

Д.И. Стом, Д.О. Таран, Д.С. Потапов

ВЛИЯНИЕ ГУМАТА «POWHUMUS» НА ТОКСИЧНОСТЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Научно-исследовательский институт биологии
при Иркутском государственном университете (Иркутск)

Анализировали влияние некоторых загрязнителей на дождевых червей. Показано, что время заполнения червей в почву может быть использовано как показатель степени их интоксикации. Обнаружено, что гуматы ослабляют токсичность нитробензола.

Ключевые слова: гуминовые вещества, дафнии, дождевые черви, ароматические углеводороды

THE INFLUENCE OF HUMATE «POWHUMUS» ON TOXICITY OF HEAVY METALS AND AROMATIC HYDROCARBON

D.I. Stom, D.O. Taran, D.S. Potapov

Scientific Institute of Biology attached to \$ Irkutsk State University, Irkutsk

The influence of some pollutants on earthworms is analyzed. It is shown that the time of earthworms' crawling into soil can be treated as an index of the degree of their intoxication. Humates are said to decrease the toxicity of nitrobenzol.

Key words: humic substances, daphnia, earthworms, aromatic hydrocarbons

ВВЕДЕНИЕ

Согласно ряду сообщений, гуминовые вещества (ГВ) уменьшают отрицательное действие отдельных загрязнителей на биологические процессы [1]. Обнаружено, что препараты ГВ способны выступать, в частности, в роли антидотов углеводородов нефти [4, 6]. Целью данного сообщения было изучение возможности ослабления токсичности некоторых тяжелых металлов и ароматических производных при добавлении препаратов ГВ с использованием поведенческой реакции.

МЕТОДИКА

В качестве препаратов ГВ брали «Powhumus» (гумат калия из леонардита) производства «Humintech GmbH» (ФРГ).

В исследованиях использовали соли тяжелых металлов таких как $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, NaCl , ароматические углеводороды: бензол, нитробензол, толуол, ксилол. Углеводороды брали марки х.ч., ч.д.а. или их чистили непосредственно перед опытом. Эмульсии анализируемых нефтепродуктов получали перемешиванием в течение 60 минут на магнитной мешалке [3].

Тест-объектами служили дождевые черви: красный калифорнийский гибрид (*Eisenia fetida Andrei Bouche*). В чашки Петри (диаметр 105 мм) наливали по 50 мл растворов различных концентраций и сажали в них по 5 красных калифорнийских червей. Червей инкубировали в используемых растворах в течение 30 минут. Затем их высаживали на поверхность земли, насыпанной в садки, и засекали время зарывания червей.

Оценку токсичности гуматов и нефтепродуктов проводили на лабораторной культуре ветвистых рачков *Daphnia magna Straus* [2]. При применении основным критерием токсичности служила выживаемость дафний. Содержание, культивирование и эксперименты проводили в лабораторных условиях согласно общепринятым методикам [2].

Для выращивания дафний и контроля использовали отстоянную водопроводную воду. Для опытов отбирали молодь одного помета в возрасте 2-х суток. В каждый экспериментальный сосуд объемом 50 мл помещали по 10 рачков.

Для статистической обработки полученных данных пользовались общепринятыми методами [5] с применением пакета программ Statgraf 3.0 и Excel 97. Достоверность различия определяли с помощью критерия Стьюдента. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \leq 0,95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные при определении влияния различных концентраций тяжелых металлов, ароматических углеводородов и их смесей с ГВ на красных калифорнийских червей приведены в таблицах 1 и 2. Из них видно, что даже при концентрациях токсикантов, при которых все черви, взятые в опыт, оставались живыми, время зарывания червей в землю существенно возрастало.

Например, при содержании $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,3 г/л все особи оставались живыми, но при этой концентрации увеличивалось время зарывания червей в землю с 4,2 до 16 минут. При тестировании растворов, в которых наряду с $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ в концентрации

Таблица 1
Влияние солей металлов в присутствии и отсутствии гуматов на выживаемость красных калифорнийских червей (контроль – дехлорированная водопроводная вода)

Состав смесей	Количество живых, %	Время зарывания, минуты
Hg(NO ₃) ₂ (0,1 г/л)	100	5,7 ± 1,1
Hg(NO ₃) ₂ (0,2 г/л)	100	6 ± 1,15
Hg(NO ₃) ₂ (0,3 г/л)	100	16 ± 2,4
Hg(NO ₃) ₂ (0,5 г/л)	0	–
Hg(NO ₃) ₂ (0,5 г/л) и гумат (0,5 г/л)	100	11,7 ± 1,75
Hg(NO ₃) ₂ (0,5 г/л) и гумат (1 г/л)	100	6,6 ± 1,25
NaCl (3 г/л)	100	6,6 ± 1,25
NaCl (5 г/л)	100	10,9 ± 1,96
NaCl (20 г/л)	100	22,2 ± 2,8
NaCl (25 г/л)	100	23,5 ± 3,1
NaCl (30 г/л)	0	–
NaCl (30 г/л) и гумат (0,5 г/л)	0	–
NaCl (30 г/л) и гумат (1 г/л)	0	–
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (2,5 г/л)	100	6,6 ± 1,25
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (3 г/л)	100	7,5 ± 1,5
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (5 г/л)	100	10,1 ± 1,7
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (10 г/л)	100	15,2 ± 2,3
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (30 г/л)	0	–
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (30 г/л) и гумат (0,5 г/л)	100	14,8 ± 2,22
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ (30 г/л) и гумат (1 г/л)	100	17,9 ± 2,68
Контроль	100	4,2 ± 0,84

Таблица 2
Влияние эмульсий ароматических углеводов в присутствии и отсутствии гумата на выживаемость красных калифорнийских червей (контроль – дехлорированная водопроводная вода)

Состав смесей	Количество живых, %	Время зарывания, минуты
Нитробензол (0,5 г/л)	100	23,8 ± 3,2
Нитробензол (1 г/л)	0	–
Нитробензол (1 г/л) и гумат (0,5 г/л)	0	–
Нитробензол (1 г/л) и гумат (1 г/л)	100	30,4 ± 3,8
Толуол (1,5 г/л)	100	30,8 ± 3,8
Толуол (2 г/л)	0	–
Толуол (2 г/л) и гумат (0,5 г/л)	100	11,3 ± 1,92
Ксилол (5 г/л)	0	–
Ксилол (5 г/л) и гумат (0,5 г/л)	100	23,7 ± 3,1
Контроль	100	14,5 ± 2,2

0,5 г/л присутствовал гумат, не вызывали такого негативного действия на червей. При этом в более высоких концентрациях эффект гумата усиливался. В растворе 30 г/л Pb(C₂H₃O₂)₂ наблюдали гибель всех червей. При снижении содержания Pb(C₂H₃O₂)₂ до 10 г/л отмечали 100 % выживаемость. Вместе с тем время зарывания червей приближалось к контролю лишь тогда, когда концентрация соли уменьшалась до 2,5 г/л. При добавле-

нии 0,5 г/л гумата в раствор 30 г/л Pb(C₂H₃O₂)₂ происходило ослабление токсичности раствора (выживаемость достигала 100 %) (табл. 1).

Анализ соотношения токсичности испытуемых веществ не зависел от того, использовали ли в качестве тест-отклика гибель червей или время их зарывания в землю, но последний показывает более значительную чувствительность, чем выживаемость олигохет. Поэтому полученные матери-

Влияние эмульсий ароматических углеводородов в присутствии и отсутствии гумата на выживаемость дафний при 24-часовой экспозиции (контроль – дехлорированная водопроводная вода)

Состав смесей	Количество живых, %
Нитробензол (0,05 г/л)	100
Нитробензол (0,1г/л)	0
Нитробензол (0,5 г/л)	0
Нитробензол (0,1 г/л) и гумат (0,05 г/л)	100
Нитробензол (0,1г/л) и гумат (0,01г/л)	55
Нитробензол (0,1г/л) и гумат (0,1г/л)	100
Толуол (0,1г/л)	100
Толуол (0,5г/л)	0
Контроль	100

алы дают основание говорить о том, что время зарывания червей в землю может быть использовано как индикатор степени их интоксикации и как тест-реакция при применении дождевых червей в качестве тест-объекта в биотестировании.

Подчеркнем, что гумат ослаблял токсичность двухвалентных катионов металлов (Hg^{2+} ; Pb^{2+}), но не одноатомных (Na^+) катионов. Это, по-видимому, связано с тем, что хелатные и другие группировки ГВ способны образовывать различные комплексы, преимущественно с многовалентными, но не одновалентными катионами.

Инкубирование дождевых червей в растворах нитробензола в концентрации 1 г/л, толуола – 2 г/л и ксилола – 5 г/л приводило к летальному исходу (табл. 2). При снижении в растворах содержания ароматических углеводородов увеличивалась выживаемость червей.

При добавлении препаратов гумата в растворы ароматических углеводородов, в концентрациях, вызывающих 100 % гибель червей, происходило резкое снижение токсического эффекта. Ослабление негативного действия фиксировали в растворах 1 г/л нитробензола в присутствии 1 г/л гумата, в растворах 2 г/л толуола и в растворе 5 г/л ксилола при добавлении 0,5 г/л гумата (табл. 2).

Антидотный эффект ГВ по отношению к ароматическим углеводородам выявлен и при исследовании в качестве тест-объекта дафний (табл. 3). В этих опытах CL_{100} при суточной экспозиции для нитробензола была равна – 0,1 г/л. В опытах на дафниях, в растворе нитробензола 0,1 г/л при внесении гумата 0,01 г/л, количество выживших особей составляло 55 %, при увеличении концентрации гумата до 0,05 г/л все рачки выживали.

Таким образом, можно сделать вывод, что гумат снижает токсичность растворов тяжелых металлов и ароматических углеводородов. Это позволяет разработать новый высокочувствительный

метод для определения токсичности сред солей свинца, ртути и ароматических углеводородов, в частности, нитробензола.

Авторы признательны В. Stern за предоставленные препараты «Powhumus» и А. Лухневу за помощь в работе.

Работа выполнена частично при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 06-04-39003 - ГФЕН_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Линник П.Н. Роль гумусовых веществ в процессах комплексообразования и детоксикации (на примере водохранилищ Днепра) / П.Н. Линник, Т.А. Васильчук // Гидробиол. журн. – 2001. – Т. 37, № 4. – С. 98 – 112.
2. Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний: ПНД Ф Т 14.1:2.3:4.5-2000. – М., 2000. – 35 с.
3. Результаты изучения токсичности и биоразлагаемости некоторых диспергентов в морской воде / О.Г. Миронов, А.А. Лебедь, Г.Н. Семанов, И.А. Мурашев // Экспериментальная водная токсикология. – Рига: Зинатне, 1985. – Вып. 10. – С. 122 – 129.
4. Стом Д.И. Комбинированное действие нефтепродуктов и «Гумата» на дафний / Д.И. Стом, А.В. Дагуров // Сибирский экологический журнал. – 2004. – № 1. – С. 35 – 40.
5. Piegorsch W.W. Statistics for Environmental Biology and Toxicology (Interdisciplinary Statistics) / W.W. Piegorsch, A.J. Bailer. – Chapman & Hall, 1997. – 579 p.
6. Steinberg C.E.W. Towards a Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) of Dissolved Humic Substances as Detoxifying Agents in Freshwaters / C.E.W. Steinberg, M. Haitzer, R. Bruggemann, I.V. Perminova et al. // Internat. Rev. Hydrobiol. – 2000. – Vol. 85. – P. 253 – 266.