наук, доцент, V.Zabolotskikh@yandex.ru

оценке состояния экосистем индикационных признаков.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Под биологическими объектами понимаются любые биологические системы на различных уровнях организации живой материи (молекулы органических веществ, клетки, ткани, органы, организмы, популяции, виды, группировки, сообщества организмов).

При этом в целях биомониторинга используются генетические, биохимические и физиологические нарушения хромосом, биомембран, органелл, обмена веществ, активности ферментов и гормонов.

Кроме того - морфологические, анатомические, биоритмические и поведенческие отклонения.

Из исследований, проводимых Robert Mazur, Wu Shubiao, Krzysztof Szoszkiewicz, Dawid Bedla и Agata Nowak ясно, что морфологические отклонения, заметные под оптическим микроскопом, личиночных форм брюхоногих моллюсков являются ответом на ацидификацию и алкализацию воды (Mazur, Shubiao, 2016).

Патологические изменения в тканях печени (некрозы и дистрофия, а также двуядерность и прочие аномалии ядер гепатоцитов) характерны для костных рыб (*Carassius carassius* L.) из значительно антропогенно нарушенных водоемов (Дробот и др., 2011).

Патологии на организменной уровне в биомониторинге обычно применимы к высокоорганизованным, имеющим значительные размеры, организмам нектона и бентоса.

При оценке состояния пресноводных экосистем по зоопланктону используются параметры популяций и экосистем – индекс видового разнообразия Шеннона и Симпсона, индекс видового богатства Маргалефа, индекс доминирования Паляя-Ковнацки и т.д.

При этом, морфологические и физиологические параметры планктонных гидробионтов нечасто используются в биомониторинге.

Тем не менее, изменения морфологических, физиологических и поведенческих параметров *Daphnia magna* Straus изучались как ответы их организмов на отравление – выдавливание яиц из выводковой камеры, реакция вращения вокруг своей оси, изменения кардиограммы и интенсивности дыхания.

Данные реакции являются ответом на острую токсичность и чаще всего являются предвестием гибели животных. Тогда как хроническая токсичность, вызванная низкими кон-

центрациями токсикантов, способна вызвать изменения на организменном уровне.

Например, в работе Shigeto Oda, Takayuki Hanazato и Koichi Fujii описываются морфологические изменения форсы головы у *Daphnia galeata* под влиянием кайромонов хищников, личинок *Chaoborus* (Oda, Hanazato, Fujii, 2007).

В представленном в данной статье экспериментальном исследовании в качестве индикационного признака использовались морфометрические параметры *D. magna* Straus.

Цель работы - определить зависимость морфометрических параметров *D. magna* Straus от присутствия определенных токсикантов углеводородного происхождения (бензина, дизельного топлива и т.д.), а также их смешивания.

В водоемах, находящихся в черте города, гидробионты сталкиваются с синергическим эффектом воздействия нескольких видов загрязнителей, нескольких видов нефтепродуктов. Например, дизельное топливо часто смешивается с моторным маслом.

Добавление смазки в дизельное топливо способствует лучшей работе двигателя внутреннего сгорания, снижению шума и предотвращению аварийных ситуаций.

Таким образом, весьма вероятно попадание смесей нефтепродуктов в находящиеся в зоне эксплуатации автотранспорта водоемы.

Научное обоснование работы основано на биологическом ответе организма на стрессор, которым в данном случае является присутствие токсических веществ.

ХОД РАБОТЫ

Особи *D. magna* Straus для текущих исследований были получены в ООО «Институт химии и инженерной экологии». Работы проводились в лабораториях Тольяттинского Государственного Университета (ТГУ).

Во время подготовки эксперимента, 15-25 дафний пересаживались в 1-литровую емкость, заполненную культивационной водой.

С помощью климатостата поддерживалась температура в 20,3 градусов Цельсия.

Кормление производилось 1 раз в неделю разбавляемым экстрактом водорослей *Chlorella*, получаемым с помощью центрифуги Model 80-2S. Процедура осуществлялась в соответствии с адаптированной методикой ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06.

Для содержания дафний использовалась культивационная вода – водопроводная вода, отстаивавшаяся в течение 2-3 суток и подвергшаяся аэрации.

ЭКСПЕРИМЕНТ № 1

Из культивационной емкости отбираются 3 группы по 20 особей и пересаживаются в 3 отдельные емкости вместительностью 250 мл.

1-я группа становится контрольной. Ее емкость помечалась как «К».

2-я группа помечалась как «А». В эту емкость добавлялся раствор сырой нефти (разбавлением 1 к 100).

3-я группа помечалась как «Б». В эту емкость добавлялся раствор моторного масла (разбавлением 1 к 100).

После добавления токсикантов в группе «А» в к 19.06.2017 погибли 4 особи, тогда как в группе «Б» - 2 особи. При этом, в контрольной группе «К» за весь период наблюдений не погибло ни одной особи.

Производились замеры особей в каждой из 3 емкостей, при помощи оптического бинокулярного микроскопа МБС-10 с измерительной сеткой. Цена деления – 2,5 мкм.

Измерения производились на живых особях в капле воды – от головы до анальной иглы карапакса ракообразного. После замеров особи возвращались в емкость, откуда были изъяты.

Замеры проводились в течение месяца (nf,k/1-3).

Таблица 1. Замер 1 (09.06.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»
1	8	6,2	8
2	6,8	8	7
3	6,3	6	6,3
4	6	6	7,3
5	6	6	6
6	6	6	6
7	7,2	7	7
8	6	6	6
9	6,2	6	6,2
10	7	7	7

Таблица 2. Замер 2 (14.06.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»
1	11	8,9	10
2	10	9	11
3	10	8	9
4	11,5	8	9
5	6	7,1	7,5
6	6	7	8
7	7,2	7	9
8	6	8	9
9	6,2	7	7
10	7	8	8

Таблица 3. Замер 3 (19.06.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»
1	12,5	9	12
2	15,5	10	14
3	13	9	10
4	16	8	11
5	14	8	9,8
6	14	9	12
7	12	8	12
8	16	8	10
9	15,5	8	11
10	12	9	10

Таким образом, средняя длина выборок в Эксперименте № 1 составила:

- во время замера 1 – 6,55 для группы «К», 6,42 для группы «А», 6,68 для группы «Б».
- во время замера 2 – 8,09 для группы «К», 7,8 для группы «А», 8,75 для группы «Б».
- во время замера 3 – 14,05 для группы «К», 8,6 для группы «А», 11,18 для группы «Б» (Рисунок 1)

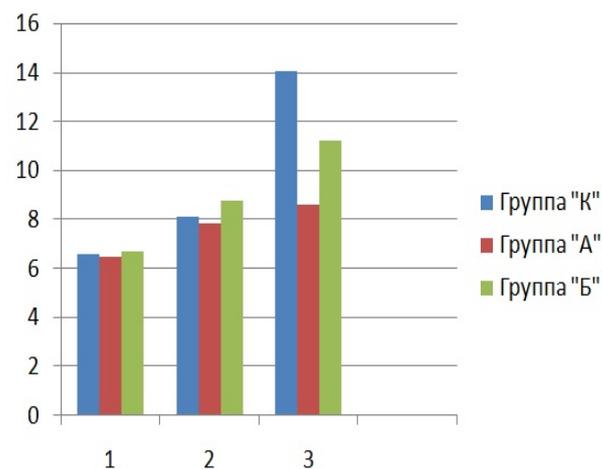


Рис. 1. Гистограмма средних значений морфометрических параметров *Daphnia magna* Straus за 3 замера (Эксперимент 1).

ЭКСПЕРИМЕНТ № 2

Из культивационной емкости отбираются 4 группы по 20 особей и пересаживаются в 4 отдельные емкости вместительностью 250 мл.

1-я группа становится контрольной. Ее емкость помечалась как «К».

2-я группа помечалась как «А». В ее емкость добавлялся раствор дизельного топлива (разбавлением 1 к 100).

3-я группа помечалась как «Б». В ее емкость добавлялся раствор моторного масла (разбавлением 1 к 100).

4-я группа помечалась как «В». В ее емкость добавлялась раствор смеси дизельного топлива и моторного масла (разбавлением 1 к 100).

Результаты в таблицах 4-6.

Таблица 4. Замер 1 (10.10.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»	Группа «В»
1	7	6,7	6,9	7
2	6,3	6	6	6
3	6,3	6	6,2	6,3
4	6	5,7	6	6
5	6,5	6	6	5,9
6	6	6,2	6,5	6,5
7	7	6	6,5	6,6
8	6,3	6	6	6
9	6	6	6	5,9
10	6	5,8	6	5,8

Таблица 5. Замер 2 (17.10.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»	Группа «В»
1	10	7	8	7
2	9,7	7	8	6,2
3	9,7	7,5	7,5	6,7
4	11	8	9	7
5	8	7,1	7,6	6
6	8	7	8	7
7	8,3	6,7	7,6	7
8	7,5	7	7	6,3
9	7,5	6,5	7	6
10	8	6,5	7	6

Таблица 6. Замер 3 (23.10.2017)

№ особи	Группа «К»	Группа «А»	Группа «Б»	Группа «В»
1	12	8	10	7
2	15	8,1	10	6,5
3	11	8,5	8,7	7
4	15	8,5	11	7,2
5	12	8	10	7
6	11	7,5	9,5	7,5
7	12	7	9	8
8	10	8	8	6,9
9	11	7,5	9	6,2
10	10	8	8,5	6

Таким образом, средняя длина выборок в Эксперименте № 2 составила:

- во время замера 1 – 6,34 для группы «К», 6,04 для группы «А», 6,21 для группы «Б», 6,02 для группы «В».

- во время замера 2 – 8,77 для группы «К», 7,03 для группы «А», 7,67 для группы «Б», 6,52 для группы «В».

- во время замера 3 – 11,09 для группы «К», 7,91 для группы «А», 9,37 для группы «Б», 6,93 для группы «В» (рис. 2).

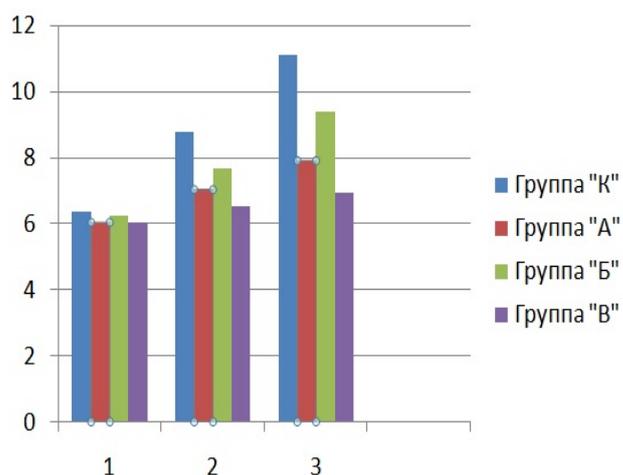


Рис. 2. Гистограмма средних значений морфометрических параметров *Daphnia magna* Straus за 3 замера (Эксперимент 2).

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании результатов Эксперимента № 1 можно сделать вывод, что средняя длина особей *Daphnia magna* Staus наименьшая в группе «А», где в качестве токсиканта использовалась сырая нефть.

Далее следует оценка значимости зафиксированных различий по t-критерию Стьюдента. Было произведено сравнение «К» и «А», а затем «К» и «Б».

Согласно расчету t-критерия Стьюдента, эмпирическое значение t для выборок «К» и «А» находится в зоне значимости (9.9).

Также согласно расчету t-критерия Стьюдента, эмпирическое значение t для выборок «К» и «Б» находится в зоне значимости (4.3).

Таким образом, сырая нефть показала себя более токсичной, чем моторное масло.

При этом, согласно результатам Эксперимента № 2, средняя длина особей к 3-му замеру была наименьшей в группе «В», где использовалась смесь дизельного топлива и моторного масла.

Была проведена оценка значимости различий по t-критерию Стьюдента между группами «К» и «А», «К» и «Б», а также «К» и «В».

Согласно расчету t-критерия Стьюдента, эмпирическое значение t для выборок «К» и «А» находится в зоне значимости (6.9). В свою очередь, эмпирическое значение t для выборок «К» и «Б» также находится в зоне значимости (4).

Согласно расчету t-критерия Стьюдента, эмпирическое значение t для выборок «К» и «В» также находится в зоне значимости (8.4).

Таким образом, синергический эффект нескольких разновидностей токсикантов даже в низких концентрациях оказывает более значительный эффект на морфологические параметры планктонных гидробионтов.

ВЫВОД

По итогам проведенных исследований можно заключить, что морфометрические параметры ветвистоусых ракообразных являются эффективным индикационным признаком токсического воздействия нефтепродуктов.

Кроме того, особи *D. magna* Straus по-разному отвечают на различные виды загрязни-

телей. Смесь различных видов нефтепродуктов оказала более значительный эффект на морфометрические параметры кладоцер, чем эти вещества по отдельности.

Таким образом, данный индикационный признак может быть эффективно использован в биомониторинге экологического состояния водоемов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Дробот Г.П., Трубачева В.С., Малюта О.В., Васин С.Г., Павловская О.И. Гистоморфометрические характеристики печени рыб как биоиндикаторы качества водной среды // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование. 2011. С. 101-107.

Моисеенко Т.И. Биологические методы оценки качества вод: Часть 1 // Биоиндикация. Вестник Тюменского государственного университета 2010. № 7.

Розенберг Г.С., Саксонов С.В., Евланов И.А. и др. Голубая книга Самарской области: редкие и охраняемые гидробиоценозы. Самара: СамНЦ РАН, 2007. 200 с.

Черкашин С.А. Отдельные аспекты влияния углеводородов нефти на рыб и ракообразных // Вестник ДВО РАН. 2005. № 3.

Mazur R., Shubiao W., Szoszkiewicz K., Bedla D., Nowak A. *Lymnaea stagnalis* Embryo Test for Toxicity Bioindication of Acidification and Ammonia Pollution in Water // Water. 2016. 8(7).

Oda, S., Hanazato T., Fujii K. Change in phenotypic plasticity of a morphological defence in *Daphnia galeata* (Crustacea: Cladocera) in a selection experiment // Journal of Limnology. 2007. 66 (2).

Rice S.D. Comparative oil toxicity and comparative animal sensitivity // Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms 1977. P. 78-94.