

УДК 602.7:626.80

© 1991 г.

ОСТРОУМОВ С. А.

РЕАГИРОВАНИЕ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ
ВОДНОЙ СРЕДЫ ЧЕТВЕРТИЧНЫМ АММОНИЕВЫМ
СОЕДИНЕНИЕМ

Исследовано влияние одного из четвертичных аммониевых соединений — тетрадецилтриметиламмонийбромида, содержащегося в водной среде, на пиявок и проростки гречихи. Показано воздействие этого поверхностно-активного вещества на поведенческие реакции пиявки, охарактеризован летальный эффект достаточно высоких концентраций. Выявлена способность данного вещества ингибировать рост проростков. Полученная информация может использоваться при анализе и оценке возможных экологических последствий влияния сточных и загрязненных вод для орошения сельскохозяйственных земель. Сопоставление чувствительности двух биотестов показало, что в исследуемых условиях опыта более высокой чувствительностью обладает биотест на пиявках.

Катионные поверхностно-активные вещества (КПАВ) — важнейшие поллютанты, загрязняющие биосферу и гидросферу [9, 11]. Их воздействие на гидробионты и другие организмы изучено недостаточно. В частности, отсутствуют данные о влиянии КПАВ, в том числе наиболее распространенного класса КПАВ — четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), на обитающие в пресноводных экосистемах аннелиды и высшие растения, проростки которых рекомендованы Совещанием руководителей и экспертов водохозяйственных органов стран СЭВ для биотестирования загрязненных вод [12].

Ранее изучалось воздействие на аннелиды *Hirudo medicinalis* L. других поллютантов — фенолов, пестицидов и синтетических моющих средств, а также тяжелых металлов [4, 14]. Проростки растений, в том числе *Fagopyrum esculentum* Moench, были апробированы в качестве тест-объектов для изучения биологической активности анионных и неионогенных ПАВ [5, 6, 8, 9].

Сопоставление результатов испытания одного ксенобиотика для двух или нескольких тест-организмов позволяет более полно охарактеризовать его биологическую активность и потенциальную экологическую опасность, а также оценить сравнительную чувствительность использованных биотестов, что существенно для анализа проблем химического загрязнения биосферы и гидросферы [1, 3, 13, 15—17]. Цель настоящей работы — получить данные о воздействии содержащегося в водной среде КПАВ из класса ЧАС (тетрадецилтриметиламмонийбромида (ТДТМА)) на два тест-организма — *H. medicinalis* L. и *F. esculentum*.

Для биотестирования на пиявках по методике [7] использовали молодых особей *H. medicinalis*, полученных на биофабрике Главного аптекоуправления г. Москвы. Особи были в возрасте 6 мес, весом ~80—200 мг, последнее их кормление проводилось за 40 дней до начала опыта. Животные были посажены по три экземпляра в чашки Петри диаметром 10 см с добавленным тестируемым раствором (20—30 мл) или отстоянной водопроводной водой (ОВВ) в том же объеме. Действие

Таблица 1

Реагирование тест-организмов *H. medicinalis* при воздействии водной среды с различными концентрациями ТДТМА

Концентрация, мг/л	Фаза интоксикации	Характеристика реагирования
1 (начальный период экспозиции)	Латентная фаза	Заметных отличий от поведения животных в контроле не наблюдается
1-5	Локомоторное проявление реагирования животных на низкую концентрацию ксенобиотика	Повышение двигательной активности
5-10	Средняя интоксикация	Подгибание передних сегментов под брюшную сторону тела — неспецифический симптом отравления (НСО) (может чередоваться с повышенной плавательной активностью)
10-50	Глубокая интоксикация	Тело изогнуто, сгибательно-разгибательные движения, судороги
250	Предсмертное состояние, острая интоксикация	Через короткое время наступает гибель животных

Таблица 2

Воздействие на *H. medicinalis* водной среды, содержащей ТДТМА

Концентрация ТДТМА, мг/л	Состояние организмов в разное время от начала опыта, ч	
	23	31
0 (контроль)	Живы 100%, НСО отсутствует	Живы 100%, НСО отсутствует
5	Живы 100%, у 67% животных наблюдается НСО	Живы 100%, у всех животных наблюдается НСО
10 *	Погибли 33%, у остальных отмечен НСО	Число погибших не увеличилось, по-прежнему у всех оставшихся животных наблюдается НСО
25	Погибли 100% животных	—
50	Погибли 100% животных (гибель менее чем за 1,5 ч)	—

* Через 48 ч после начала опыта погибли семь животных из девяти.
Примечание. В каждом варианте опыта (т. е. при каждой из концентраций) тестированию подвергали девять животных, помещенных в три чашки Петри по три экземпляра в каждую.

ПАВ при каждой из концентраций (1, 5, 10, 25, 50, 250 мг/л) исследовалось на девяти особях, т. е. для каждой из концентраций брали три чашки Петри). Температура воды при инкубации — 20°С, все растворы ПАВ были приготовлены на ОВВ. Эта же вода была и в контроле.

Для тестирования всех животных помещали на несколько минут в чистую ОВВ. Это начальное предварительное инкубирование проводили в чашках Петри. В каждую чашку Петри помещали по три особи и вносили по 20—30 мл ОВВ. Животные быстро успокаивались и принимали статичные позы. Затем из всех чашек воду сливали и помещали в эти же чашки растворы ПАВ или ОВВ (в контрольные варианты). С этого момента вели отсчет времени экспозиции. Через 10 мин начинали регистрировать состояние подопытных животных. В течение первых 50 мин состояние животных в каждой из чашек Петри наблюдалось каждые 2 мин (число наблюдений составило для каждой концентрации $9 \times 20 =$

=225). Регистрировали, в частности, состояния покоя, локомоторную активность («динамические состояния»), характерные позы, связанные с интоксикацией [4, 7].

Биотестирование на проростках растений *F. esculentum* (Шатиловская-5) и расчет условной средней длины (УСД) проводили, как описано в [5]. В чашки Петри (11 см) вносили по 18 семян и по 15 мл тест-раствора. Инкубацию вели при 20°С, контролем служила ОВВ.

Наблюдения за состоянием и поведением пиявок при различных концентрациях ТДТМА в водной среде показали, что можно выделить несколько стадий или степеней воздействия ксенобиотика (табл. 1).

Аналогичные стадии, характеризующиеся по степени двигательной активности, которая может повышаться при относительно малых концентрациях ксенобиотика, либо по характерной позе с подгибанием передних сегментов под вентральную сторону тела (НСО), были выявлены ранее при биотестировании некоторых органических веществ [14].

В первые 60 мин контакта *N. medicinalis* с концентрациями ТДТМА, равными 10, 25 и 50 мг/л, у пиявок было зарегистрировано некоторое увеличение двигательной активности по сравнению с контролем и сублетальной концентрацией 5 мг/л. Так, из 225 зафиксированных состояний динамичными были 26, 48 и 62 состояний соответственно, в то время как в контроле и при концентрации 5 мг/л было зарегистрировано лишь по одному динамичному состоянию.

При повторении опыта с концентрациями ТДТМА 1 и 5 мг/л (условия опыта прежние) было отмечено следующее число динамичных состояний: 0 мг/л (контроль) — 0; 1 мг/л — 9; 5 мг/л — 16.

Таким образом, в диапазоне концентраций ТДТМА от 1 до 50 мг/л установлено некоторое увеличение двигательной активности в сравнении с контролем.

Воздействие ТДТМА (от 0 до 50 мг/л) на пиявок при более длительной экспозиции представлены в табл. 2.

Действие ПАВ при более высокой концентрации (250 мг/л) было весьма выраженным даже при короткой экспозиции (1,5 мин). После такого кратковременного воздействия пиявки были еще живы. Их переносили (после 1,5 мин инкубации в указанном растворе) в чистую воду; все они, однако, погибли через 5—10 мин.

Действие ТДТМА при меньших концентрациях (5—50 мг/л) проявлялось после некоторого латентного периода, длительность которого зависела от концентрации ксенобиотика. При концентрации 50 мг/л все животные погибли в течение >1,5 ч, при 25 мг/л — менее чем за сутки. При последней концентрации (25 мг/л) в первые 8 ч опыта погибло более половины животных (89%).

При концентрации 10 мг/л число погибших животных (в скобках — процент и длительность экспозиции) составили: 0 (0%, 1 ч), 3 (33%, 23 ч), 3 (33%, 31 ч), 6 (67%, 46 ч), 7 (78%, 48 ч). Выявлена ярко выраженная зависимость медианной концентрации ТДТМА от экспозиции (табл. 3).

Таким образом, тестирование на пиявках подтверждает, что наблюдение за поведением этих животных позволяет выявлять воздействие ксенобиотиков при меньших концентрациях, чем те, которые оказывают летальный эффект. Результаты изучения воздействия ТДТМА свидетельствуют, что такой симптом отравления, как подворачивание головных сегментов к брюшной стороне тела, носит довольно неспецифический характер. Этот симптом отравления зарегистрирован при воздействии ПАВ (в данной работе ТДТМА), хлорофоса, полихлорпинена [4].

Результаты биотестирования ТДТМА на другом тест-организме — проростках растений — приведены в табл. 4. Видно, что при обеих испы-

Таблица 3

Предварительная оценка медианной концентрации ТДТМА
в водной среде при биотестировании на *H. medicinalis*

Длитель- ность экспозиции	Оценка LC_{50} , мг/л	Длитель- ность экспозиции	Оценка LC_{50} , мг/л
1,5 мин	<250	24 ч	10-25
1,5 ч	<50	48 ч	<10
8 ч	<25		

Таблица 4

Воздействие водной среды, содержащей ТДТМА, на условную
среднюю длину проростков *F. esculentum*

ТДТМА, мг/л	Время, ч	УСД, мм	Довери- тельный интервал УСД	Средне- квадра- тичное отклоне- ние σ	Доверительный интервал σ	Число из- мерений n	Число не- пророс- ших семян
0	45	5,56	1,83	5,43	4,50 6,92	36	12
	53	8,83	2,79	8,28	6,85 10,55	36	12
	69	17,56	5,40	16,05	13,28 20,44	36	12
50	45	4,47	1,15	3,41	2,82 4,34	36	10
	53	6,25	1,59	4,72	3,91 6,02	36	10
	69	8,39	2,07	6,16	5,10 7,85	36	10
250	45	3,43	0,80	2,34	1,94 2,98	35	9
	53	4,09	0,92	2,70	2,24 3,45	35	9
	69	4,54	1,02	2,98	2,47 3,80	35	9

Таблица 5

Воздействие водной среды, содержащей ТДТМА, на скорость роста
F. esculentum, исключая непроросшие (в скобках — скорость роста УСД)

ТДТМА, мг/л	Скорость роста <i>F. esculentum</i> , мм/ч, в разные периоды времени		
	0—45 ч	45—53 ч	53—69 ч
0	0,19(0,12)	0,62(0,41)	0,81(0,55)
50	0,14(0,10)	0,31(0,22)	0,18(0,13)
250	0,10(0,08)	0,11(0,08)	0,04(0,03)

таных концентрациях наблюдалось ингибирование роста проростков. Расчет скорости удлинения проростков (табл. 5) показал, что в контроле она в течение опыта возрастала, а при действии КПАВ (при обеих концентрациях) к концу опыта (53—69 ч от начала опыта) снизилась по сравнению с предыдущим периодом (45—53 ч).

Количественная оценка степени ингибирования роста (в сравнении с контролем) под действием ТДТМА свидетельствует, что при концентрации 50 мг/л ингибирование в конце опыта (период 53—69 ч) было значительно выше 50% (табл. 6).

Сравнение этих данных с результатами биотестирования на том же организме другого ПАВ — додецилсульфата натрия [8] показывает, что ТДТМА сильнее ингибирует рост проростков гречихи, чем додецилсульфат натрия.

Данные о действии КПАВ на проростки целесообразно иметь в виду при анализе экологических последствий использования загрязненных и сточных вод для орошения [10]. Полученная информация об ингибиро-

Таблица 6

Коэффициенты ингибирования при воздействии ТДТМА
на удлинение проростков *F. esculentum*, исключая непроросшие
(в скобках — коэффициенты ингибирования роста УСД)

ТДТМА, мг/л	Коэффициенты ингибирования, %, в разные периоды времени		
	0—45 ч	45—53 ч	53—69 ч
0	0	0	0
50	25,3(19,6)	50,0(45,6)	77,5(75,5)
250	49,4(38,3)	82,9(79,8)	95,5(94,8)

вании проростков под действием ТДТМА дополняет предыдущие работы по биотестированию ПАВ [5, 6, 8, 9, 17] и других ксенобиотиков [2].

Сравнение обоих биотестов (в данной работе) свидетельствует о большей чувствительности к ТДТМА *H. medicinalis*.

Автор благодарен сотрудникам Института биологии внутренних вод АН СССР Б. А. Флерову и Л. Н. Лапкиной за демонстрацию метода работы с пиявками и консультирование, а также специалистам кафедры общей экологии и гидробиологии биофака МГУ и Института коллоидной химии и химии воды АН УССР за советы и помощь в работе.

Список литературы

1. Брагинский Л. П., Величко И. М., Щербань Э. П. Пресноводный планктон в токсической среде. Киев: Наук. думка, 1987. 180 с.
2. Иванов В. Б. Клеточные основы роста растений. М.: Наука, 1974. 222 с.
3. Крайнюкова А. Н. Биотестирование в охране вод от загрязнения//Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 4—14.
4. Лапкина Л. Н., Флеров Б. А. Исследование острого отравления пиявок некоторыми токсическими веществами//Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Гидрометеониздат, 1979. С. 50—59.
5. Максимов В. Н., Нагель Х., Остроумов С. А. Экспериментальное изучение реакции проростков *Fagopyrum esculentum* на загрязнение водной среды детергентами//Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Т. 9. Л.: Гидрометеониздат, 1986. С. 87—97.
6. Максимов В. Н., Нагель Х., Остроумов С. А., Ковалева Т. Н. Биотестирование вод, загрязненных сульфолом//Вод. ресурсы. 1988. № 1. С. 165—168.
7. Методические указания по биотестированию сточных вод с использованием медицинской пиявки. М.: Минводхоз РСФСР, 1986. 24 с.
8. Нагель Х., Остроумов С. А., Максимов В. Н. Ингибирование роста проростков гречихи под действием додецилсульфата натрия//Биол. науки. 1987. № 12. С. 81—84.
9. Остроумов С. А. Введение в биохимическую экологию. М.: Изд-во МГУ, 1986. 176 с.
10. Сельскохозяйственное использование сточных вод. М.: Росагропромиздат, 1989. 223 с.
11. Ставская С. С., Удод В. М., Таранова Л. А., Кривец И. А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно-активных веществ. Киев: Наук. думка, 1988. 184 с.
12. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч. 3. Методы биологического анализа вод. М.: СЭВ, 1975. 176 с.
13. Филенко О. Ф. Водная токсикология. Черноголовка, 1988. 156 с.
14. Флеров Б. А., Лапкина Л. Н., Жмур Н. С., Яковлева И. И. Метод биотестирования токсичности сточных вод, содержащих ионы металлов (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} и др.) по смене статического состояния на динамичное у медицинской пиявки//Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 114—116.
15. Яблоков А. В., Остроумов С. А. Опазване на живата природа. София: Земиздат, 1989. 192 с.
16. Jablokov A. V., Ostroumov S. A. Omul si Natura. De la probleme la solutii//Ocotirea Naturii. Cluj-Napoca: Dacia, 1988. P. 65—80.
17. Nyberg H. 1988. Growth of *Selenastrum capricornutum* in the presence of synthetic surfactants//Water Res. 1988. V. 22. № 2. P. 217—223.

МГУ

Поступила в редакцию
21.02.90