

Влияние загрязнения почвы моторным маслом SAE 15W-40 на выживаемость и некоторые репродуктивные показатели дождевых навозных червей

А.Ю. Тарасевич

Государственное научно-производственное объединение «Научно-практический центр
Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам», Минск

В статье приведены результаты изучения влияния моторного масла SAE 15W-40 на искусственную популяцию дождевых навозных червей (*Eisenia foetida*, Savigny, 1826). Тест на острую летальность проведен согласно канадским рекомендациям Biological Test Method (2007). Рассчитан процент смертности навозных червей в зависимости от концентрации загрязнителя в почве, а также LC_{50} (14 дней) моторного масла в почве для этих животных. Оценка основных репродуктивных параметров популяции дождевых навозных червей в грунте, загрязненном моторным маслом круглогодичного применения, проведена согласно ISO 11268-2. Рассмотрены основные репродуктивные параметры популяции червей в загрязненном субстрате. Показано, что популяция навозных червей способны жить и размножаться в почвах, содержащих нефтепродукты и подлежащих ремедиации.

Ключевые слова: дождевые навозные черви, загрязнение почвы нефтепродуктами, моторное масло.

The impact of soil pollution with motor oil SAE 15W-40 on muckworm survival and reproduction rate

A.Yu. Tarasevich

State Scientific and Production Amalgamation «The Scientific and Practical Center
for Bioresources», Minsk

The article contains the assessment of the impact of motor oil SAE 15W-40 on earthworm (*Eisenia foetida*, Savigny, 1826) population. Acute lethality test was held according to Canadian Biological Test Method (2007) recommendations. The worm mortality percentage in relation to contaminant concentration and LC_{50} (14 days) of the oil was calculated. The evaluation of basic reproductive performance of the animals in polluted with motor oil soil was examined according to ISO 11268-2. Basic reproduction parameters of earthworm population dwelling in intoxicated soil were considered. It is shown that earthworm population is able to live and reproduce in soil, polluted with petrochemicals and subjected to remediation.

Key words: muckworms, pollution of soil with petrochemicals, motor oil.

В настоящее время в Республике Беларусь внимание экологов привлекает загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами, связанное с интенсивным использованием автомобильного и железнодорожного транспорта. В природных условиях трансформация углеводородов нефти протекает под воздействием всех составляющих комплекса почвенной биоты, но процесс этот длителен. Современное загрязнение требует комплексных подходов к очистке почв для скорейшего их возвращения в сельскохозяйственный оборот. Известно, что жизнедеятельность дождевых червей ускоряет процессы биодegradации нефтяного загрязнения почв. Предлагается [1] использовать культивируемые популяции дождевых червей для экологической реабилитации загрязненных нефтью почв, поскольку эти животные улучшают структуру почвы, и,

тем самым, способствуют скорейшему ее очищению [2]. Устойчивость популяции червей к загрязнению зависит от условий окружающей среды (температуры, влажности, состава субстрата). Также немаловажными являются характеристики самой популяции (размер, возрастной состав) [3], хотя основополагающими всегда будут концентрации загрязнителя в почве и возраст загрязнения.

Для внедрения в Республике Беларусь практики зарубежных стран по ремедиации загрязненных нефтепродуктами грунтов и почв с использованием культивируемых популяций навозных червей (*Eisenia foetida*, Savigny, 1826) необходимо предварительно проверить применимость подобных методик в местных условиях. Для экологической реабилитации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, пред-

лагается использовать искусственные популяции местных видов дождевых червей [4].

Цель данной работы – определение токсичности различных концентраций моторного масла в субстрате для культивируемой популяции навозных червей, оценке репродуктивных параметров популяции червей в загрязненном субстрате. Для этого моделировали загрязнение почвы моторным маслом круглогодичного применения (марки 15W-40).

Материал и методы. В экспериментах использованы половозрелые особи навозного червя *E. foetida* из маточной популяции сектора вермитехнологий ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», моторное масло SAE 15W-40 (сульфатная зольность 1,05%), дерново-подзолистая почва (рН = 6,85), отобранная с территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси (верхний 10 см слой), ферментированный навоз (рН = 8,3) крупного рогатого скота (КРС).

Тест на острую летальность провели согласно Biological Test Method (BTM) [5] с использованием естественной (условно чистой) почвы, в которую внесли моторное масло. Продолжительность теста – 14 дней. Процент смертности червей рассчитывали в середине (на 7-й день) и в конце (14-й день) опыта. В конце опыта подсчитывали количество коконов в каждом контейнере. По результатам опыта рассчитывалась ЛК₅₀ моторного масла для навозных червей в грунте.

Почва для модельных исследований была отобрана, просушена, просеяна через сито с ячейкой 3 мм (согласно [6]). К почве для питания червей добавили навоз КРС из расчета 20% от общей массы. В эксперименте влажность субстрата доводили до 70% дистиллированной водой, чтобы поверхность субстрата постоянно была влажной, но в контейнерах не застаивалась вода. Почвенные частицы не должны прилипать к животным. Почва считается условно чистой, если суммарное количество вредных веществ в ней не вызывает гибели более 5% от всей популяции обитающих в ней дождевых червей [5]. В качестве контроля использовали почву с навозом, без загрязнителя. Зафиксирована 95% выживаемость червей в течение 14 дней. Исходный субстрат соответствовал требованиям – был пригоден для использования в экспериментах.

В смесь внесли масло SAE 15W-40 в концентрациях 1 000, 2 000, 4 000, 6 000, 8 000, 10 000, 12 000 мг/кг. Загрязненную смесь распределили по контейнерам ($V = 3,3 \text{ дм}^3$) навесками по 0,5 кг. Каждую концентрацию загрязнителя взяли в трехкратной повторности. В опыте использовано 24 контейнера.

Червей внесли через сутки после подготовки субстрата по 5 особей на контейнер, содержали при $T_{\text{почвы}} = 20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Оценка основных репродуктивных параметров популяции дождевых червей в грунте, загрязненном моторным маслом круглогодичного применения, проводилась согласно ISO 11268-2 [7] с оригинальной модификацией. В каждый контейнер было запущено по 10 половозрелых особей навозных червей. Тест длился 8 недель в условиях, аналогичных предыдущему тесту. Использовались субстраты в контейнерах с такими же концентрациями моторного масла. Способность навозных червей к размножению в загрязненном грунте оценивали по количеству коконов, отложенных червями, проценту живых коконов от общего числа сброшенных коконов, количеству ювенильных особей в одном коконе. Для сравнения использовали репродуктивные показатели навозных червей, содержащихся в чистой почве при прочих равных условиях.

После содержания червей в контейнерах в течение 4 недель субстрат был обследован на наличие яйцевых коконов червей. Найденные коконы поместили для инкубации в чашки Петри с аналогичным субстратом (навески по 10 граммов на чашку) при $T_{\text{почвы}} = 23 \pm 2^\circ\text{C}$, влажности 80%. Через 3 недели была проведена проверка содержимого чашек Петри, произведен учет ювенильных особей и целых коконов дождевых червей в чашках. Молодь отсадили, целые коконы оставили в чашках еще на 7 дней, после чего процедуру повторили.

Химический анализ исходного субстрата осуществлен на анализаторе «Флюорат 02-3М». Флуориметрический метод измерения массовой доли нефтепродуктов в почве основан на их экстракции из образца гексаном и измерении интенсивности флуоресценции очищенного экстракта на приборе [8]. Субстрат высушивали, измельчали, просеивали, экстрагировали загрязнитель гексаном, измеряли массовую долю моторного масла в экстракте. Концентрации загрязнителя рассчитывались на сухую массу субстрата.

Результаты и их обсуждение. Результаты теста на острую летальность, приведенные в табл. 1–2, свидетельствуют о том, что при концентрациях моторного масла в субстрате до 1 000 мг/кг (20 ПДК нефтепродуктов в почвах сельскохозяйственного назначения [9]) выживаемость навозных червей равна 100%. Моторное масло в концентрациях 2 000 мг/кг почвы (40 ПДК) убивает до 33,4% животных. За 2 недели 12 000 мг/кг масла в субстрате сокращает численность навозных червей на 53,5%.

Таблица 1

Смертность червей при загрязнении почвы моторным маслом в различных концентрациях

Показатель	Концентрация моторного масла, мг/кг						
	1 000	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000	12 000
Смертность, % (7-й день)	0,0	0,0	26,6	13,4	0,0	6,6	40,0
Смертность, % (14-й день)	0,0	33,4	33,4	33,4	26,6	40,0	53,4

Таблица 2

Количество коконов в каждом контейнере по окончании теста на летальность

Показатель	Концентрация моторного масла, мг/кг							
	0	1 000	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000	12 000
Коконы, шт.	8,10	3,00	3,33	1,00	3,00	1,67	0,33	1,00

Таблица 3

Зависимость сброса навозными червями яйцевых коконов от концентрации моторного масла в субстрате

Показатель	Концентрация моторного масла, мг/кг							
	0	1 000	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000	12 000
Всего коконов за опыт, шт.	97,2	18	20	20	18	10	6	4
Среднее количество коконов в контейнерах, шт.	32,4	6,0	6,6	6,6	6,0	3,4	2,0	1,3

Количество отложенных червями коконов является одним из основных показателей, по которым рассчитывается репродуктивная способность популяции червей в целом. Количество коконов в каждом контейнере с загрязненным субстратом после 14 дней содержания в нем животных представлено в табл. 2.

Количество отложенных червями коконов при концентрациях моторного масла 1 000 мг/кг снизилось в 2,68 раза, 2 000 мг/кг – 1,6, 4 000 мг/кг – 5,37, 6 000 мг/кг – 1,79, 8 000 мг/кг – 3,54 раза. Исходя из полученных данных можно предположить, что моторное масло в субстрате в концентрациях 2 000 мг/кг и 6 000 мг/кг стимулирует сброс коконов навозными червями. То есть снижение численности особей в контейнерах стимулирует размножение выживших особей. При содержании в субстрате 10 000 мг/кг и 12 000 мг/кг моторного масла некоторые выжившие особи навозных червей еще способны откладывать коконы, но, как показывают дальнейшие наблюдения, такие коконы зачастую нежизнеспособны.

Тест на острую летальность выявил, что в заданных условиях ЛК₅₀ моторного масла

для популяции навозных червей достигает 11 500 мг/кг. Дальнейшие наблюдения за червями в загрязненном субстрате показали, что все навозные черви в контейнерах с сильно загрязненным субстратом (10 000 мг/кг и 12 000 мг/кг) погибли через 2,5 месяца.

Результаты восьминедельного теста на репродуктивную способность навозных червей в загрязненной почве представлены в табл. 3. Основываясь на полученных данных можно заключить, что навозные черви чутко реагируют на загрязнение машинным маслом уже в концентрациях 1 000 мг/кг, и при содержании масла в почве более 8 000 мг/кг перестают откладывать коконы. Даже при концентрациях масла в почве, при которых наблюдается 100% выживаемость популяции (1 000 мг/кг), их репродуктивная способность является низкой: черви откладывают 18,5% коконов от контроля. Таким образом, свежее загрязнение почвы моторным маслом значительно снижает репродуктивную способность навозных червей.

В субстратах с концентрацией масла 10 000 мг/кг коконы появились через 3 недели после внесения червей в загрязненный субстрат.

Количество коконов, отложенных одним червем за неделю, в 2,9 раза превысило количество коконов, отложенных одним червем в контроле при прочих равных условиях (2,33 и 0,81). Процент живых коконов от общего числа сброшенных коконов составил 18,5% (в чистом субстрате – 59,5%), в то время как количество ювенильных особей в коконе равнялось 1,00 (в контроле – 2,04). Общая репродуктивная способность червей в загрязненном субстрате составила 85% от таковой в незагрязненном.

Известно, что почва обладает способностью самоочищаться от углеводородного загрязнения благодаря размножению нефтеокисляющих микроорганизмов [цит. по 10]. Содержание нефтепродуктов в почве несколько снижается в первые месяцы после загрязнения. В дальнейшем очищение идет медленнее [11]. Через 6 месяцев было проведено повторное заселение сильнозагрязненных субстратов навозными червями. По истечении 2 недель зафиксирована 100% выживаемость животных. Еще через 2 недели в контейнерах осталось 45% популяции. Для питания червей в контейнеры дополнительно (раз в 3 месяца) вносили ферментированный навоз КРС. В отличие от предыдущего эксперимента, на протяжении последующего полугодия количество червей в субстратах не снизилось, повысилась репродуктивная способность. Это свидетельствует о способности дождевых червей по прошествии некоторого времени заселять субстраты с высоким исходным загрязнением вследствие снижения токсичности субстрата.

Рекультивацию почвы применяют в тех случаях, когда количество углеводородов в ней слишком мало, чтобы использовать механические способы («срезание» наиболее загрязненного поверхностного слоя и его утилизация), но слишком велико, чтобы использовать загрязненные земли в сельскохозяйственных целях [10]. Навозные черви не только выживают в субстратах, загрязненных моторным маслом до 8 000 мг/кг, но и размножаются в них. Следовательно, искусственные популяции червей мож-

но применять для рекультивации почв с загрязнением моторным маслом до 8 000 мг/кг.

Заключение. Установлено, что максимальная концентрация в субстрате (дерново-подзолистой почве с добавлением навоза КРС) моторного масла марки 15W-40 круглогодичного применения, при которой часть популяции навозных червей способна выжить и размножиться, составляет 8 000 мг/кг, ЛК₅₀ (14 дней) загрязнителя в почве для навозных червей – 11 500 мг/кг. Количество отложенных червями коконов при концентрациях моторного масла 1 000 мг/кг снизилось в 2,7 раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Martin-Gil, J. Composting and vermicomposting experiences in the treatment and bioconversion of asphaltens from the Prestige oil spill / J. Martin-Gil [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2008. – № 99. – P. 1821–1829.
2. Schaefer, M. The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil / M. Schaefer, F. Juliane // *Applied Soil Ecology*. – 2007. – № 36. – P. 53–62.
3. Schaefer, M. Behavioural Endpoints in Earthworm Ecotoxicology: Evaluation of Different Test Systems in Soil Toxicity Assessment / M. Schaefer // *Soils & Sediments*. – 2003. – № 3(2). – P. 79–84.
4. Винник (Смольникова), В.В. Перспективы использования вермикультуры для восстановления нефтезагрязненных почв / В.В. Винник (Смольникова), М.С. Деметьев, С.Н. Овчаров // *Изв. высш. учеб. заведений. Северо-Кавказский регион. Технические науки*. – 2004. – № 3(127). – С. 106–107.
5. Environment Canada (EC). 2004. Biological Test Method: Tests for Toxicity of Contaminated Soil to Earthworms (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*, or *Lumbricus terrestris*) // Report EPS, Ottawa, Ontario. – 2004. – 184 p.
6. ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.
7. International Standard ISO 11268-2 (1998): Soil Quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 2: Determination of effects on reproduction. International Organization for Standardization.
8. ГОСТ Р 51797-2001. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом с использованием анализатора жидкости «Флюорат 02-3М» // НПФ «Люмекс». – М., 2001.
9. Об утверждении предельно допустимых концентраций нефтепродуктов в почвах для различных категорий земель: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 29 апр. 2009 г. – № 44.
10. Галиулин, Р.В. Диагностика ремедиации почвы, загрязненной углеводородами / Р.В. Галиулин, Р.А. Галиуллина, В.Н. Башкин // *Территория «Нефтегаз»*. – № 10. – 2011.
11. Хазиев, Ф.Х. Изменение биохимических процессов в почвах при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти / Ф.Х. Хазиев, Ф.Ф. Фатхиев // *Агрохимия*. – 1981. – № 10. – С. 102–111.

Поступила в редакцию 14.06.2012. Принята в печать 24.08.2012
Адрес для корреспонденции: e-mail: arlif@mail.ru – Тарасевич А.Ю.