

Н.В.Морозов

ЭЛИМИНИРОВАНИЕ И ДЕТОКСИКАЦИЯ ХЛОР- И ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ЯДОХИМИКАТОВ МАКРОФИТАМИ

Получены новые данные о роли высших водных растений (макрофитов) в детоксикации природных и сточных вод от хлор- и фосфорорганических пестицидов. Определены их оптимальные концентрации, обеспечивающие нормальную вегетацию, развитие макрофитов и степень элиминирования их различными органами растений, грунтом и биоокисления углеводородокисляющими микроорганизмами.

Цель исследований – разработать биотехнологические схемы детоксикации разнообразных ядохимикатов на основе использования организмов водных экосистем, и, в первую очередь, высших растений.

Впервые показана возможность участия макрофитов в поглощении, накоплении и переработке пестицидов в комплексные нетоксичные соединения.

В течение ряда лет мы изучали поглощение и метаболизм хлорофоса, метафоса, гексахлорциклогексана (ГХЦГ) и симазина в природной воде под влиянием рогоза узколистного (*Typha angustifolia* L.), рогоза широколистного (*T. latifolia* L.), камыша озерного (*Scirpus lacustris* L.), касатика айровидного (*Iris pseudocorus* L.), элодеи канадской (*Elodea canadensis* Rich.) и ряски маленькой (*Lemna minor* L) [1, 2]. Выбор этих видов для опытов был обусловлен следующими их свойствами:

- они устойчивы к действию сточных вод, насыщенных высокотоксичными органическими соединениями и минеральными солями;
- интенсифицируют биodeградацию нефти, нефтепродуктов и сопутствующих органических веществ;
- поглощают высокие концентрации биогенных элементов, разнообразных солей и поллютантов;
- развиваются с образованием большой фитомассы, пригодной в качестве корма для птиц, скота, а также фитогенных удобрений.

Во всех экспериментах испытаны технические ядохимикаты в концентрации 5 мг/л, т.е. намного превышающей их содержание в поверхностном стоке. Этим предопределялась возможность широкого применения макрофитов для защиты поверхностных вод от загрязнения биоцидными веществами.

Нашими исследованиями установлено, что макрофиты активно поглощают из воды ГХЦГ, симазин, хлорофос и метафос. Определение содержания пестицидов в различных органах растений, а также в воде и почве показало, что разные виды водных растений способны различным образом элиминировать и метаболизировать внесенные ядохимикаты. Это зависит от вида макрофита, особенностей его строения, физических и химических свойств пестицидов, от сроков разложения их, растворимости в воде, гидролиза в растениях и т.д.

Опытами также выяснено, что в присутствии макрофитов более быстрой детоксикации подвергаются в воде метафос, затем гексахлорциклогексан (ГХЦГ), хлорофос и симазин. Такая последовательность очистки сточной жидкости от вышеназванных ядохимикатов прослеживается в вариантах с камышом, рогозом и элодеей. К 15 дню опыта отмечается снижение концентраций

метафоса в 10, ГХЦГ – в 9, а хлорофоса в 2-6 раз. С ряской маленькой к указанному сроку вода лучше очищается от хлорофоса, ГХЦГ, затем от метафоса.

В процентном отношении она составляет заметную величину и в зависимости от природы пестицида и вида макрофита колеблется от 3 до 35% [3]. Общим для испытанных нами растений было более высокое поглощение из стоков симазина и хлорофоса, менее – метафоса и ГХЦГ. Так, например, в листьях рогоза узколистного количество поглощенного симазина и хлорофоса достигало 32,46 мг/кг и 7,02 мг/кг соответственно. Несколько больше его было выявлено, по сравнению с ряской, в растениях камыша озерного, элодеи канадской (табл.1). Сравнение же их концентрации в растениях и в толще воды выявило, что наибольшее содержание их определяется в воде, меньшее – в растениях.

Наибольшее количество пестицида обнаружено в корнях камыша и рогоза в конце опыта. Между тем установлено, что с течением определенного срока накопленный ГХЦГ постепенно перемещается от корней к листьям. В корнях камыша и рогоза он не обнаруживается к 13 дню опыта, зато в стеблях обоих представителей воздушно-водных растений к данному сроку достигает до 0,1 мг/кг. Одновременно наблюдается накопление его в листьях растений (в листьях рогоза доходит до 0,3 мг/кг).

Наблюдения показали, что от вида макрофита зависит содержание остаточного ядохимиката в окружающей водной среде. Особенно это четко видно в опытах с хлорофосом. В зависимости от наличия тех или иных растений в воде обнаруживались разные количества данного пестицида. Подобное можно наблюдать в опытах и с другими ядохимикатами (табл. 1). Таким образом, влияние высших водных растений на распределение данных загрязнений строго специфическое. Что касается влияния пестицидов на растения, то видно, что внесение симазина и хлорофоса способствовало пышному развитию рогоза и камыша. Особенно интенсивное развитие камыша озерного наблюдается в присутствии хлорофоса (5мг/л).

Таблица 1

Изменение содержания пестицидов в опытах с растениями и без них

Варианты Опыта	Содержание пестицидов в конце опыта			Количество использованных пестицидов, %
	В воде, мг/л	В растениях, мг/кг	В почве, мг/кг	
<i>Typha angustifolia L.</i> + ГХЦГ	0,14	0,69	0,28	99,55
<i>Scirpus lacustris L.</i> + ГХЦГ	0,14	нет	нет	99,95
<i>Elodea canadensis Rich.</i> + ГХЦГ	2,4	0,7	0,34	
<i>Lemna minor L.</i> + ГХЦГ	0,52	0,03	0,08	96,75
<i>Typha angustifolia L.</i> + симазин	10,4	32,46	11,5	78,7
<i>Scirpus lacustris L.</i> + симазин	2,07	2,36	2,9	93,13
<i>Elodea canadensis Rich.</i> + симазин	40,95	0,22	2,9	82,72
<i>Lemna minor L.</i> + симазин	50,84	погибла		
<i>Typha angustifolia L.</i> + хлорофос	46,7	7,02	0,23	78,84
<i>Scirpus lacustris L.</i> + хлорофос	2,7	1,33	0,30	91,6
<i>Elodea canadensis Rich.</i> + хлорофос	2,60	1,31	0,57	99,08

<i>Lemna minor</i> L. + хлорофос	0,84	0,008	0,57	99,45
<i>Typha angustifolia</i> L. + метафос	0,3	нет	0,33	99,34
<i>Scirpus lacustris</i> L. + метафос	1,0	нет	нет	99,20
<i>Elodea canadensis</i> Rich. + метафос	1,28	0,6	0,47	48,12
<i>Lemna minor</i> L. + метафос	12,4	нет	нет	90,08
Симазин+ вода озерная	34,0	-	следы	72,8
Хлорофос+ вода озерная	26,0	-	0,22	79,03
Метафос+ вода озерная	17,6	-	0,60	85,44

Растения имели ярко-зеленую окраску, образовали наибольшее количество молодых побегов и максимальный прирост в высоту (табл. 2).

Таблица 2

Динамика роста высших водных растений в присутствии ядохимикатов и без них

Варианты опыта	Начальная длина, см	Конечная длина, см	Прирост за опыт, см	Характеристика состояния опытных растений
<i>Typha angustifolia</i> L.+ГХЦГ	44	75	31	Сохранили зеленую окраску, угнетения не отмечено
<i>Typha angustifolia</i> L.+ симазин	47	86	39	
<i>Typha angustifolia</i> L.+ хлорофос	66	92	26	
<i>Typha angustifolia</i> L.+ метафос	49	74	25	
<i>Typha angustifolia</i> L. (контроль)	58	89	31	
<i>Scirpus lacustris</i> L.+ГХЦГ	43	58	15	Сохранили зеленую окраску, угнетения не отмечено
<i>Scirpus lacustris</i> L.+ симазин	43	75	32	
<i>Scirpus lacustris</i> L.+ хлорофос	30	97	67	
<i>Scirpus lacustris</i> L.+ метафос	23	44	21	
<i>Scirpus lacustris</i> L. (контроль)	46	80	34	

Элодея канадская развивалась без существенного отличия от контрольного варианта. У ряски при концентрации симазина в стоке 5 мг/л на 2-3 день контакта наблюдалась этиоляция листовых пластинок. Ингибирующее действие симазина более сильно проявлялось на водорослях, развивающихся в воде совместно с макрофитами. В вариантах с озерной водой и симазином в начале опыта были обнаружены протококковые водоросли (табл.3), но к концу опыта они все погибли.

Таблица 3

Встречаемость водорослей в конце опыта с ядохимикатами

Название водорослей	Хлорофос+ водоросли	Симазин+ водоросли	ГХЦХ+ водоросли	Метафос+ водоросли
<i>Nostos</i> sp.	-	-	-	+
<i>Moegeotica</i> sp.	+	-	-	-
<i>Palmodiction viridae</i>	+	-	+	+
<i>Palmediction varium</i>	+	-	+	+
<i>Apiocystis brauniana</i>	+	-	Цветение	Цветение
<i>Tetraspora lacustris</i>	+	-	+	+

Влияние ГХЦГ и метафоса на макрофиты проявлялось по-разному. В присутствии гексахлорциклогексана лучше развивался рогоз, а метафоса видимых различий в росте опытных и контрольных растений не наблюдалось.

Следует заметить, что активность поглощения того или иного ядохимиката из воды возможна при прямом влиянии пестицида на развитие растений. Так, например, в присутствии симазина рогоз давал максимальный прирост в высоту, что сопровождалось интенсивной аккумуляцией данного пестицида. При внесении хлорофоса наиболее активное развитие и образование многочисленных побегов наблюдалось у камыша озерного. Однако последний не показал максимального накопления его из среды. Повышенное количество данного ядохимиката было обнаружено у рогоза. Но при сравнении их количеств в сточной воде и в растениях выявили, что камыш способствует большему освобождению воды от хлорофоса, чем рогоз узколистный. Следовательно, различие в детоксикации вод от разнообразных пестицидов связано, вероятнее всего, с физиолого-биохимическим свойством растений поглощать и метаболизировать их в процессе своего обмена. Этим, очевидно, можно объяснить отсутствие метафоса в камыше и ряске, ГХЦХ – в стеблях и листьях рогоза и камыша в период образования генеративных органов и цветения макрофитов (опыты проводились в июне-июле). Результаты этих наблюдений наталкивают на мысль о том, что отсутствие их связано с образованием метаболитов в процессе гидролиза или биodeградации. Так, по некоторым данным [4, 5], фталофос определялся в растениях через 3 часа. Через сутки – достигал концентрации 0,18, а максимума – на 4-7-й день в количестве 0,3 мг/кг. Через 11 дней пестицид в растениях отсутствовал.

Все авторы, исследовавшие динамику поглощения ГХЦГ и его метаболитов, сходятся во мнении, что более интенсивное извлечение их происходит в первые сутки, а затем количество пестицида, используемого водными растениями, снижается.

За накоплением возможна десорбция пестицида из водных растений обратно в воду, что может вызвать вторичное загрязнение водоемов [4-6]. Однако наши исследования показывают, что количество ядохимикатов как в растениях, так и в воде постепенно убывают или они даже полностью исчезают с течением определенного периода времени. Освобождение воды от пестицидов связано, по всей вероятности, с разложением их разнообразными гетеротрофными микроорганизмами. О биоразложении фосфорорганических ядохимикатов высказывались многие исследователи. В отношении окисления хлорорганических пестицидов бактериями в литературе имеются противоречивые данные. Определение общего числа микроорганизмов, в том числе сапрофитных бактерий, в наших опытах с хлор- и фосфорорганическими ядохимикатами в присутствии водных растений показало, что ГХЦХ, симазин, хлорофос и метафос биоразлагаемы. Действительно, хлорорганические пестициды ГХЦГ и симазин поддаются биоразложению медленнее и потребляются микроорганизмами после некоторого периода адаптации. В начале опыта они несколько подавляют жизнедеятельность бактерий. В результате численность микроорганизмов в вариантах с растениями после внесения ГХЦГ уменьшалась в 2-5 раз. Исключение

составила динамика микробиоты в опытах с камышом озерным. По истечении недельного срока число их постепенно возрастало; в опытах с метафосом и хлорофосом угнетение жизнедеятельности бактерий не отмечено. Наоборот, число их повышалось от начала к концу эксперимента. В присутствии метафоса в трех случаях из пяти общее количество бактерий возрастало в 1,5-2 раза (с 4,0 тыс. кл/мл до 95,0 тыс. кл/мл).

Анализ динамики численности микроорганизмов в этих опытах показал, что в присутствии метафоса количество бактерий увеличивается более чем в 2 раза как в речной воде, так и почвенной вытяжке на 4-й день после внесения ядохимикатов. За возрастанием происходило небольшое снижение численности, а затем – повторное увеличение. По сравнению с метафосом, симазин оказывал токсическое действие на деятельность гетеротрофов почвы и воды. Он вызывал резкое снижение количества бактерий в начале опыта, а затем после адаптации к данному пестициду микроорганизмы вновь восстанавливали свою численность. Определение остаточных концентраций метафоса и симазина по истечении месячного срока в среде с микроорганизмами показало, что содержание ядохимикатов снижается до 50 раз. Выяснение же токсичности неразложившейся части пестицидов в очищенной бактериями воде на *Daphnia magna* выявило, что последние развиваются без каких-либо патологий. Хорошую выживаемость при этом показали не только половозрелые особи, но и молодые. Итак, результаты этих опытов со всей убедительностью подтвердили возможность трансформации испытанных ядохимикатов разнообразными микроорганизмами почвы и воды. Что касается роли высших водной растительности в детоксикации природных вод от пестицидов, то она может сводиться к прямому поглощению, включению в обменные процессы или к опосредственному влиянию продуктов жизнедеятельности макрофитов на микробиоту, участвующую в очищении воды. Действительно, опыты по детоксикации природных вод от хлор- и фосфорорганических пестицидов в присутствии водных растений подтверждают сказанное. В очищении водоемов от этих токсических веществ нельзя исключить также роль и других гидробионтов, в частности водорослей. Наблюдения за очищением воды в опытах без растений показали возможность такой детоксикации. Так, например, в опытах с озерной водой в присутствии ГХЦГ (5 мг/л) отмечалось массовое развитие водорослей *Apicystis brauniana* (табл. 3). При этом происходило снижение ГХЦГ в воде до 99,41%. В контрольных вариантах, где "цветения" водорослей не отмечается, количество неокисленных ядохимикатов остается высоким. В присутствии макрофитов водоросли развиваются столь незначительно (были встречены единичные экземпляры), что их влиянием на поглощение пестицидов можно пренебречь.

Нашими опытами также установлено, что детоксикация или очищение природных вод от ядохимикатов зависит от биологической активности водных растений. В присутствии рогоза узколистного освобождение воды от симазина и хлорофоса не превышало 78,8%, а с камышом озерным, элодеей канадской и ряской достигало до 82,7-99,45%. Менее активное влияние на степень детоксикации воды от этих пестицидов рогозом подтверждено также показателем химического потребления кислорода (ХПК).

Материалы по динамике ХПК в опытах с ядохимикатами представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы, в течение опыта ХПК в варианте с рогозом узколистным и симазинном сохраняется на одном уровне, а с хлорофосом – уменьшается незначительно. Более равномерное убывание значения ХПК в вариантах с хлорофосом и симазинном наблюдается с камышом, элодеей и ряской, что указывает на благоприятное протекание процессов минерализации данных токсикантов под влиянием этих водных растений. Идентичная динамика ХПК отмечена в вариантах с ГХЦП и метафосом. Спад значения ХПК в 3-8 раз происходил в вариантах с камышом, элодеей и ряской, а с рогозом узколистным не превышал 2 раза (табл. 4). Сравнение же показателей очистки воды опытных вариантов с контрольными показало, что более быстрая и полная детоксикация вод от ядохимикатов происходит под влиянием водных растений. На это указывает не только сравнительно высокое снижение концентрации пестицидов в воде, но и уменьшение ХПК от начала к концу опыта. Тем не менее, значение химического потребления кислорода в воде к моменту снятия опытов сохраняется еще на довольно высоком уровне. Последнее связано, по-видимому, с переходом ядохимикатов из малоокисленного в более окисленное состояние с образованием промежуточных неорганических продуктов метаболизма.

Анализ химического состава этих вод на HCO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ и др. выявили, что во всех опытах с водными растениями к концу эксперимента происходит повышение значения указанных элементов. Это, в свою очередь, указывает на продолжающийся процесс минерализации ядохимикатов с образованием полностью окисленных продуктов.

В контроле значение ХПК во всех вариантах остается без изменения, за исключением опыта с ГХЦГ, где наблюдается "цветение" водорослей. Отдельные опыты, проведенные с зелеными водорослями, показали, что эффективность детоксикации ими очень высокая. Например, снижение ХПК в опытах с хлорофосом в присутствии зеленых микроводорослей на 9-й день составляло в 3 (с 1200 до 400 мг/л, а ГХЦГ – в 5 раз (с 1000 до 200 мг/л). Очистка воды от ядохимикатов под влиянием водорослей происходила лучше в опытах с метафосом, затем – хлорофосом и менее – с симазинном. Последний оказался более токсичным по отношению к зеленым водорослям, чем другие ядохимикаты.

Таблица 4

Динамика ХПК (мг/л) в процессе очистки воды от ядохимикатов с растениями и без них

Варианты опытов	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	9-е сутки
Хлорофос + <i>Typha angustifolia</i> L.	480,3	133	200,0	333,3
Хлорофос + <i>Scirpus lacustris</i> L.	600	200	120	80
Хлорофос + <i>Elodea canadensis</i> Rich.	600	500	400	100
Хлорофос + <i>Lemna minor</i> L.	480	200	840	240
Хлорофос+вода	480	-	-	480
Симазин+ <i>Typha angustifolia</i> L.	640,3	200	333,3	333,3

Симазин+ <i>Scirpus lacustris L.</i>	666,7	333,3	-	200
Симазин+ <i>Eloдея canadensis Rich.</i>	800	400	200	400
Симазин+вода	640	-	-	640
ГХЦГ+ <i>Typha angustifolia L.</i>	800	333,3	333,3	500
ГХЦГ+ <i>Scirpus lacustris L.</i>	800	533,3	120	300
ГХЦГ+ <i>Eloдея canadensis Rich.</i>	1600	1200	800	400
ГХЦГ+ <i>Lemna minor L.</i>	800	400	100	-
ГХЦГ+вода	800	-	-	400
Метафос+ <i>Typha angustifolia L.</i>	400	333,3	700	200
Метафос+ <i>Scirpus lacustris L.</i>	333,3	533,3	280	80
Метафос+ <i>Eloдея canadensis Rich.</i>	800	400	200	300
Метафос+ <i>Lemna minor L.</i>	1000	1000	-	200
Метафос+вода	1600	-	-	2800

Примечание. "-" анализы не проводились

В целом следует отметить, что роль водорослей как детоксикантов поверхностных вод от ядохимикатов велика. Однако сравнительно ограниченное время развития микроводорослей сводит положительную функцию их в освобождении вод от токсических соединений на нет, вследствие десорбции поглощенных пестицидов в процессе отмирания обратно в воду, что приводит к вторичному загрязнению водоемов.

Ядохимикаты накапливаются и в почве (илах, песке), но количество их незначительно. Так, в большинстве опытных вариантов найдены лишь десятые доли заданных концентраций этих веществ (табл. 1). В вариантах с камышом озерным присутствие в грунте ГХЦГ и метафоса отмечено не было, отсутствовали они также в вариантах: ГХЦГ + водоросли, метафос + ряска маленькая. Из испытанных ядохимикатов остается в почве симазин 2,2-11,5 мг/кг. Незначительная аккумуляция пестицидов в почве может быть обусловлена двумя причинами:

- 1) интенсивным поглощением их корневой системой и переводом токсиантов в генеративные органы растений. Перевод их тем выше, чем больше концентрация ядохимикатов в среде. При этом происходит повышение содержания их в растениях, а в воде и песке – уменьшение, даже ниже уровня ПДК [1, 2];
- 2) разложением адсорбированных почвой ядохимикатов различными группами микроорганизмов.

Сравнение общего количества микроорганизмов в воде с численностью бактерий в почве показало, что число их в почве выше более чем на порядок. Следовательно, процессы биодegradации пестицидов здесь должны происходить интенсивнее. Ускорение бактериального разложения их в почве может быть вызвано также метаболитами растений, которые выделяются корневой системой больше, чем стеблями и листьями растений. Наблюдения за детоксикацией ядохимикатов в присутствии макрофитов указывают на возможность такого механизма влияния. Сравнение же показателей очистки воды (числа микроорганизмов, химического потребления O_2 , концентрации ядохимикатов в воде, в почве и растениях) от симазина, ГХЦГ, хлорофоса и мета-

фоса в присутствии высших водных растений и без них позволяет предположить наличие трех взаимосвязанных и дополняющих друг друга процессов детоксикации водоемов от ядохимикатов. Первый – это прямое извлечение пестицидов из воды макрофитами и включение их в метаболизм. Второй – разложение растворенных в воде и накопленных в почве пестицидов разнообразными водными и почвенными микроорганизмами до промежуточных продуктов распада, возможных к потреблению растениями и другими гидробионтами. Третий – стимуляция жизнедеятельности окисляющих ядохимикаты бактерий продуктами жизнедеятельности высших водных растений, способствующая переходу высокотоксичных веществ в мало- или полностью окисленные соединения. Учитывая, что пестициды являются высокотоксичными соединениями, использование их как субстрат микроорганизмами возможно лишь после определенного периода адаптации. Что касается роли метаболитов водных растений в данном процессе, то она может сводиться, как и в случае биоразложения нефтепродуктов, к "соокислительному или индуцирующему" эффекту, т.е. выработке микроорганизмами, участвующими в окислении ядохимикатов, определенных адаптивных ферментов. Видимо, в бактериальном окислении разнообразных ядохимикатов мы также сталкиваемся с симбиотической связью между микроорганизмами и макрофитами. Наличие данной связи определяет жизненно важные процессы в освобождении природных и сточных вод от разнообразных пестицидов.

Литература

- [1] Морозов Н.В. Биотехнологические схемы обезвреживания природных вод от пестицидов // Водные ресурсы. 1988. №5. С.89-97.
- [2] Морозов Н.В. Экологическая биотехнология: очистка природных и сточных вод макрофитами. Казань, 2001.
- [3] Морозов Н.В. Эколого-биотехнологические пути формирования и управления качеством поверхностных вод (региональные аспекты): Автореферат дисс. докт. биол. наук. М., 2003.
- [4] Брагинский Л.П., Мережко А.И., Комаровский. Персистентность пестицидов в водных экосистемах. Киев, 1979.
- [5] Врочинский К.К. Накопление пестицидов высшими водными растениями // Высшие водные растения и прибрежно-водные растения. Тез-докл. 1-ой Всесоюзной конференции (Борок 7-9 сентября 1977 г.) Киев, 1977. С.39.
- [6] Врочинский К.К., Теличенко М.М., Мережко А.И. Гидробиологическая миграция пестицидов. М., 1980.
- [7] Морозов Н.В., Петрова Р.Б. Охрана вод от загрязнения и изучение биологической деградации пестицидов // Бюл. ВНИИ Сельскохозяйственной микробиологии. Л., 1979. С.48-50.
- [8] Морозов Н.В., Петрова Р.Б., Софронова Е.М. Биологическая деградация хлор- и фосфорорганических соединений в окружающей среды в Татарской АССР. Казань, 1982. С.122-125.