

УДК 595.142.3

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ДНОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ

Эмирова Д.Э., Баличиева Д.В.

*РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина
E-mail: emirovadilyara@mail.ru*

В работе представлены результаты исследования острой токсичности препарата ДНОК на дождевых червей. Установлено, что дозы препарата 2–8 г/л острым токсическим действием не обладают. Доза 16 г/л обладает острым токсическим действием, проявляющемся в 75 % гибели животных.

Ключевые слова: дождевые черви, ДНОК, острая токсичность, биотестирование.

ВВЕДЕНИЕ

Сельскохозяйственное производство входит в число основных загрязняющих факторов, что связано с применением средств защиты возделываемых культур. К сожалению, множество используемых в прошлом и настоящем препаратов обладают выраженным отрицательным действием на сельскохозяйственные культуры, проявляющемся в мутагенном, кластогенном [1], гаметоцидном [2] и общем токсическом действии, что в конечном счете приводит к снижению продуктивности растений [3]. Исследования Лісового М.П. [4] показали, что отказ от использования средств защиты растений снижает рентабельность сельскохозяйственного производства в связи с резким падением урожайности агрокультур. В данном аспекте совершенно ясно, что отказаться от использования пестицидов не представляется возможным, поэтому определение среди применяемых и предлагаемых к производству препаратов наименее токсичных для биотического компонента агроэкосистем, является актуальным экологическим направлением, имеющим большую практическую ценность.

Пестициды являются биологически активными веществами, в той или иной мере оказывающими отрицательное воздействие на биоту, в том числе на фауну беспозвоночных животных агроэкосистем и представителей почвенной биоты, имеющих важное значение в почвообразовательном процессе [5–7]. Дождевые черви принимают активное участие в процессах утилизации растительной биомассы, минерализации органических веществ, при этом они аккумулируют пестициды и другие химические вещества в количествах в сотни раз превышающих их содержание в почве [8, 9]. Данный факт позволяет широко использовать этих животных для экотоксикологических исследований влияния пестицидов на почвенную биоту [10].

При многолетнем использовании медьсодержащих фунгицидов и беномила было обнаружено полное исчезновение дождевых червей. В тех случаях, где доза беномила была ниже смертельной, препарат оказывал репеллентное действие [5].

Терещенко П.В. [11] в лабораторном опыте установил негативное действие пестицидов на дождевых червей, проявляющееся в снижении подвижности, образовании капсул и узлов. По токсическому действию на тест-организмы препараты расположились в следующей последовательности: 2,4-ДА < симазин < стомп < раундан < эрадикан < энтам < лассо. Автор отмечает, что ингибирующее действие на червей временное, и они полностью восстанавливают свою подвижность в почве, содержащей препараты в количествах, соответствующих нормам их расхода. При исследовании контактного действия инсектицидов (ДДТ, гептахлор, фталофос, циперметрин, альфаметрин, фенвалерат) на половозрелых дождевых червей *Eisenia foetida* методом контакта со стеклянной поверхностью, обработанной ацетоновыми растворами инсектицидов, выявлена высокая устойчивость червей к тестируемым препаратам [12].

При исследовании влияния аммиачной селитры (20, 40, 80 кг/га) на морфологию дождевых червей во всех случаях наблюдали явление отека и деструктивные изменения в органах тела. Исследователи указывают на прямую зависимость усиления морфологических изменений органов дождевых червей от степени загрязнения почвы [13]. К аналогичному заключению пришел и Butt Kevin R., обнаруживший зависимость видового разнообразия и степени повреждения органов тела сообществ 14 видов дождевых червей от уровня антропогенной нагрузки в различных биотопах [14].

В связи с этим целью нашего исследования явилось биотестирование различных концентраций препарата ДНОК на представителей почвенной биоты на примере дождевых червей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовали лабораторную популяцию дождевых червей, полученную в результате регенерации и последующего размножения одной исходной особи, что дало нам возможность получить генетически однородную популяцию.

В эксперименте использовали тест на острую токсичность [15] (acute toxicity), основанный на определении выживаемости и поведенческих реакций дождевых червей при воздействии токсических веществ, содержащихся в тестируемой почве. Кратковременное биотестирование (screening test) дает возможность определить острое токсическое воздействие почвенных поллютантов на дождевых червей по их выживаемости и поведенческим реакциям. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой почве или в контроле за время экспозиции. Критерием токсичности является гибель 50 % и более дождевых червей за двое суток. Показателем поведенческих реакций животных является скорость зарывания в грунт. Критерием токсичности является отсутствие зарывания тест-объектов в почву, активное ползание по ее поверхности и попытки покинуть посуду (avoidance test).

Перед проведением эксперимента червей на сутки помещали в субстрат, увлажненный дистиллированной водой, излишек влаги адсорбировали фильтровальной бумагой и переносили по десять червей в стеклянные банки

(емкостью 1 л) на поверхность почвы, увлажненной различными концентрациями препарата ДНОК. Посуду закрывали полиэтиленовыми крышками с отверстиями для аэрации и содержали при постоянной температуре ($t=20-24^{\circ}\text{C}$) и освещении [10]. Животных во время проведения эксперимента не кормили.

В своих исследованиях мы использовали ДНОК (с рекомендуемой нормой расхода 40 г на 10 л воды), имеющий широкое применение в агропромышленном комплексе Крыма в качестве инсектицида, гербицида и фунгицида [2].

Для определения острой токсичности препарата ДНОК червей содержали на протяжении двух суток в почве, увлажненной различными концентрациями тестируемого пестицида (2, 4 (рекомендуемая доза), 8 и 16 г/л). Растворы препарата готовили непосредственно перед экспериментом на основе дистиллированной воды. Контрольный вариант – почва, увлажненная дистиллированной водой. Наблюдения проводили в четырехкратной повторности. На протяжении эксперимента следили за общим состоянием животных, их активностью, реакцией на прикосновения. Животных считали мертвыми, если они не реагировали на раздражение фронтального отдела тела [10, 15].

Для определения острой токсичности различных концентраций ДНОК в почве использовали формулу расчета, разработанную для водных беспозвоночных [16]:

$$A=(X_k-X_l): X_k \cdot 100,$$

где A – показатель острой токсичности, %;

X_k – среднее количество выживших дождевых червей в контроле;

X_l – среднее количество выживших червей в опытных вариантах.

При $A \leq 10\%$ – тестируемая почва не оказывает острого токсического действия.

При $A \geq 50\%$ – тестируемая почва оказывает острое токсическое действие.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Microsoft Excel 2000”. Достоверность различий полученных данных определяли с помощью t -критерия Стьюдента [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что тестируемый препарат оказывает определенное влияние на исследуемые показатели дождевых червей. При концентрации препарата 2 г/л ни изменения поведенческих реакций, ни смертности тест-объекта мы не наблюдали. В ходе эксперимента не выявлено различий между контролем и указанной дозой для учитываемых параметров. Данный факт позволил прийти к заключению, что указанная концентрация препарата токсического действия на тест-объекты не оказывает.

Увеличение концентрации ДНОК (4 и 8 г/л) смертности червей не вызывало, однако мы наблюдали угнетение поведенческих реакций животных по мере увеличения концентрации пестицида. В частности, при дозе 4 г/л (рекомендуемая к производству) у 20 % особей наблюдалось снижение двигательной активности и поведенческих реакций, при увеличении дозы в два раза (8 г/л) возрастало количество особей (65 %) с угнетением двигательной активности (рис. 1). Животные находились на поверхности субстрата, отдельные особи предпринимали попытки к выползанию из посуды, данные поведенческие реакции являются критерием токсичности субстрата [15].

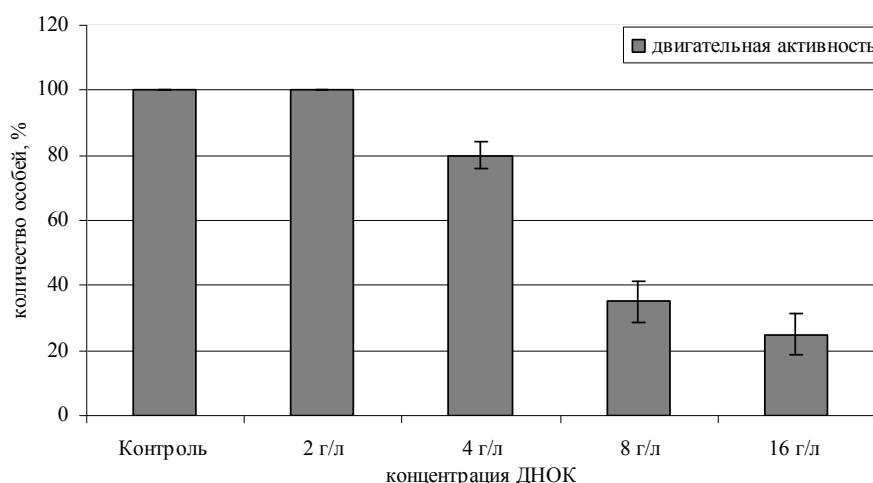


Рис. 1. Влияние различных доз препарата ДНОК на двигательную активность дождевых червей.

Дальнейшее увеличение дозы ДНОК приводило не только к снижению двигательной активности и поведенческих реакций тест-животных, но и к их гибели. Смертность при дозе 16 г/л составила в среднем 75 %. При осмотре погибших особей были обнаружены многочисленные повреждения эпителия кожи. Следовательно, доза 16 г/л является для дождевых червей летальной.

Расчет показателя острой токсичности показал, что тестируемый препарат в диапазоне доз 4–8 г/л не обладает острым токсическим эффектом. При внесении в почву 16 г/л препарата ДНОК смертность животных составила 75 %, что свидетельствует об остром токсическом действии данной дозы на дождевых червей.

ВЫВОДЫ

1. Тестируемый препарат в диапазоне концентраций 2–8 г/л не обладает токсическим действием. Дозы 4 и 8 г/л вызывают снижение двигательной активности и поведенческих реакций тест-животных.
2. Рекомендуемая к производству доза не оказывает токсического действия на дождевых червей.
3. Препарат ДНОК в дозе 16 г/л показал острое токсическое действие на дождевых червей, так как вызывал смертность 75 % животных.

Список литературы

1. Панди Р.М. Цитотоксическое действие пестицидов на соматические клетки *Vicia faba* L. / Р.М. Панди // Цитология и генетика. – 2008. – № 6. – С.13–19.
2. Эмирова Д.Э. Показатель стерильности мужского гаметофита *Zea mays* L. как критерий палинотоксичного влияния ксенобиотиков / Д.Э. Эмирова, Д.В. Баличиева, Э.Э. Ибрагимова // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2010. – Вып. 2. – С. 200–205.

3. Rola H. Wpływ herbicydów na wzrost, rozwój i planowanie mieszańców *Kykyrydzy* : Ref. 38. Sec. nauk. Inst. ochr. rosl., Poznan, 1998 / H. Rola // Post. ochr. rosl. – 1998. – Vol. 38, № 1. – P. 73–78.
4. Лісовий М.П. Інтегровані методи захисту рослин і можливості альтернативного (біологічного) землеробства в Україні / М.П. Лісовий // Вісн. аграр. науки. – 1997. – № 9. – С. 37–40, 97, 99.
5. Охрана окружающей среды при использовании пестицидов / [Бублик Л.И., Васильев В.П., Гороховский Н.А. и др.; под ред. В.П. Васильева]. – К.: Урожай, 1983. – 128 с.
6. Мезофауна почвенных беспозвоночных некоторых агроценозов Чебоксарского района Чувашской республики / В.И. Кириллова, А.Ф. Большова, С.А. Порфирьева [и др.] // Экологический вестник Чувашии. – 1996. – № 15. – С. 63–64.
7. Dieter Charles D. The effect of phorate on wetland macro invertebrates / D. Dieter Charles, G. Duffy Walter, D. Flake Lester // Environ. Toxicol. and Chem. – 1996. – Vol. 15, № 3. – P. 308–312.
8. Farenhorst A. Sorption of atrazine and metolachlor by earthworm surface castings and soil / A. Farenhorst, V.T. Bowman // J. Environ. Sci. and Health B. – 2000. – Vol. 35, № 2. – P. 157–173.
9. Ma Wei-chun. Earthworm and food interaction on bioaccumulation and disappearance in soil of polycyclic aromatic hydrocarbons: Studies on phenanthrene and fluoranthene / Ma Wei-chun, J. Immerzeel, J. Bodt // Ecotoxicol. and Environ. Safety. – 1995. – Vol. 32, № 3. – P. 226–232.
10. Залоїло О.В. Екотоксикологічна оцінка пестицидів за впливом на індикаторні групи ґрунтових організмів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 03.00.16 «Екологія» / О.В. Залоїло – К., 2006. – 18 с.
11. Терещенко П.В. Действие гербицидов на дождевых червей / П.В. Терещенко // Известия ТСХА. – 1997. – № 3. – С. 99–107.
12. Терещенко П.В. К вопросу о воздействии инсектицидов на дождевых червей / П.В. Терещенко // Агрехимия. – 1996. – № 12. – С. 101–105.
13. Атощенко В.Ф. Морфо-анатомические изменения у дождевых червей, вызываемые химическими веществами антропогенного происхождения / В.Ф. Атощенко, Ж.А. Яковлева // Пробл. почв. зоол.: Биоразнообразие и жизнь почв. системы: Матер. 2-го (12-го) Всерос. совещ. по почв. зоол., [Москва, 1999]. – М., 1999. – С. 145–146.
14. Butt Kevin R. Earthworms of the Malham Tarn estate (Yorkshire Dales National Park) / R. Butt Kevin // Field Stud. – 2000. – Vol. 9, № 4. – P. 701–710.
15. Жарикова Г.А. Оценка интегральной токсичности почв биотестированием на дождевых червях / Г.А. Жарикова – Режим доступа: <http://www.green-pik.ru/sections/98.html&article=19>
16. Методика определения токсичности сточных вод методом биотестирования – Режим доступа: <http://2002.vernadsky.info/raboty/e5/w02423.htm>
17. Плохинский Н.А. Биометрия / Плохинский Н.А. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.

Емірова Д.Е. Біотестування гострої токсичності препарату ДНОК з використанням дощових черв'яків / Д.Е. Емірова, Д.В. Балічієва // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 1. – С. 159-163.

В роботі наведено результати дослідження гострої токсичності препарату ДНОК на дощових черв'яків. Встановлено, що дози препарату 2–8 г/л гострої дії не мають. Доза 16 г/л має гостру токсичну дію, яка виявляється в 75 % смертності тварин.

Ключові слова: дощові черви, ДНОК, гостра токсичність, біотестування.

Emirova D.E. Biotesting acute toxicity of DNOC on earthworms / D.E. Emirova, D.V. Balichiyeva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 1. – P. 159-163.

The article presents the results of research of acute toxicity of DNOC on earthworms. It is proved that the dose of 2–8 g/l does not possess acute toxic effects. The dose of 16 g/l has acute toxic effect which occurs in 75 % of animal death.

Keywords: earthworms, DNOC, acute toxicity, biotesting.

Поступила в редакцію 12.03.2011 г.