

УДК 615.9(574.64:5935.3)

И.Н. Коновец, Э.П. Щербань, О.М. Арсан

Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ТОКСИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ОПЫТОВ НА ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ

При установлении максимальной недействующей концентрации токсикантов (NOEC) для ветвистоусых ракообразных, величина которой является одним из основных показателей при определении предельно допустимых концентраций веществ в воде, основное внимание уделяется анализу изменений плодовитости этих тест-объектов в хронических опытах на нескольких поколениях. Трудно переоценить важность результатов этих исследований для установления NOEC, однако проведение таких опытов является весьма длительным и трудоемким процессом, что неизбежно сказывается на их стоимости.

Стремление к удешевлению подобных исследований привело к разработке новых подходов при определении NOEC. В ряде развитых стран были стандартизированы кратковременные тесты, основанные на изучении смертности и плодовитости цериодафний на протяжении недельных опытов [1, 2]. Это, в свою очередь, вызвало необходимость применения «коэффициентов неопределенности» для расчета недействующей концентрации [3] и научный спор по поводу надежности этого подхода не утихает по сей день. В качестве альтернативы, поддерживаемой и авторами этой статьи, в последнее время получили также применение экстраполяционные модели [4], использующие для определения NOEC набор различных субхронических показателей и включающие элементы математического моделирования.

Целью настоящего исследования явилась попытка использовать метод токсикологических нагрузок для получения дополнительной информации о действии токсикантов, а также изучение явления адаптации к хронически сублетальным концентрациям токсикантов.

Хронические опыты проводили на пяти поколениях (F0–F4) *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Использовали отстоявшую преэрированную днепровскую воду, pH 7,5, температура 19 ± 1 °C. Начальная численность бактериопланктона при периодической смене среды колебалась в течение эксперимента от 3,2 до 6,2 млн. кл/мл, а фитопланктона (зеленые водоросли) – от 2,8 до 5,0 млн. кл/мл.

Цериодафний содержали в сублетальных концентрациях (0,01, 0,1, 0,5 и 2,5 мг/л) препарата купроксил (содержание $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10%). Концентрации купроксила готовили последовательным разбавлением более высоких концентраций.

Для проведения опытов по определению медианного летального времени (LT_{50}) к концентрации купроксила 20 мг/л отбирали 4–8-часовую молодежь F3 *C. affinis*, предки которой (F0–F2) были выдержаны в сублетальных концентрациях, описанных выше. Численность молодежи в острых опытах составляла около 100 экз. Расчет LT_{50} и анализ распределения проводили по общепринятым методам при помощи программы Statistica (Statsoft).

Анализ зависимости медианного летального времени молодежи F3 от величины хронической (т.е. преадаптивной) концентрации в опытах с поколениями F0–F2 показывает, что при 0,01, 0,1 и 0,5 мг/л препарата происходит статистически достоверное повышение резистентности *C. affinis* к купроксилу (табл. 1). При этом LT_{50} молодежи в концентрации 0,1 мг/л на 37,5% больше, чем у контроля.

Таблица 1

Влияние преадаптации к сублетальным концентрациям купроксила на медианное летальное время молодежи F3 *C. affinis* к 20 мг/л препарата

Концентрация преадаптации, мг/л	Показатели смертности в остром опыте			
	$LT_{50} - M_e$, мин	\bar{X} , мин	s_n , мин	CV, %
Контроль	104,5	104,7	30,3	28,9
0,01	138,5	135,2	35,2	26,0
0,1	143,7	147,9	38,7	26,2
0,5	127,2	132,4	33,9	25,6
2,5	43,4	66,0	35,7	54,1

Примечание: разница средних величин контроля и опытов достоверна, $P < 0,01$
разница коэффициентов вариации опыта и контроля достоверна, $P < 0,01$

Увеличение преадаптационной концентрации до 2,5 мг/л приводит к падению LT_{50} на 58,5 %, существенному смещению медианной величины относительно среднего значения в сторону менее толерантных особей, а также достоверному увеличению изменчивости признака по сравнению с контролем. Последнее свидетельствует о значительном увеличении разнокачественности потомства под влиянием этой концентрации купроксидла на предыдущие три поколения *C. affinis*. При этом распределение смертности не подчиняется нормальному распределению как по критерию асимметричности ($t_{As}=4,92$), так и по критерию Колмогорова-Смирнова ($P<0,01$) (рис. 1)

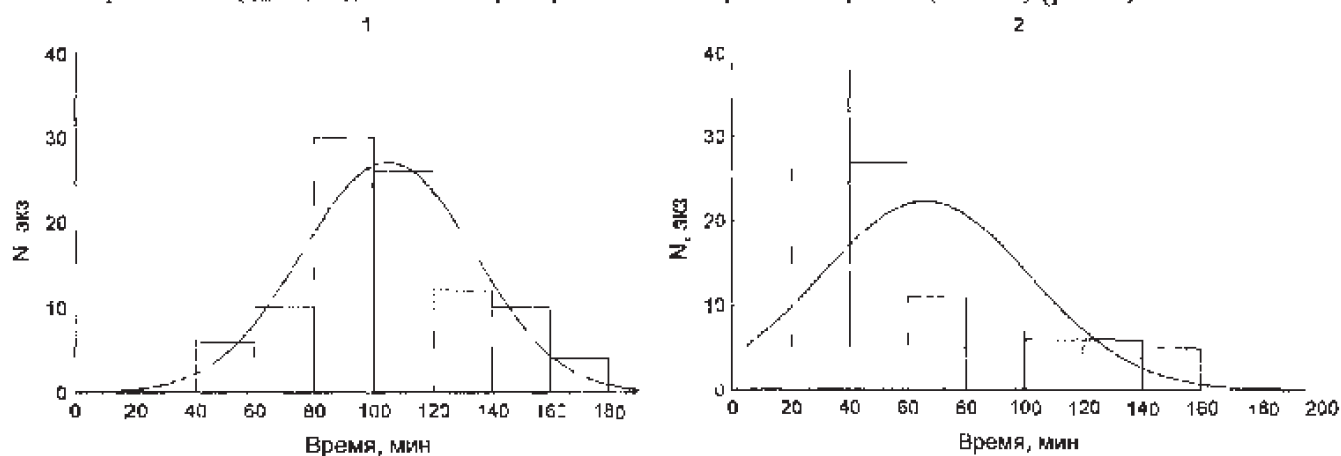


Рис. 1. Гистограммы распределения летального времени *C. affinis* при воздействии 20 мг/л купроксидла: 1 – контроль; 2 – 2,5 мг/л препарата. Шпильчатая линии – ожидаемое нормальное распределение

Несмотря на приобретенную повышенную толерантность молодежи F3 в концентрациях 0,01–0,5 мг/л, их плодовитость была несколько меньшей, чем в контроле (табл. 2). Принимая во внимание отсутствие концентрационной зависимости этого показателя в данном диапазоне концентраций, это явление можно объяснить опосредованным воздействием купроксидла на плодовитость самок, например, снижением пищевого рациона вследствие угнетения фито- и бактериопланктона в период между сменами среды

Таблица 2

Влияние сублетальных концентраций купроксидла на плодовитость самок F3 и F4 в трех первых пометах

Концентрация, мг/л	F3		F4	
	\bar{X} , экз	s_{20} , экз	\bar{X} , экз	s_{20} , экз
Контроль	22,0	3,9	22,0	4,0
0,01	18,3	3,7	18,2	3,5
0,1	17,5	3,8	19,9	3,9
0,5	18,6	4,0	19,2	3,9
2,5	9,2	3,4	13,0	2,5

Примечание. * – разница средних величин контроля и опыта достоверна, $P<0,01$, # – разница средних величин между поколениями F3 и F4 достоверна, $P<0,05$

При концентрации купроксидла 2,5 мг/л плодовитость в поколении F3 составила всего 41,8 % контрольной. Учитывая также пониженную резистентность этой экспериментальной когорты к высоким концентрациям препарата, можно сделать вывод, что данная концентрация оказывает на тест-объект прямое токсическое воздействие. Тем не менее следует отметить, что поколение F3 дает достоверно более плодовитое потомство F4, и около 25 % молодежи F3 не отличаются по резистентности к высоким концентрациям препарата от контроля. Очевидно, концентрация купроксидла 2,5 мг/л не будет хронически летальной при более продолжительных исследованиях и дальнейшая адаптация к ней возможна.

Таким образом, применение метода токсической нагрузки при проведении хронических опытов даст ценную дополнительную информацию о воздействии токсиканта, особенно в случае необходимости проведения быстрого скрининга при укороченной схеме хронического эксперимента. При этом возможность преадаптации тест-объектов к определенному диапазону концентраций, очевидно, является специфическим свойством того или иного токсиканта. Так, авторы работы [5] также отмечали индукцию резистентности *Daphnia magna* при влиянии кадмия, однако при изучении воздействия тертадифона (акарицид) этого явления не наблюдалось [6].

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Biological test method Test of reproduction and survival using the Cladoceran *Ceriodaphnia dubia* / Environmental Protection Conservation and Protection Environment Canada Report EPC 1/RM/21 – 1992 – 72 p
- 2 Standard guide for conducting three-brood, renewal toxicity tests with *Ceriodaphnia dubia* / American Society for Testing and Materials Report E1295 89 in 1989 Annual book of ASTM standards – Vol 11.04 – 1989 – P 879–897
- 3 Persoone G, Janssen CR. Field validation of predictions based on laboratory toxicity tests / in Freshwater field tests for hazard assessment of chemicals (CRC Press, Inc – 1994 – P 379–397
- 4 Roman G, Isnard P, Jouany J. Critical analysis of methods for assessment of predicted no-effect concentration // *Ecotoxicol Environ Saf* – 1999 – Vol 43, № 2 – P 117–125
- 5 Stubbacher A et al. Induction of cadmium tolerance in two clones of *Daphnia magna* Straus / *Comp Biochem Physiol C* – 1992 – Vol 101, № 3 – P 571–577
- 6 Villarroel M J et al. Population dynamics in *Daphnia magna* as modified by chronic tetradifon stress / *J Environ Sci Health* – 2000 – Vol 33, № 2 – P 211–227

УДК 628.394.12 591.524 11.044 591.524 12.044

С.А. Кражан, М.І. Хижняк

Інститут рибного господарства УААН

ВПЛИВ ГЕРБІЦИДУ ТРЕФЛАН НА РОЗВИТОК ПРИРОДНОЇ КОРМОВОЇ БАЗИ СТАВІВ РИБГОСПУ “НИВКА”

За останній час в багатьох країнах світу помістилося промишлення в прісноводні, солонуватоводні водойми, моря та океани різних токсикантів – нафти та її похідних, гербіцидів, пестицидів, тощо. Їх надходження у водне середовище, особливо у великих кількостях, негативно впливає на все живе, приводячи у ряд випадків до загибелі. Подібна ситуація трапилась в кінці лютого 1996 року в районі Святошин біля кемпінгу “Пролісок” (м. Київ, Україна) при перевезенні гербіциду трефлан (діюча речовина грифлуралін), де близько 17 т його було розлито поблизу водопостачального ставу № 3 дослідного рибного господарства “Нивка” Інституту рибного господарства УААН. Попадання трефлану в систему виробничих ставів значно ускладнило екологічну ситуацію, що змусило припинити вирощування товарної риби у ставах господарства. Тому метою досліджень 1996-1998 рр. було з’ясування розвитку природної кормової бази під впливом цього токсиканту, як одного з важливих чинників при вирощуванні риби.

Матеріал та методи досліджень

Гідробіологічні проби у водопостачальному ставі № 3 та каскаді з 5 ставів відбирали протягом кожного вегетаційного періоду сезонно. Вивченню підлягали бактеріопланктон, фітопланктон, інтенсивність валової первинної продукції та деструкції органічної речовини, зоопланктон, зообентос. Дослідження проводили за загальноприйнятими методиками.

Результати досліджень

Згідно санітарно-гігієнічних норм [1] допустимий рівень вмісту грифлураліну в продуктах харчування рослинного походження знаходиться в межах 0,1–0,5 мг/кг. Допустима разова доза для людини складає — 0,01 мг/кг маси. Гранічно допустима концентрація вказаного гербіциду у воді рибогосподарських водойм не повинна перевищувати 0,0003 мг/л, у ґрунті — 0,1 мг/кг [2].

Через 5 діб після аварії у 1996 р. вміст трефлану в ґрунті поблизу місця аварії становив 72–1377 мг/кг, у донних відкладах річки “Нивка” — 1,22 мг/кг, у воді річки “Нивка” — 0,045 мг/л, у водопостачальному ставі № 3, куди безпосередньо попав цей гербіцид — 0,148–0,170 мг/л. Протягом наступних років вміст гербіциду трефлан у донних відкладеннях був зафіксований у водопостачальному ставі № 3 та натуральному № 1 відповідно 0,001 та 0,00018 мг/л і тільки в кінці 1997 та у 1998 році у ставах каскаду його не виявлено, або відмічені продукти його розкладу в невеликій кількості, що являється наслідком поступового вимивання його з шарів ґрунту.

Дослідженнями встановлено, що негативна дія трефлану на мікроорганізми в каскаді ставів не виявлена, окрім водопостачального ставу № 3 навесні 1996 р. Процеси продукції органічної речовини навесні 1996 р. у водопостачальному ставі № 3 значно переважали над процесами деструкції, в наступні роки вони зрівноважувались. У каскаді ставів процеси продукції органічної речовини переважали над процесами деструкції тільки влітку. Негативний вплив трефлану на фіто-, зоопланктон і зообентос проявлявся у водопостачальному ставі № 3 в перші два роки. Його дія була обумовлена зменшенням кількості видів, переважним розвитком більш стійких груп діатомових та синьозелених водоростей, відсутністю більш продуктивних та цінних в кормовому відношенні гідлястовусих ракоподібних,