

УДК 34.35

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

© 2014 А.А. Амосова, Е.А. Амосов, А.С. Козулина

Самарский государственный технический университет

Поступила в редакцию 01.10.2014

Приведены результаты экспериментального изучения эффективности тест-системы, позволяющей оценить токсичность загрязнителей окружающей среды в условиях учебной лаборатории. Использовались такие тест-объекты, как аквариумные рыбки *Poecilia reticulata* Peters и *Labidochromis caeruleus*, а также аквариумные моллюски *Physa fontinalis* Linne и *Planorbis corneus*. Исследование острой токсичности проводилось на примере солей тяжелых металлов: сульфата кадмия II и сульфата меди II.

Ключевые слова: биотестирование, аквариумные рыбки, аквариумные моллюски, $CdSO_4$, $CuSO_4$

В настоящее время для оценки токсичности природных вод, промышленных сбросов, почвы, кормов и прочих объектов окружающей среды, а также новых химических веществ и внутренних сред человека и животных широко используются тесты на различных организмах. В качестве тест-объектов используются представители различных систематических групп: высшие и низшие растения, гидробионты, простейшие, крысы, клетки крови человека, клетки спермы быка и др. Широкий спектр живых организмов позволяет всесторонне и с учетом всех токсикологических особенностей соединений исследовать их биологическую активность [1]. Однако, несмотря на то, что в рассматриваемой области накоплен богатый фактический материал, в биологической науке до сих пор отсутствует единая концепция, описывающая биотестирование. Многие авторы отмечают, что недостаточность теоретического описания биотестирования как метода научного исследования, влечет за собой самые разнообразные проблемы в практическом воплощении конкретных методик [2, 3]. К недостаткам биотестирования относится и тот факт, что осуществить оценку опасности токсиканта зачастую можно только в условиях

технически оснащенной лаборатории, располагающей большим штатом специально обученного персонала. Это представляет определенные неудобства, т.к. даже первичная оценка опасных свойств загрязнителя окружающей среды выливается в весьма долгосрочное, трудоемкое и дорогостоящее мероприятие.

В свете данной проблемы нам представилось актуальным создание лабораторной тест-системы, позволяющей в короткие сроки с применением оборудования учебной лаборатории осуществить первичную оценку биологической активности загрязнителей окружающей среды любого состава. В состав предложенной нами тест-системы в качестве лабораторных тест-объектов вошли широко используемые для биотестирования организмы: Гулли (два подвида), Катюшка роговая и Физа пузырчатая [4], а также Цихлида-колибри, редко используемая для лабораторных исследований, но обладающая всеми необходимыми качествами тест-объекта: высокой чувствительностью к токсикантам, высокой рождаемостью, неприхотливостью к лабораторным условиям разведения.

Исследования на рыбках проводились при освещении рассеянным светом, с естественной сменой дня и ночи, концентрацией кислорода в воде не менее 4 мг/дм^3 и температурой воды $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Воду в контрольных и опытных аквариумах аэрировали с помощью микрокомпрессоров. В аквариум наливали по 10 дм^3 контрольной или тестируемой воды (повторность трехкратная), в каждый аквариум помещали по 10 рыб каждого вида. Ежедневно в каждом аквариуме подсчитывали количество выживших рыб

Амосова Антонина Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химической технологии и промышленной экологии. E-mail: amosovaantonina@yandex.ru

Амосов Евгений Александрович, кандидат технических наук, доцент кафедры «Металловедение, порошковая металлургия, наноматериалы». E-mail: amosov-ea@rambler.ru

Козулина Анна Сергеевна, студентка

и удаляли погибших. Погибшими считали рыб, не подающих признаков движения или дыхания в течение 5 минут после прикосновения к ним стеклянной палочкой [5].

При проведении опытов с моллюсками в экспериментальной среде поддерживалась оптимальная температура для данных видов – плюс $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Для проведения эксперимента на выживаемость была сформирована средневозрастная половозрелая группа особей одинаковых размеров, формы и цвета раковины. Исследуемые растворы в заданных разбавлениях в объеме 15-20 мл помещались в стаканы, параллельно закладывался опыт с чистой водой (контроль). В опытные и контрольные стаканы помещались от 5 до 10 моллюсков. Наблюдение за моллюсками в первые 8 часов велось ежечасно, в дальнейшем 2-3 раза в день. Для проведения эксперимента на исследование поведенческих реакций в ванночку, наполненную исследуемым раствором, помещали 10-15 моллюсков. После прикрепления группы моллюсков (6 штук) к одной из стенок ванночки, остальные особи извлекались из чашки, а в 3 см от противоположной стенки аккуратно помещалась гранула корма. Засекалось время, и фиксировался момент достижения каждого моллюска гранулы корма. Эксперимент заканчивался при достижении корма всеми особями.

В качестве исследуемых тест-параметров выступали изменение окраски, изменение частоты дыхания, поведенческие реакции, выживаемость организмов. Кроме того, тест-система, включающая разные виды гидробионтов, позволила нам определить класс опасности токсикантов и оценить их экологическую опасность в соответствии с Санитарными правилами 2.1.7.1386-03 [6] с целью прогнозирования путей дальнейшего обращения с данными загрязнителями.

В качестве **объекта исследования** выступали соединения тяжелых металлов (сульфат кадмия II и сульфат меди II), представляющие собой наиболее типичные и широко распространенные загрязнители окружающей среды с ярко выраженной биологической активностью. Соли металлов в растворах могут образовывать ионы, гидраты, комплексы; в свою очередь последние могут вновь диссоциировать, образуя ионы. Поэтому токсичность, прежде всего, может быть связана с действием ионов и со свойствами атомов и ионов металлов, характеризующими их активность, способность вступать в связь с протоплазмой, с отдельными ее компонентами. Современные данные говорят, что в токсическом действии солей металлов основное значение принадлежит самому металлу – катиону. Кислотный радикал может изменять этот эффект в незначительной степени (в силу изменения растворимости или степени диссоциации соли),

однако имеются данные, указывающие, что степень окисления основного элемента аниона может влиять на токсичность солей [1].

В качестве исследуемых анионов был выбран SO_4^{2-} . Выбор был обусловлен тем, что сульфаты тяжелых металлов, наряду с хлоридами, наиболее распространены в природе по сравнению с другими солями. В то же время количественное содержание этих анионов строго нормировано, например, ПДК содержания в природных водах для анионов Cl составляет 300 мг/дм^3 , для анионов SO_4 составляет 100 мг/дм^3 [7]. Исследовались разбавления 1:1000 и 1:100, соответствующие 2 и 3 классу опасности в соответствии с Санитарными правилами 2.1.7.1386-03 [6], так как расчетный класс опасности данных солей – второй [8].

Исследование токсичности сульфата меди II на двух подвидах Гуппи и Цихлиде-колибри не выявило межвидовой и внутривидовой чувствительности к данному веществу. У всех видов рыб в течение первых 15 минут нахождения в разбавлениях, соответствующих 2 и 3 классу опасности наблюдалось резкое снижение активности. Через час пребывания у рыб появилась полная дезориентация в пространстве, движения стали резкими и хаотичными, дыхание – слабым. Окраска поверхностных покровов Цихлид стала гораздо темнее.

Исследование токсичности сульфата кадмия II выявило идентичную картину: яркие признаки сильной интоксикации появились спустя 25 минут после начала эксперимента. Движения были хаотичными, прерывистыми, движения жабр были очень слабыми, рыбы впадали в агонию. 50% смертность в разбавлении 1:1000, позволила отнести оба соединения ко 2 классу опасности, что соответствует расчетному классу опасности [8].

Регистрация тест-откликов системы на воздействие модельных растворов солей тяжелых металлов в различных разведениях позволила охарактеризовать исследуемые соединения как обладающие ярко-выраженными токсичными свойствами по отношению к рыбам. Но активность токсиканта может быть различной по отношению к разным животным организмам, поэтому в эксперимент были введены иные гидробионты, что позволило в полной мере оценить токсичность для животных организмов и прогнозировать опасность токсикантов в конкретной эколого-гигиенической ситуации при водномиграционном пути распространения.

При проведении эксперимента по выживаемости моллюсков в водном растворе сульфатов меди и кадмия двухвалентных в разведении 1:100 (3 класс опасности [6]), наблюдалась 100% смертность тестируемого объекта в течение двух часов. При этом зачастую происходило

«выпадение ноги» у обоих видов моллюсков в растворах соли кадмия, что означало гибель особи. Изменялась окраска раковины и ноги погибших моллюсков – они становились светлее и желтее. Спустя 8 часов моллюски переносились в стакан с чистой водой, однако ни один из них не прикрепился к стенке и не открыл крышечку раковины, из чего следовало, что все особи были мертвы.

Исследование токсичности в разбавлении 1:1000 (2 класс опасности [6]) не привело к достижению 100%-ой смертности. 50% смертность была зарегистрирована через 12 часов спустя начала эксперимента. При этом выжившие моллюски после перемещения в чистую воду проявляли активность, прикреплялись к стенке стакана и интересовались кормом в эксперименте на поведенческие реакции. Особи, помещенные в растворы, приготовленные в разбавлении 1:10000 (1 класс опасности [6]) не проявляли признаков отравления в течение всего эксперимента. Все моллюски сохранили подвижность, интересовались кормом в эксперименте на поведенческие реакции. Моллюски обладают весьма интенсивным обменом веществ, а это означает, что наличие токсических веществ в воде быстро оказывает влияние на обменные процессы в их организме. При токсическом воздействии на организм они начинают меньше есть, медленнее ползать, нуждаться в большем количестве кислорода, поэтому поведение отравленных улиток заметно отличается от поведения нормальных улиток.

Полученные данные по смертности гидробионтов (моллюсков и рыб) позволили отнести сульфаты кадмия II и меди II ко 2 классу опасности, что соответствует расчетному классу опасности.

Выводы: лабораторные тест-системы (группы *Poecilia reticulata* Peters, цихлиды *Labidochromis caeruleus*, моллюски *Physa fontinalis* Linn и Planorbidae) пригодны для первичной оценки экологической опасности и биологической активности загрязнителей окружающей среды, а также для экспериментального определения класса опасности веществ по сокращенной схеме в соответствии с СП 2.1.7.1386-03 [6].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Амосова, А.А. Эколого-генетическая оценка влияния солей тяжелых металлов на лук репчатый в условиях модифицирующего эффекта активного ила. Дисс. канд.биол. наук – Самара: СамГУ, 2004. 149 с.
2. Бубунов, А.Г. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методическое пособие / А.Г. Бубунов и др. // ИГХТУ: Иваново, 2007. 112с.
3. Виноходов, Д.О. Методология биотестирования // Научные основы биотестирования с использованием инфузорий. – М., 2007. С. 2-8.
4. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). – М., 2002. 35 с.
5. Чернышева, В.М. Методики биологических исследований по водной токсикологии. – М.: Изд-во «Наука», 1971. 299 с.
6. Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления СП 2.1.7.1386-03.
7. ГН 2.1.5.1315-03 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.
8. Приказ от 15 июня 2001 г. №511 «Об утверждении критериев отнесения к классу опасности для окружающей природной среды».

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF TEST SYSTEM FOR RESEARCH THE ACUTE TOXICITY OF VARIOUS POLLUTANTS OF ENVIRONMENT IN THE LABORATORY CONDITIONS

© 2014 A.A. Amosova, E.A. Amosov, A.S. Kozulina

Samara State Technical University

Results of experimental studying the efficiency of test system allowing to estimate the toxicity of pollutants of environment in the conditions of educational laboratory are given. Such test objects as aquarian small fishes *Poecilia reticulata* Peters and *Labidochromis caeruleus*, and also aquarian mollusks *Physa fontinalis* Linne and *Planorbis corneus* were used. Research of acute toxicity was conducted on the example of heavy metals salts: of cadmium sulfate II and copper sulfate II.

Key words: *biotesting, aquarian small fishes, aquarian mollusks, CdSO₄, CuSO₄*

Antonina Amosova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Chemical Technology, and Industrial Ecology. E-mail: amosovaantonina@yandex.ru; Evgeniy Amosov, Candidate of technical Sciences, Associate Professor at the Department "Metals Science, Powder Metallurgy, Nanomaterials". E-mail: amosov-ea@rambler.ru; Anna Kozulina, Student