

РЕАКЦИЯ LEMNA MINOR LINNE НА ДЕЙСТВИЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ОЗЕРНЫХ ГРУНТОВ

Аксёнова Марина Владиславовна

Аспирант, ФГБОУ ВО «ГАУ Северного Зауралья»;
специалист Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО»
(«Госрыбцентр»)

aksjonova.mv@asp.gausz.ru

REACTION OF LEMNA MINOR LINNE TO THE ACTION OF OIL-CONTAMINATED LAKE SOILS

M. Aksenova

Summary: The article presents the results of a study of the toxicity of bottom sediments (BS) of 4 nameless lakes located on the territory of the Yuzhno-Agansky licensed area in the Nizhnevartovsky district of the Tyumen region in relation to the lesser duckweed *Lemna minor* Linne. It was shown that 2 years after the total withdrawal (purification) of BS from lakes No. 1, 2, 3 (the content of oil products from 49–380 g/kg to 7.9–15.4 g/kg), they did not have a lethal effect on duckweed, as well as the BS of the control lake No. 4, where cleaning was not carried out (content of oil products 7.8–14.5 g/kg). At the same time, BS of all lakes had a chronic toxic effect on the growth of duckweed fronds and roots in a number of generations. Experimental studies have shown that duckweed, being highly resistant to oil pollution, can serve as an active primary link in the ecosystem of oil-polluted lakes during their reclamation.

Keywords: lakes №№ 1, 2, 3, cleaning, bottom sediments (BS), duckweed (*Lemna minor*), bioassay toxicity.

Нефтедобывающая промышленность, составляя основу экономики России, является одной из наиболее опасных отраслей хозяйства в плане воздействия на окружающую природную среду. Освоение богатейших месторождений углеводородного сырья повлекло за собой целый комплекс экологических проблем, связанных с воздействием на окружающую природную среду.

Среднее Приобье — основной нефтедобывающий район Западной Сибири (42 % всей добычи нефти РФ) характеризуется обилием рек, озер и болот со своеобразным гидрохимическим режимом и резко континентальным климатом, что обуславливает специфику как наземных, так и водных экосистем.

В процессе разведки и добычи нефти происходит их загрязнение нефтью, максимальное количество которой (тяжелые фракции нефтепродуктов, а также смолы и асфальтены) накапливаются донными грунтами. Это долгоживущая, наиболее опасная (в частности, ПАУ) часть нефтяного загрязнения, поэтому очистка дна озер является необходимым элементом рекультивации водоемов.

В Ханты-Мансийском автономном округе (ХМАО — Югра) впервые была применена технология тотальной выемки ДО сильно загрязненных нефтью внутриболотных озер №№ 1, 2, 3 на территории Южно-Аганского лицензионного участка [1]. Озеро № 4 не подвергалось

Аннотация. В статье приведены результаты исследования токсичности донных отложений (ДО) 4 безымянных озер, расположенных на территории Южно-Аганского лицензионного участка в Нижневартковском районе Тюменской области по отношению к ряске малой *Lemna minor* Linne. Показано, что через 2 года после тотального изъятия (очистки) ДО озер №№ 1, 2, 3 (содержание нефтепродуктов с 49–380 г/кг до 7,9–15,4 г/кг) они не оказывали летального действия на ряску, как и ДО контрольного озера № 4, где очистку не проводили (содержание нефтепродуктов 7,8–14,5 г/кг). Вместе с тем, ДО всех озер оказывали хроническое токсическое действие на рост листцов и корней ряски в ряду поколений. Экспериментальные исследования показали, что ряска, обладая высокой устойчивостью по отношению к нефтяному загрязнению, может служить активным первичным звеном экосистемы нефтезагрязненных озер при их рекультивации.

Ключевые слова: озера, донные отложения (ДО), очистка, ряска малая (*Lemna minor*), биотестирование, токсичность.

сильному техногенному воздействию и рассматривалось как контрольное.

Целью данной работы явилась оценка токсичности донных грунтов с помощью *Lemna minor* после произведенных через 2 года восстановительных работ.

Материал и методы исследований

Исследовали токсичность ДО 4 озер, отобранных в сентябре 2016 г. в трех из которых в июне 2014 г было проведено изъятие 0,5 м слоя ДО. Озеро №4 рассматривалось как контрольное. ДО всех озер представлены торфом в избыточно-влажном и очень влажном состоянии.

Оценку токсичности ДО проводили согласно Методическим рекомендациям [2]. Исследуемый тест-объект ряску *L. minor* Linne размещали в чашках Петри с тестируемым грунтом (слоем 0,5 см) и отстоянной водопроводной водой (0,5 см). В каждую чашку помещали по 10 одиночных одновозрастных колоний ряски. Продолжительность хронического эксперимента составляет 30 дней. Токсичность оценивали по показателям выживаемости (к 4 сут), численности и морфометрическим характеристикам листцов и корней ряски материнских особей (F_0) и дочерних поколений (F_1 , F_2 , F_3) на 10, 20 и 30 сут. Опыты проводили в 2 повторностях с двух станций отбора (литераль и профундаль).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методикам с использованием пакета программ программы Statistica 6.1.

Результаты исследований

Грунты озер спустя два года после проведения очистки не оказывали острого токсического действия на ряску. Выживаемость листецов *L. minor* на 4 сут во всех опытных вариантах была 100 %.

На рисунке 1 представлен график появления листецов в литоральных пробах исследуемых озер. Из графика видно, что в большинстве тестируемых проб на протяжении всего эксперимента наблюдали задержку вегетативного размножения ряски. Максимальное снижение количества листецов против К уровня отмечали

в грунтах оз. № 1: 10 сут — на 16,7 %, 20 сут — на 53,7, 30 сут — на 33,9 %.

Разница с К в суспензиях грунтов оз. №№ 2 и 3 на 10 сут отсутствовала или была незначительной (на 6,1 %), на 20 отмечали увеличение количества листецов на 5,6–19,4 %, к концу эксперимента количество листецов снизилось, максимально снижение отмечали в грунтах оз. № 3 — на 41,1 % (рисунок 1). В литорали оз. № 4 (контрольное) количество листецов было ниже К уровня на 4,9–14,9 %.

Если в литоральных пробах к 30 сут отмечали снижение количества листецов, то в большинстве профундальных проб, увеличение. Максимальная тенденция к увеличению отмечена в грунтах оз. №№ 3 и 1, на 41,0 и 88,7 % соответственно (рисунок 2). В суспензиях грунтов оз. № 2 отмечали максимальное снижение на 20 сут на 34,7 %,

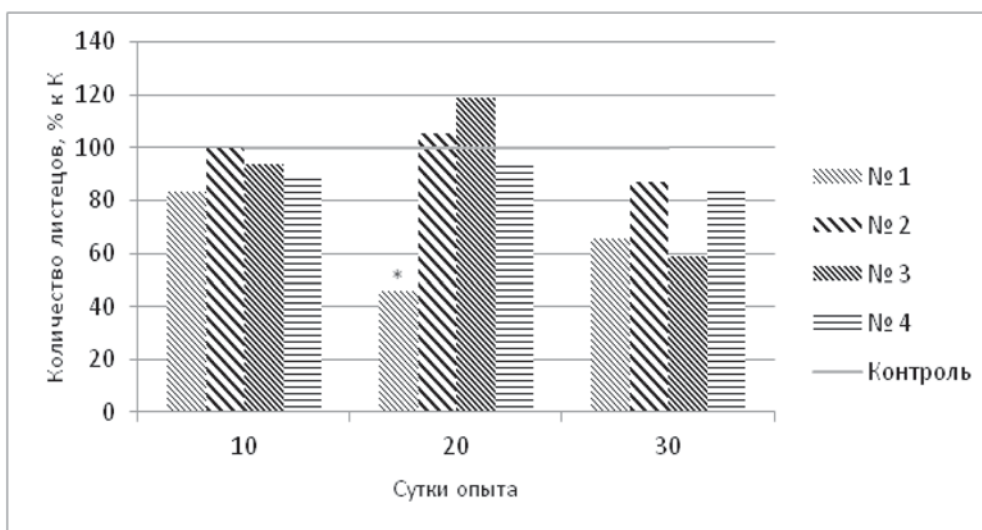


Рис. 1. Количество листецов *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

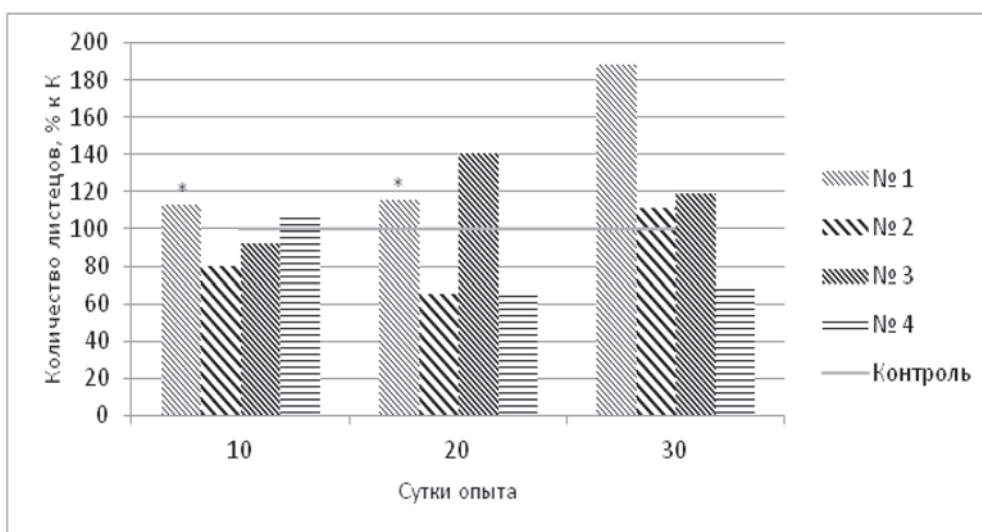


Рис. 2. Количество листецов *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

увеличение к 30 сут — на 19,6 %. В оз. № 4 при незначительном увеличении на 10 сут (на 7,6 %) отмечали резкое снижение количества листочков в последующие дни наблюдений, ниже уровня К — на 31,0–32,6 % (рисунок 2).

Исследуемые донные отложения оказывали влияние и на рост листочков *L. minor*, увеличивая или снижая их размеры. В большинстве исследуемых суспензиях грунтов отмечали достоверное, но незначительное снижение длины материнских (F_0) листочков на 10 сут опыта на 3,9–9,5 % ($P < 0,05$). К 20 сут разница с К в грунтах оз. №№ 2 и 3 нивелировалась, и длина листочков была незначительно больше уровня К (на 4,6 % и 7,3 %). К 30 сут эксперимента в грунтах исследуемых озер наблюдали увеличение роста растений, длина материнских листочков была больше К на 10,3–27,7 % (рисунок 3).

И в профундальных пробах исследуемых озер на 10 сут опыта отмечали снижение длины материнских листочков на 7,6–12,5 %, незначительное увеличение в суспензиях грунтов оз. №№ 2 и 3 на 20 сут и увеличение роста всех исследуемых растений к концу эксперимента (больше К на 25,5–38,0 %). Длина материнских листочков в суспензиях грунтов оз. № 4 была незначительно ниже уровня К (на 8,6 %) на 10 сут, статистически достоверно была увеличена к концу опыта, на 38,0 % ($P < 0,01$) (рисунок 4).

Если в большинстве исследуемых литоральных и профундальных пробах до 20 сут отмечали незначительно отставание в росте материнских листочков, то у листочков поколения F_1 на протяжении всего эксперимента в большинстве исследуемых проб отмечали незначительное, но увеличение роста растений.

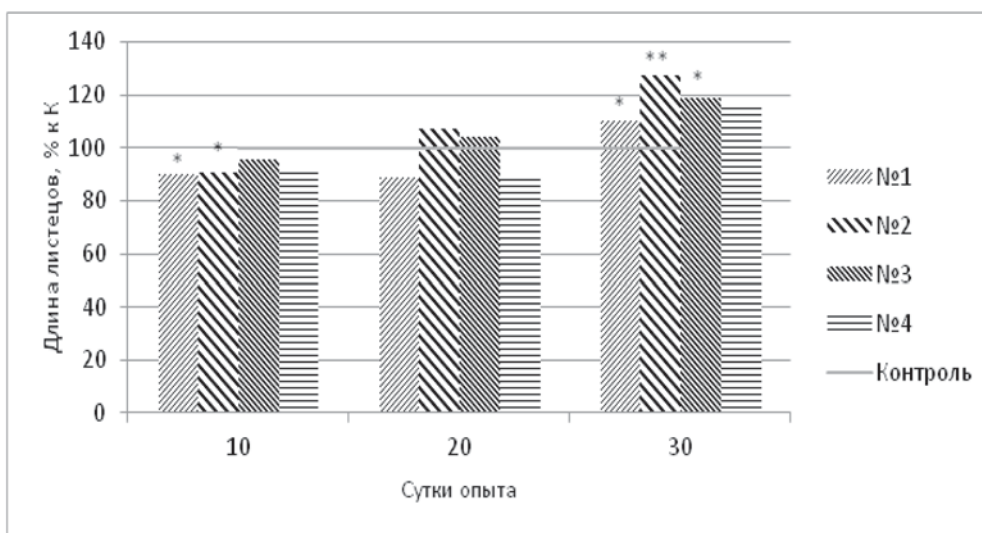


Рис. 3. Длина материнских листочков (F_0) *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

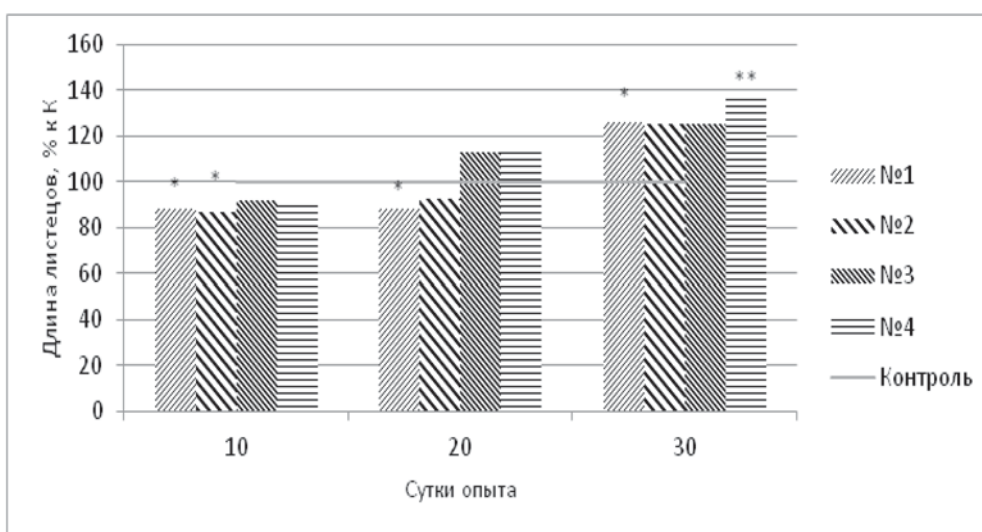


Рис. 4. Длина материнских листочков (F_0) *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

Статистически достоверное увеличение длины листцов 1 поколения (F_1) отмечали только в пробах оз. № 2 на 30 сут (на 30,6 %) (рисунок 5). Незначительно, но статистически достоверное увеличение роста листцов наблюдали и в литорали оз. № 4 — на 19,1 %.

На 10 сут опыта, в большинстве профундальных проб длина листцов F_1 была незначительно выше уровня К. Статистически достоверное увеличение длины листцов 1 поколения (F_1) отмечали в пробах оз. № 1 — на 20 и 30 сут (на 30,4 и 31,3 %), оз. № 4 — на 10 сут (на 13,8 %) (рисунок 6).

Увеличение длины листцов в последующих поколениях (F_2 и F_3) не наблюдали.

В поколении F_2 длина листцов в литоральных пробах на 10 сут опыта была ниже уровня К, максимальное

снижение отмечали в суспензиях грунтов оз. №№ 1 и 4 (контрольное) на 48,9 и 81,0 % соответственно. В тех же самых пробах на 20 сут наблюдали увеличение роста листцов на 24,0 и 35,5 %. К 30 сут разница с К во всех исследуемых пробах нивелировалась, отклонения с К были незначительными и составили 7,8 — 11,4 % (рисунок 7).

В профундальных пробах максимальное достоверное снижение длины листцов второго поколения (F_2) отмечали в пробах оз. №№ 1 и 2 на 72,9 и 54,3 % соответственно (рисунок 8). На 20 и 30 сут опыта в суспензиях грунтов этих озер рост листцов увеличивался, и длина их была на уровне К или превышала таковую (на 29,6–40,1 %). В суспензиях грунтов оз. № 3 разница с К была незначительной на протяжении опыта и нивелировалась к концу эксперимента. Длина листцов

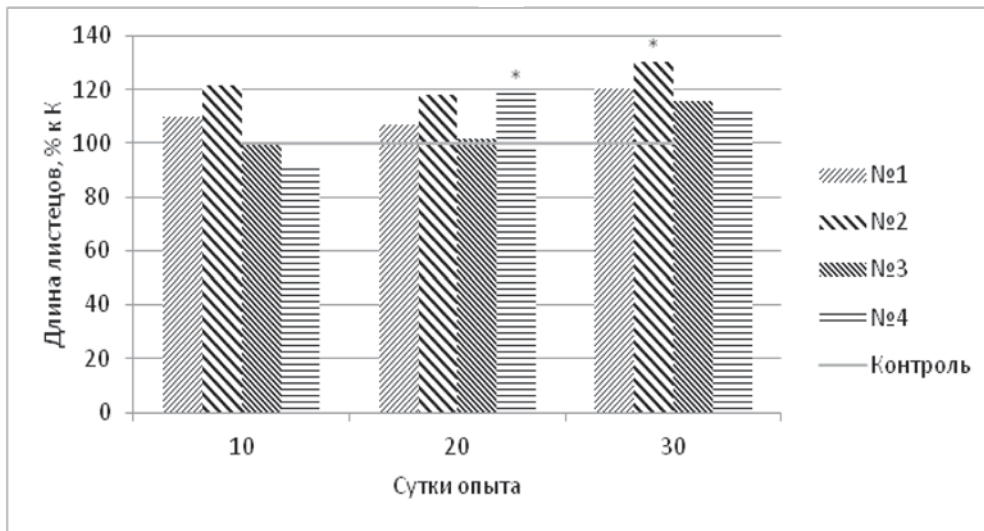


Рис. 5. Длина листцов поколения F_1 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

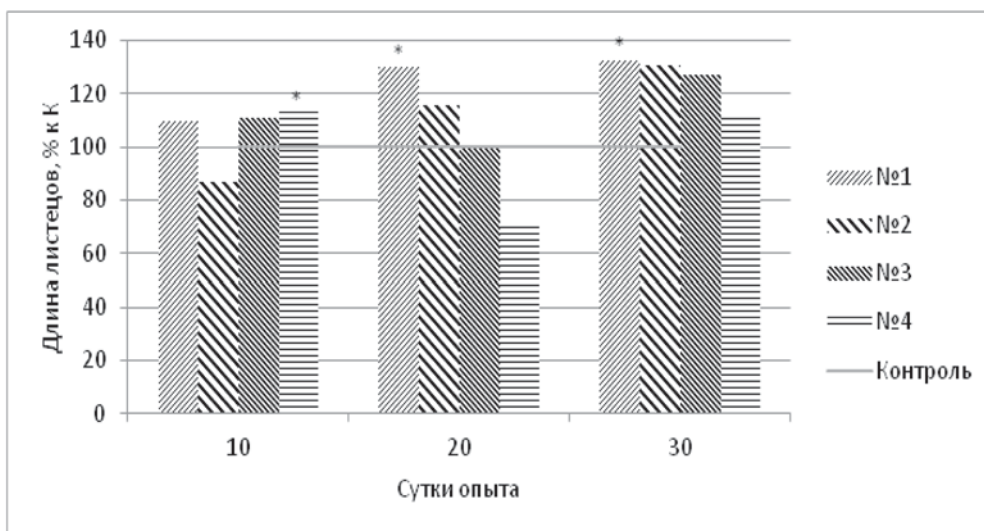


Рис. 6. Длина листцов поколения F_1 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

в суспензиях грунтов оз. № 4 была снижена против К на 17,6–57,4 % (рисунок 8).

В поколении F_3 длина листецов *L. minor* на 10 сут опыта в литоральных грунтах была снижена, максимальное достоверное отклонение отмечали в грунтах оз. №№ 2 и 4 (ниже К на 77,8–87,7 %) (рисунок 9). На 20 сут в литоральных пробах оз. №№ 1 и 3 рост листецов увеличивался на 37,4–38,6 %, в пробах оз. №№ 2 и 4 длина опытных листецов была на уровне К. На 30 сут вновь отмечали снижение длины листецов по сравнению К на 19,0–39,7 % в грунтах оз. №№ 2–4 (рисунок 9).

Профундальные пробы оз. №№ 1–3 оказались еще более токсичными, длина их на 10 сут опыта была снижена по сравнению с К на 98,8–99,4 % (рисунок 10). Однако, к 20 сут разница с К нивелировалась, но к 30 сут вновь

отмечали отклонение от К, длина листецов максимально была снижена в суспензиях грунтов оз. № 1 на 36,2 %. В суспензиях грунтов оз. № 4 длина листецов была статистически достоверно снижена на протяжении всего эксперимента на 83,3, 59,6 и 12,5 %, соответственно, на 10, 20 и 30 сут опыта (рисунок 10).

Листецы 4 поколения (F_4) в литоральных и профундальных пробах оз. №№ 1–3 появились только на 20 сут опыта. Длина листецов в суспензиях грунтов оз. № 1 по сравнению с К была снижена на 67,2 %, в грунтах оз. № 2 — больше К на 164,1 %. В суспензиях грунтов оз. № 4 (контрольное) листецы 4 поколения появились на 10 сут опыта, длина их была ниже К уровня на 93,9 %, к 20 сут рост листецов увеличился по сравнению с К на 51,6 %. К 30 сут листецы 4 поколения отмечали только в профун-

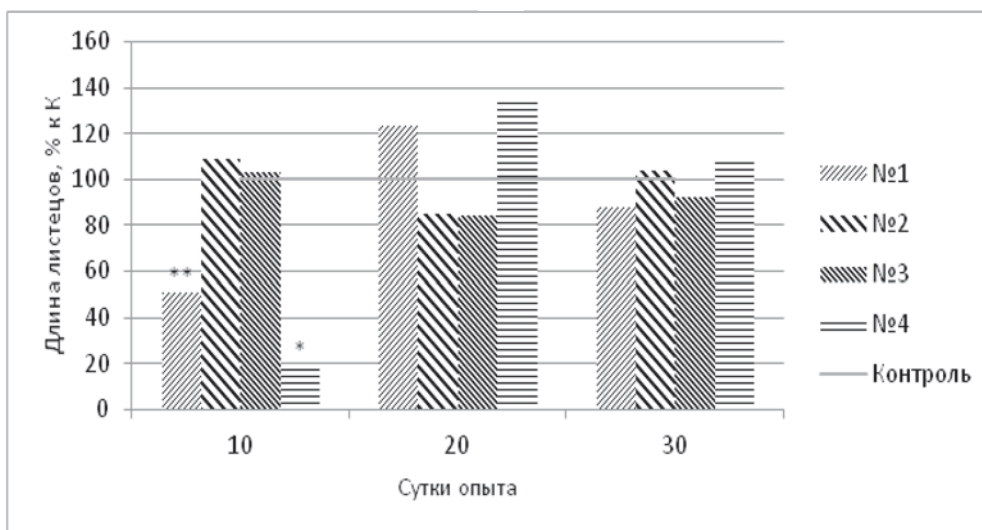


Рис. 7. Длина листецов поколения F_2 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

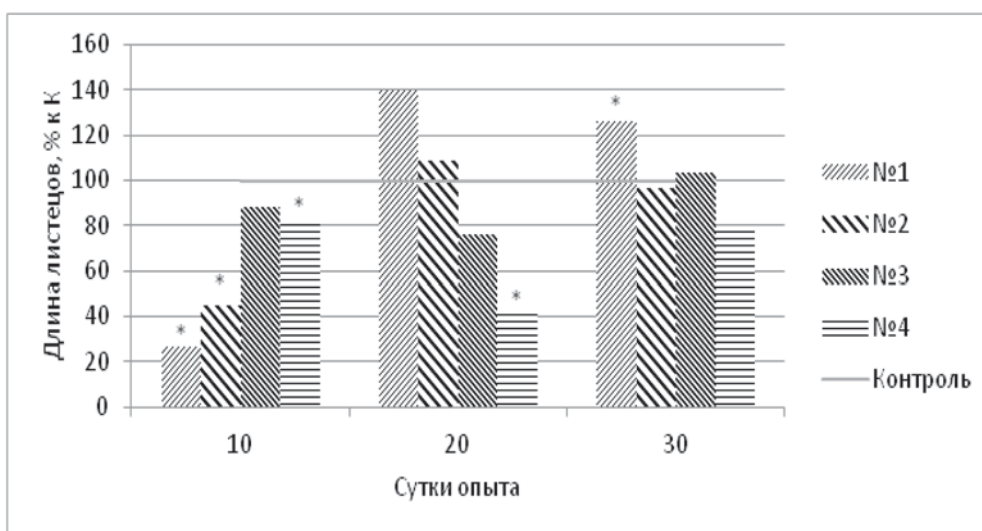


Рис. 8. Длина листецов поколения F_2 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

дальных грунтах оз. № 2, длина их была меньше уровня К на 13,3 %.

Угнетение испытывала и корневая система *L. minor*. В первые 10 сут появление корней было незначительно, но больше К уровня (на 10,7–24,3 %). Начиная с 20 сут, количество листцов в большинстве тестируемых проб увеличивалось, а количество корней снижалось. Количество корней в суспензиях грунтов оз. № 1 и 4 снизилось: на 20 сут — на 34,3 и 28,6 % ($P < 0,05$), на 30 сут — на 62,7 и 28,4 % соответственно. К 30 сут количество корней было меньше уровня К на 11,8 и 33,3 % в грунтах оз. №№ 2 и 3 соответственно (рисунок 11).

В профундальных пробах также отмечали снижение количества корней в оз. №1 на 20 сут (30 %) и 30 сут (56,9 %). На 20 сут опыта количество корней было мень-

ше уровня К во всех тестируемых пробах, кроме оз. № 3 (больше К на 44,3 %). К концу эксперимента (30 сут) количество корней в тестируемых пробах было на уровне К (100 %) или больше К (на 35,3–57,8 %) (рисунок 12).

Снижение количества корней в литеральных грунтах оз. № 1 на 20 и 30 сут опыта компенсировалось их ростом, длина корней была больше уровня К на протяжении всего эксперимента на 25,9–49,0 % (рисунок 13). В других суспензиях грунтов отмечали статистически достоверное снижение длины корней на 10 сут опыта на 49,8–64,0 %, с последующим ростом и статистически достоверным увеличением по сравнению с К на 30 сут в грунтах оз. №№ 2 и 3 на 55,0 и 20,4 % соответственно (рисунок 13).

Профундальные пробы оз. №№ 2–4 угнетали ростовые процессы *L. minor* на 10 сут, длина корней была до-

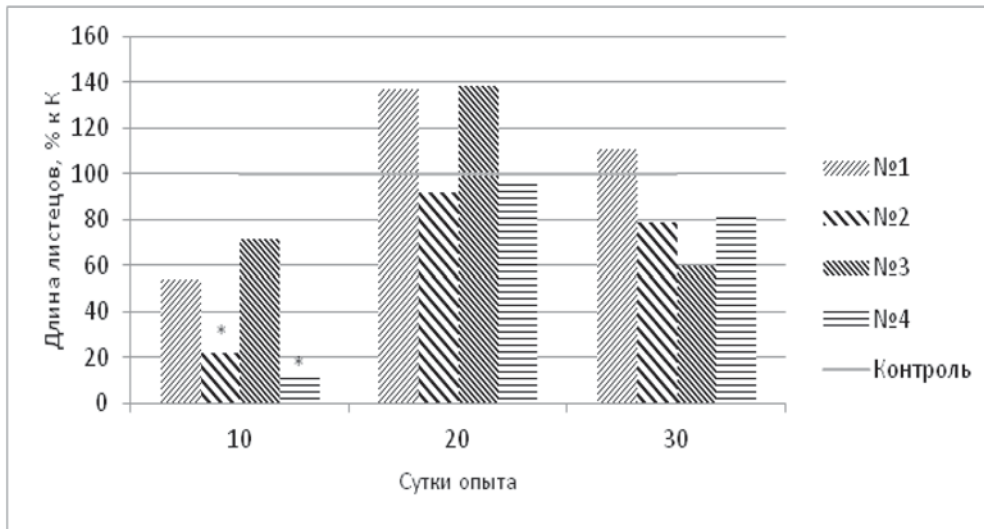


Рис. 9. Длина листцов поколения F_3 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

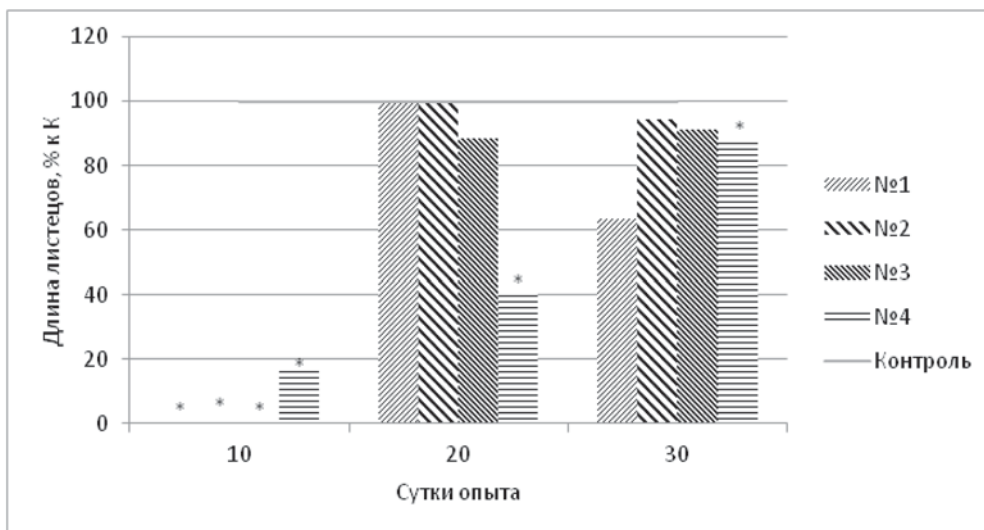


Рис. 10. Длина листцов поколения F_3 *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

стоверно меньше уровня К (на 56,1–84,9 %). На 20 сут опыта разница с К нивелировалась, исключение грунты оз. № 4, длина корней была меньше К на 62,9 %. К концу эксперимента в суспензиях грунтов оз. №№ 1–3 длина корней была больше уровня К на 26, 8–67,4 % (рисунок 14).

Итак, тестируемые грунты после очистки озер не оказывали летального действия на ряску, но влияли на ростовые процессы растений в хронических опытах. Вероятно, в связи с многоводностью 2015–2016 гг. и смыва большого количества нефтепродуктов с водосборной площади увеличилось их содержание и в ДО исследуемых озер. Береговые пробы озер №№ 1–4 были изучены с помощью дафний и ряски, где была показана их высокая степень токсичности для гидробионтов [3, 4].

Таким образом, проведенный анализ восстановительного периода показал, что грунты озер спустя два года после очистки не оказывали острого токсического действия на *Lemna minor*. При хроническом воздействии значительные отклонения отмечали по количеству листочков (вегетативное размножение), длине и количеству корней. Известно, что подавление роста и развития растительных организмов вызваны, прежде всего, нарушением корневой системы. О большей изменчивости корневой системы в ответ на токсическое воздействие известно из литературы [5–7]. Растения обладают способностью в случае очень сильного загрязнения усиливать формирование главного защитного органа — корневой системы за счёт сокращения биомассы надземной части. Эту реакцию растительного организма следует рассматривать, как вынужденную потребность растения

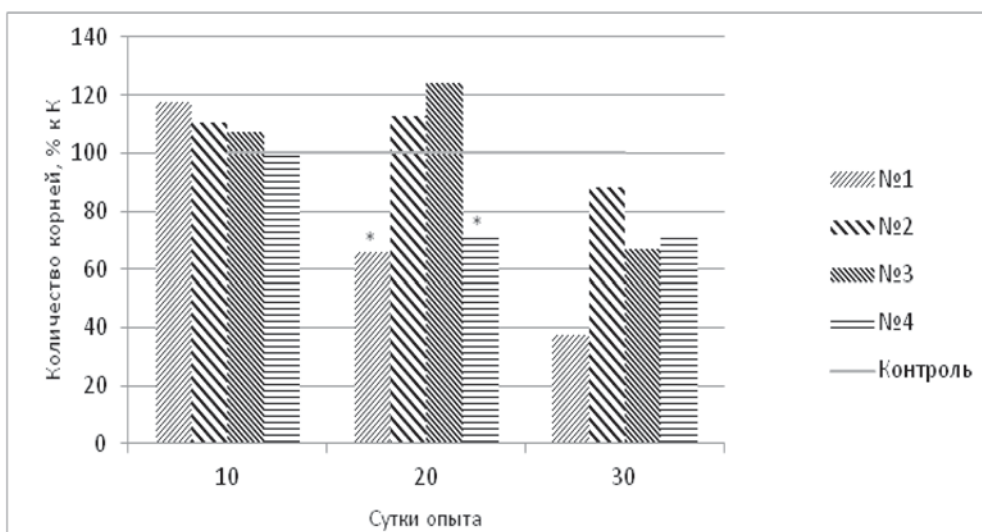


Рис. 11. Количество корней *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

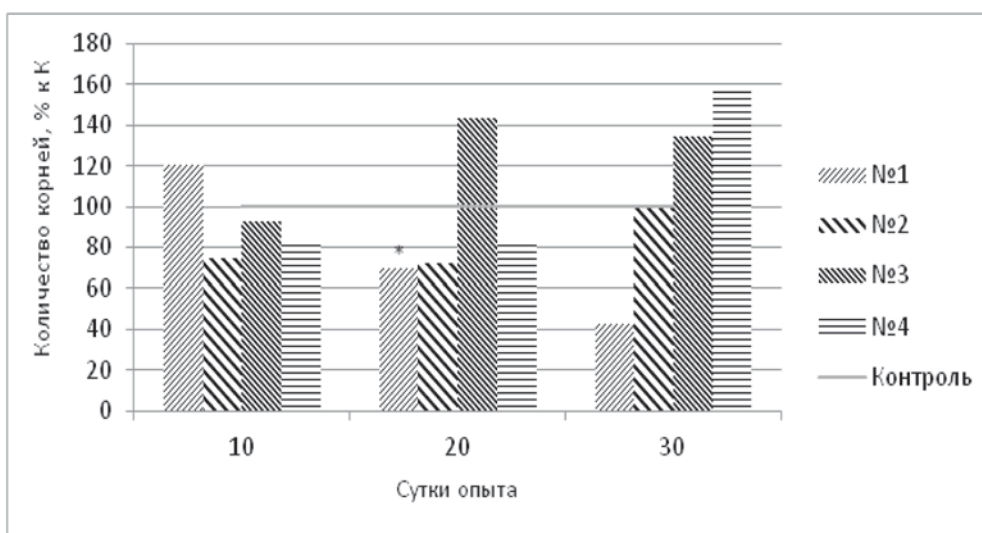


Рис. 12. Количество корней *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

усилить ёмкость корней. Корни, находясь в непосредственном контакте с загрязнителями, в большей степени подвергаются негативному воздействию токсиканта. Таким образом, корни ряски очень чувствительны к нефтяному воздействию [5]. Нельзя исключать и то обстоятельство, что корни у ряски, отрастая в ходе эксперимента, представлены молодыми, активно делящимися клетками, чувствительность которых, как известна, высока [5–7]. В клетках корней ряски после 30-дневного контакта с ДО, загрязненного нефтью, отмечали хромосомные нарушения, увеличение частоты встречаемости анафаз и телофаз с нарушениями [7]. Не исключено, что в более ранние сроки наблюдений частота хромосомных aberrаций (ХА) была бы выше, поскольку к 30 сут уменьшается число делящихся клеток, что показано в опытах с кострецом безостым [6].

Стимуляция роста растений является признаком активации защитных механизмов [8] и может быть связана не только с наличием в нефти так называемого «нефтяного ростового вещества» [9, 10], но и с присутствием в ней биогенов и микроэлементов, в том числе тяжелых металлов.

В микроколичествах тяжелые металлы (Cu, Zn, Co и др.) необходимы для роста растений, слегка повышенные (против жизнеобеспечивающих) концентрации резко стимулируют рост [11], а высокие повреждают мембраны [12], изменяют гомеостаз, ингибируют фотосинтез, изменяют биохимические процессы, вызывают гормональный дисбаланс, что в итоге приводит к торможению роста растений и гибели. Вероятно, соотношение нефтяных углеводов и тяжелых металлов

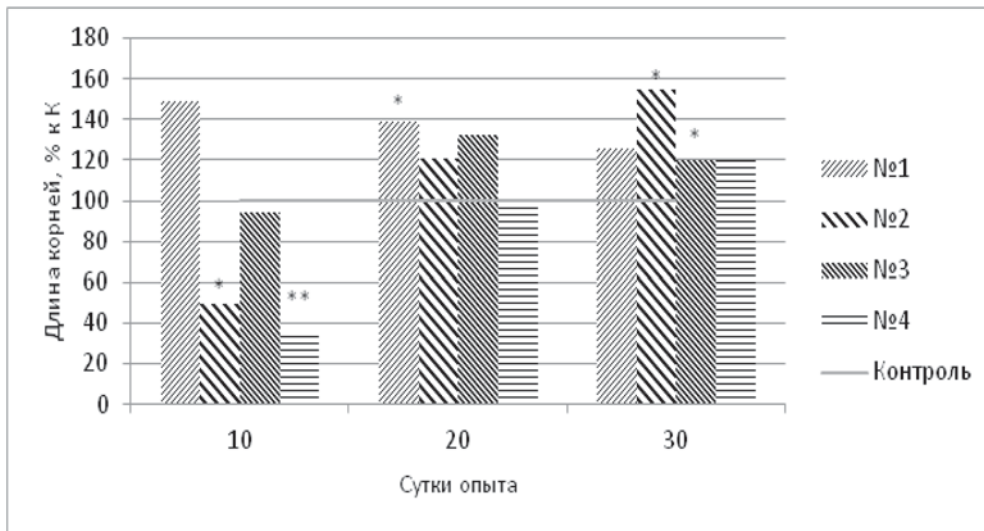


Рис. 13. Длина корней *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в литорали исследуемых озер

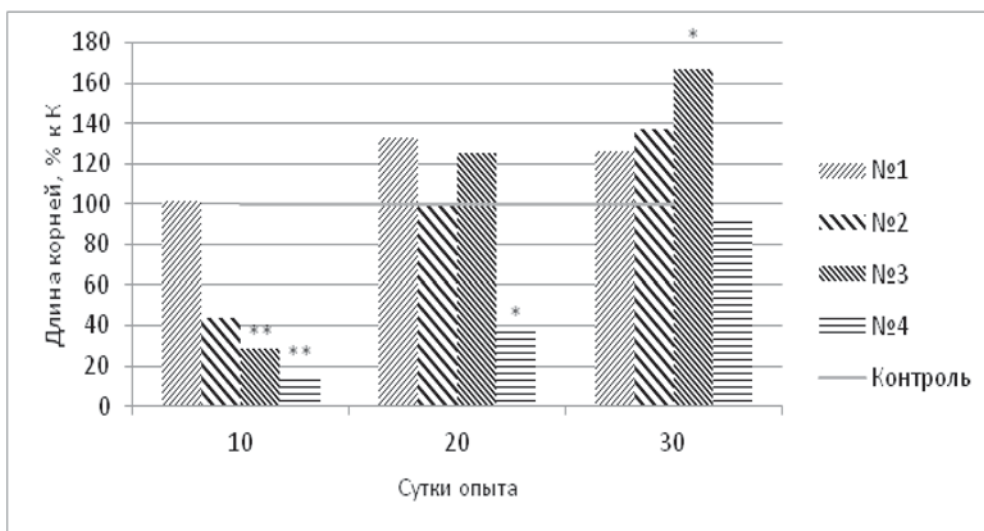


Рис. 14. Длина корней *L. minor* в пробах суспензии грунтов, отобранных в профундали исследуемых озер

при совместном действии могут вызывать различные эффекты — от стимуляции до угнетения, тоже прослеживается и при совместном действии нефти и хлоридов [6], возможно, подобное наблюдаем и в наших экспериментах.

Таким образом, проведенный анализ восстановления озер позволил сформулировать следующие рекомендации: если водосбор сильно загрязнен нефтью, требуется одновременно проводить рекультивацию территории, чтобы предотвратить повторное загрязнение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Проект очистки озера от нефтезагрязнения в районе куста 14 Южно-Аганского лицензионного участка и рекультивация прибрежной территории: Отчет по инженерным изысканиям. Нижневартовск: ЗАО СибНИПИРП, 2012. 65 с.
2. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. 134 с.
3. Титенко Н.Е., Рыбина Г.Е. Оценка токсичности донных отложений и береговых грунтов некоторых озер с помощью планктонного рачка *Daphnia magna* Straus // Интеграция науки и практики для развития Агропромышленного комплекса: Материалы Всероссийской научной конференции (Тюмень, 10 ноября 2017 г.) ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2017. С. 552–558.
4. Аксенова М.В., Рыбина Г.Е. Оценка токсичности береговых грунтов некоторых озер с территории ХМАО-Югра с помощью *Lemna minor* Linne // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: материалы VIII Международной студенческой научно-практической конференции (29 марта 2019, Тюмень). Тюмень: ГАУ Северного Зауралья, 2019. Т. 2. С. 294–298.
5. Петухова Г.А. Механизмы устойчивости организмов к нефтяному загрязнению среды: монография. Тюмень: Изд-во Тюменского гос. ун-та, 2008. 171 с.
6. Михайлова Л.В., Цулаия А.М. Стрессовое состояние высших растений в условиях нефтесолевого загрязнения почв / Окружающая среда и менеджмент природных ресурсов: Материалы V Международной конференции, г. Тюмень, 1 — 3 октября 2014 г. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2014. С. 157–159.
7. Рыбина Г.Е., Михайлова Л.В., Петухова Г.А. Оценка токсичности донных отложений некоторых водных объектов по их действию на макрофиты // Вестник рыбохозяйственной науки. 2019. Т.6. № 2 (22). С. 48–64.
8. Gechelf K. J. Mutagenic action of caffeine on ethylenimine induced strucae mutations in burley chromosome // Exp. Mutagenesis Plant. 1976, pp. 119–124.
9. Згуровская Л.Н. Влияние нефтяного ростового вещества на интенсивность фотосинтеза и темп деления клеток // Гидробиол. журн. 1969. № 1. С. 55–59.
10. Миронов О.Г. Деление некоторых диатомовых водорослей в морской воде, содержащей нефтепродукты // Науч. докл. Высш. шк. биолог. Наук. М., 1970. № 7. С. 69–72.
11. Карпевич А.Ф. Норма и патология при влиянии на гидробионты неядовитых веществ и факторов среды // Теоретические проблемы водной токсикологии. М.: Наука, 1983. С. 26–36.
12. Котелевцев С.В., Ствилинский С.Л., Бейм А.М. Эколого-токсикологический анализ на основе биологических мембран. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986. 106 с.

© Аксёнова Марина Владиславовна (aksjonova.mv@asp.gausz.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»