

## Использование *Limnodrilus hoffmeisteri* (Tubificidae, Oligochaeta) в очистке донных отложений от нефти и нефтепродуктов

Д. С. ВОРОБЬЕВ<sup>1,2</sup>, Ю. А. ФРАНК<sup>1</sup>, С. В. ЛУШНИКОВ<sup>1</sup>, Н. А. ЗАЛОЗНЫЙ<sup>2</sup>, Ю. А. НОСКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-техническое объединение “Приборсервис”  
634041, Томск, просп. Комсомольский, 70  
E-mail: sci@priborservice.tomsk.ru

<sup>2</sup>Томский государственный университет  
634050, Томск, просп. Ленина, 36  
E-mail: danilvorobiev@yandex.ru

### АННОТАЦИЯ

Впервые рассмотрена возможность использования водных малощетинковых червей (Oligochaeta, Tubificidae) для очистки донных отложений от нефти и нефтепродуктов.

В серии экспериментов с *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 показано, что нефть даже в таких высоких концентрациях, как 16,72 г/кг, не вызывала их гибели. Смертность организмов в ходе эксперимента вызвана естественными причинами. Наблюдалось активное перемешивание ила (биотурбация) под воздействием червей, что выражалось в увеличении толщины его слоя по сравнению с контрольными условиями. При этом обнаружена тенденция к увеличению слоя ила при возрастании концентрации нефти в донных отложениях. Установлено, что в результате жизнедеятельности *Limnodrilus hoffmeisteri* концентрация нефти в донных отложениях за 30 сут снижалась в 1,20–1,72 раза, или на 16,67–41,90 % ( $\alpha < 0,05$ ), по сравнению с контрольными аквариумами без червей.

**Ключевые слова:** биотурбация, донные отложения, ил, лимнодрилусы, малощетинковые черви, нефть, нефтепродукты, очистка, смертность червей, тубифициды.

Очистка природных сред от нефти и нефтепродуктов (далее нефть) является одной из основных проблем охраны окружающей среды в нефтедобывающих регионах. Рекультивация нефтезагрязненных земель широко внедрена в практику и не имеет недостатка

в современных технологиях. Более сложная ситуация складывается с восстановлением нефтезагрязненных водных объектов, в частности с очисткой донных отложений. Большинство разработанных способов очистки нефтезагрязненных отложений не нашло широкого применения ввиду своей дороговизны из-за необходимости извлечения осадка с последующей его обработкой. Предложенная научно-техническим объединением “Приборсервис” в 2004 г. комплексная технология очистки вод-

Воробьев Данил Сергеевич  
Франк Юлия Александровна  
Лушников Сергей Валерьевич  
Залозный Николай Александрович  
Носков Юрий Александрович

ных объектов от нефти лишена указанного недостатка и прошла успешные испытания на природных водоемах Республики Коми [1, 2] и на обводненных карьерах Ханты-Мансийского автономного округа. Практический опыт применения этой технологии показал необходимость разработки дополнительных методов очистки донных отложений, которые могут применяться после завершения основных очистных работ на водном объекте.

Существуют основные структурно-функциональные блоки, охватывающие значительную часть общего гидробиологического механизма самоочищения водных экосистем: фильтрационной активности (“фильтры”); механизмов переноса, перекачивания веществ из одной среды в другую (“насосы”); расщепления молекул загрязняющих веществ (“мельницы”); процессов, выполняющих функцию сорбции загрязняющих веществ, изъятия их из воды или снижения их токсичности [3]. Тубифициды, как типичные представители донной фауны, способные выдерживать сильные загрязнения донных отложений и активно участвовать в процессах самоочищения, наиболее подходят для использования в биологическом этапе очистки донных отложений от нефти. Неоднократно проводимые нами гидробиологические исследования на нефтезагрязненных водных объектах подтверждали известные в научной литературе факты о повышенной устойчивости тубифицид к нефтяному загрязнению по сравнению с другими группами донных организмов [2, 4].

В данной публикации впервые рассмотрена возможность использования водных малощетинковых червей (*Oligochaeta*, *Tubificidae*) в мероприятиях по восстановлению нефтезагрязненных водных объектов. Для исследования возможности разработки технологии очистки нефтезагрязненных отложений нами проведена серия лабораторных экспериментов.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для эксперимента по исследованию возможности использования тубифицид в биологической очистке донных отложений от нефти выбран один из наиболее распро-

страненных и многочисленных видов олигохет *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862. Обладая исключительно высокой экологической пластичностью, лимнодрилус населяет все пресноводные объекты. Этот червь встречается на различных грунтах и глубинах, при различной концентрации кислорода.

В эксперименте использовали 20 стеклянных аквариумов объемом 4,5 л (15 × 15 × 20 см). Длительность эксперимента составляла 30 сут от начала культивирования червей. В качестве субстрата использовали ил из условно чистого озера, расположенного вблизи пос. Межениновка (Томского р-на Томской обл.). Ил отбирали дночерпателем системы Петерсена, процеживали через мельничный газ № 19 для удаления грубого детрита. Гомогенизированный ил сметанообразной консистенции (400 г) равномерно распределяли по дну аквариумов, загрязняли нефтью и тщательно перемешивали лопаткой в течение 5 мин. Начальное содержание нефти на воздушно-сухую массу ила в опытных аквариумах составляло 0,836; 3,344; 6,688; 10,032; 16,720 кг/г.

Загрязненный ил находился в аквариумах в течение 7 сут для прохождения процессов сорбции нефти частицами ила. Ежедневное перемешивание ила в аквариумах проводили в течение 5 мин. Через 7 сут после загрязнения ила по одной из стенок аквариума медленно (чтобы избежать размывания слоя грунта на дне) вливали 3 л водопроводной воды. В каждый аквариум вносили минеральные удобрения с учетом норм, предусмотренных для рыбохозяйственных водоемов, – аммиачную селитру (18 мг) и суперфосфат (16 мг).

С момента заполнения аквариумов водой проводили их аэрацию (15–17 ч/сут); распылитель воздуха располагался в 5–7 см от поверхности воды, что обеспечивало насыщение воды кислородом (7–8 мг/л) без перемешивания илистых частиц на дне. Средняя температура в аквариумах во время эксперимента (30 сут) составляла (23,8 ± 0,2) °С (22,5–26,0 °С).

Через 3 сут после заполнения аквариумов водой (через 10 сут после загрязнения ила нефтью) в одни из них помещали 1,5 г взрос-

лых лимнодрилусов, другие оставляли без червей. Во время эксперимента (1 раз в неделю) в аквариумы доливали водопроводную воду до первоначального уровня (до объема 3 л). По окончании эксперимента грунт с червями извлекали и выбирали червей. Далее производили их подсчет.

Кормление червей проводили за весь период эксперимента 2 раза – в начале эксперимента и через две недели. Для этого брали 0,3 г воздушно-сухих дрожжей и заливали 100 мл дистиллированной воды. После набухания дрожжи тщательно перемешивали. Образовавшуюся суспензию отстаивали в течение 30 мин. В аквариумы добавляли надосадочную жидкость в количестве 3 мл/л воды (всего 9 мл в каждый аквариум).

Перемешивание грунта червями исследовали путем измерения толщины слоя грунта (мм) на “лицевой” стенке аквариума через каждые 5 мм.

Для взвешивания навесок червей использовали электронные весы марки “ВЛТЭ-500” с дискретностью отсчета 0,01 г. Навески ила взвешивали на электронных весах марки “KRUPS” с дискретностью 1 г; навески минеральных удобрений и дрожжей – на торсионных весах с дискретностью 0,001 г.

Температуру воды измеряли ежедневно ртутным термометром. Химический анализ массовой концентрации нефтепродуктов в донных отложениях проводили в аккредитованной лаборатории природных превращений нефти Института химии нефти СО РАН методом ИК-спектрии на приборе “SPECORD M 80” в соответствии с РД 39-0147098-015-90.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тубифициды – обитатели донных отложений водоемов – предпочитают илистые грунты. Нередко образуют массовые скопления в виде красноватых “подушек” на дне, состоящих из тысяч особей. Передний конец тела погружен в грунт, задний находится над поверхностью грунта и совершает колебательные (дыхательные) движения. Некоторые строят трубки из частиц ила и своего кожного секрета, в которых укрываются. Отдельные виды выдерживают очень сильное хи-

мическое загрязнение [5]. Черви активно участвуют в процессах трансформации вещества и энергии, в том числе в самоочищении загрязненных водоемов. Тубифициды – грунтоеды. Находясь в грунте головой вниз, они своей глоткой без выбора захватывают все частицы, доступные им по величине. Содержимое кишечника выбрасывается на поверхность грунта. Глубина питания зависит от длины червей (3–6 см), молодь питается около самой поверхности грунта. Пища проходит кишечник в течение 15–180 мин. Суточный рацион при 18 °С превышает массу тела в 4–6 [6, 7] или даже в 9 раз [8]. Ассимилируется очень малая доля съеденной пищи: у *Tubifex tubifex* в среднем 3 % органического вещества, а у *Limnodrilus hoffmeisteri* – 5 % [8, 9]. Перевариваются в основном бактерии [10]. Опытным путем показано, что тубифициды могут предпочитать колонии одних видов бактерий и избегать других. В кишечнике разных видов тубифицид перевариваются разные виды бактерий, некоторые из которых выживают. При голодании в кишечнике остается только один вид бактерий, специфичный для каждого вида тубифицид. Однако все виды бактерий, обнаруженные в тубифицидах, встречаются в природе также в других местах [11]. В нормальных условиях испражнения тубифицид содержат 59–91 % количества бактерий, съеденных с грунтом [12], которые пригодны в пищу для других видов. Таким образом, избегается конкуренция между разными видами тубифицид [13].

**Поведение червей в аквариумах.** Навеска червей (1,5 г) вносилась в аквариумы, и черви равномерно распределялись по дну. Как только черви опускались на дно, большинство из них собиралось в “комки” на поверхности ила и зарывалось в грунт. Некоторые черви после недлительного (до 1 ч) перемещения по поверхности ила проникали в грунт и активно перемещались в толще ила, что можно было наблюдать через прозрачные стенки аквариумов. Через 4–5 ч после помещения в аквариумы лимнодрилусы приступали к активному питанию (визуально наблюдалось опорожнение кишечника). Передний конец тела был погружен в грунт, а задний находился над поверхностью ила и

совершал колебательные (дыхательные) движения. Через сутки после начала культивирования червей в аквариумах наблюдалась тенденция к равномерному распределению лимнодрилусов по всей площади ила. Уже на 3–4-е сут после начала эксперимента черви не собирались в “комки”, равномерно распределялись по дну аквариума и активно питались.

**Перемешивание грунта.** Проникая в глубь донных отложений, черви разрыхляют их. Поедая грунт из более глубоких слоев, черви в процессе дефекации выбрасывают его на поверхность дна, тем самым также разрыхляя. Перемешивание донных отложений вследствие жизнедеятельности роющих организмов (биотурбация) обуславливает трансформацию различных соединений и их активное перемещение по профилю отложений, что также влияет на процессы обмена веществом между донными отложениями и водой [14].

Исследовано влияние активности червей в донных отложениях с различными концентрациями нефти на перемешивание (рыхление) грунта. В качестве показателя выбрана толщина слоя ила. Измерение проводили через 4 нед после начала культивирования лимнодрилусов в аквариумах.

В аквариумах, где черви не культивировались, средняя толщина слоя ила составила  $(12,10 \pm 0,11)$  мм (размах вариации 7,00–16,00 мм). В аквариумах с червями толщина слоя ила визуально отличалась и была больше –  $(19,83 \pm 0,15)$  мм (размах вариации 15,50–30,00 мм). Толщина слоя в аквариумах с червями достоверно отличалась от слоя в аквариумах без червей ( $t$ -критерий Стьюдента,  $\alpha < 0,001$ ).

Приняв, что толщина слоя ила зависит от активности червей, а концентрация нефти – это тот фактор, который может повлиять на процессы биотурбации, мы провели однофакторный дисперсионный анализ (рис. 1). Алгоритмом анализа выявлено достоверное влияние фактора ( $\alpha < 0,001$ ), т. е. концентрации нефти в донных отложениях на толщину слоя ила как результат жизнедеятельности лимнодрилусов.

По данным Л. И. Цветковой [15], фактором, тормозящим развитие тубифицид, яв-

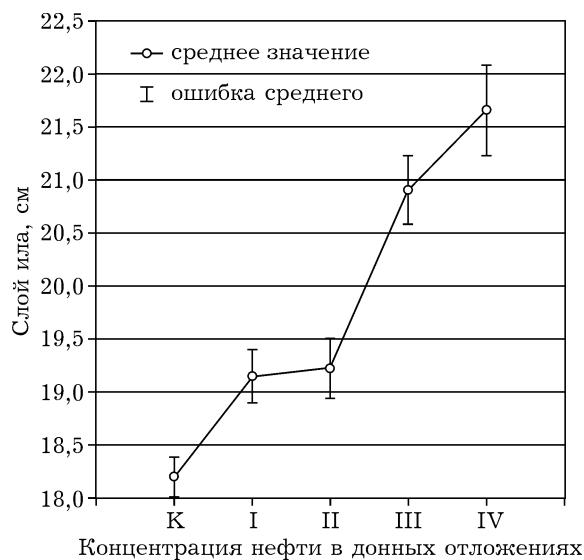


Рис. 1. Слой ила в аквариумах с червями и различными концентрациями нефти (однофакторный дисперсионный анализ;  $\alpha < 0,001$ ); начальное содержание нефти в аквариумах, г/кг: К – контроль (без нефти); I – 3,344, II – 6,688, III – 10,032, IV – 16,720

ляется содержание нефтепродуктов в грунтах свыше 6 г/кг. Однако в нашем эксперименте активность червей (судя по показателям рыхлости грунта) при более высоких концентрациях нефти не снижалась. Ввиду слабой изученности данной проблемы можно сделать предположение, что пищевая активность червей увеличивалась из-за недостатка пищи (бактерий) по мере роста концентрации нефти в илах.

**Выживаемость червей в нефтезагрязненных илах.** При постановке эксперимента и предварительных расчетах добавляемой концентрации нефти мы основывались на малочисленных литературных данных, где описывалось развитие олигохет в нефтезагрязненных грунтах. Максимальная концентрация нефти в донных отложениях, при которой тубифициды “чувствовали” себя нормально и даже имели высокие количественные показатели, по данным Л. И. Цветковой [15], составила 6 г/кг. При более высоких концентрациях количественные показатели снижались.

Полученные нами результаты показали, что практически во всех аквариумах наблюдалось снижение численности взрослых особей. Ожидаемой зависимости смертности лимнодрилусов от концентрации нефти не наблю-

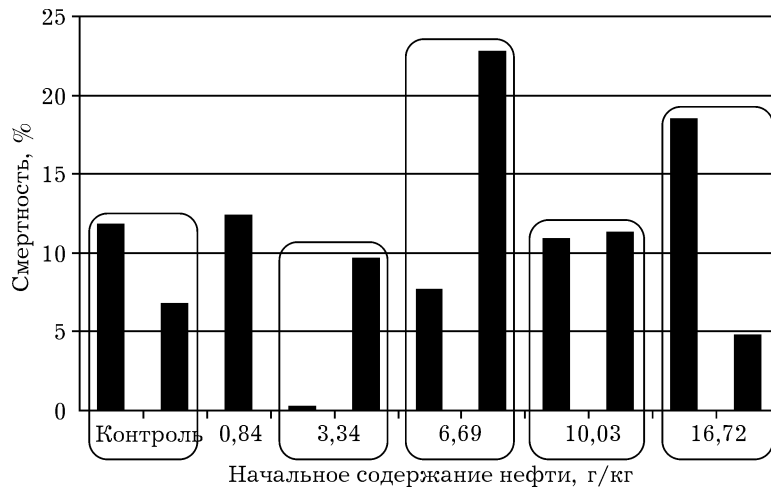


Рис. 2. Смертность червей в аквариумах с различными концентрациями нефти

далось (рис. 2). Наиболее вероятно, что смертность лимнодрилусов в аквариумах вызвана естественным уходом старших возрастных групп червей.

При разборе проб во всех аквариумах с червями обнаружено большое количество молодежи лимнодрилусов. В каждом аквариуме их численность составляла тысячи экземпляров.

Таким образом, в результате проведенного эксперимента не выявлено концентраций нефти, при которых наблюдалось снижение численности червей вплоть до полной смертности. Данная проблема требует дальнейшего исследования. Однако выживаемость лимнодрилусов при высоких концентрациях нефти частично подтвердила возможность использования этой группы донных беспозвоночных животных в биологической очистке донных отложений от нефти.

**Химические показатели эффективности очистки донных отложений от нефти с использованием тубифицид.** Проведенный эксперимент основывался на предположении возможности использования олигохет в биологической очистке донных отложений от нефти, поэтому при оценке ее эффективности мы основывались на результатах химического анализа ила (рис. 3).

Снижение концентрации нефти в составе донных отложений на подготовительном этапе эксперимента (в ходе загрязнения ила) происходило за счет испарения нефти. По литературным данным [16], к концу первых

суток после загрязнения испаряется до 50 % нефти, которая находится на поверхности воды, однако этот показатель зависит от состава нефти и абиотических условий. В нашем случае испарение нефти было значительно ниже, так как сразу после загрязнения ила нефть тщательно перемешивалась с грунтом в течение 5 мин (процедура повторялась в течение недели), и, таким образом, значительная ее часть находилась в толще ила и сорбировалась частицами.

Выявлено, что в аквариумах с червями концентрация нефти ниже по сравнению с



Рис. 3. Результаты химического анализа нефтезагрязненного ила

контрольными в 1,20–1,72 раза, или на 16,67–41,90 %. Достоверные отличия между конечными концентрациями нефти в донных отложениях в аквариумах с червями и без червей подтверждены алгоритмом парного непараметрического критерия Вилкоксона ( $\alpha < 0,05$ ). Очевидно, что снижение содержания нефти связано с процессами жизнедеятельности малощетинковых червей. В ходе питания, дыхания и рытья нор бентосные организмы создают конвективные потоки порового раствора и придонной воды через границу раздела “вода – дно” путем взмучивания верхнего слоя донных отложений, а также при “выкачивании” из отложений обогащенного растворенными веществами порового раствора и “закачивания” в них воды, богатой кислородом [14]. Все это создает благоприятные условия для активизации процессов деструкции нефти в донных отложениях.

#### ВЫВОДЫ

1. Тубифициды активно перемешивают донные отложения. Исследования показали, что через 4 нед культивирования слой ила в аквариумах с червями ( $19,83 \pm 0,15$  мм) был достоверно выше ( $t$ -критерий,  $\alpha < 0,001$ ), чем в аквариумах без червей ( $12,10 \pm 0,11$  мм).

2. При увеличении концентрации нефти в донных отложениях наблюдалась тенденция к увеличению слоя ила, перемешанного червями. Данная зависимость подтверждена результатами однофакторного дисперсионного анализа ( $\alpha < 0,001$ ).

3. В нефтезагрязненных донных отложениях (0,836; 3,344; 6,688; 10,032; 16,720 г/кг) смертность червей вызвана естественными причинами (отмирание старших возрастных групп), отмечено наличие молодежи.

4. В результате жизнедеятельности червей концентрация нефти снижена (по сравнению с контрольными аквариумами без червей) в 1,20–1,72 раза, или на 16,67–41,90 % ( $\alpha < 0,05$ ), что доказывает возможность использования червей-тубифицид для биологической очистки донных отложений водоемов от нефти.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лушников С. В., Воробьев Д. С., Фадеев В. Н. Очистка донных отложений: первый шаг сделан // Экология и промышленность России. 2005. № 9. С. 30–31.
2. Лушников С. В., Воробьев Д. С. Очистка донных отложений от нефти: результаты экспериментальных работ // Там же. 2006. № 10. С. 11–13.
3. Остроумов С. А. Основные функциональные компоненты и источники энергии биотических механизмов самоочищения воды в экосистемах // Экологические системы и приборы. 2006. № 7. С. 19–23.
4. Воробьев Д. С. Влияние нефти и нефтепродуктов на макрозообентос // Изв. Томск. политехн. ун-та. 2006. № 3. С. 42–45.
5. Попченко В. И., Попченко Т. В. Устойчивость малощетинковых червей к химическим загрязнениям // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 1999. № 2. С. 201–203.
6. Alsterberg G. Die respiratorischen Mechanismen der Tubificiden. Lund-Leipzig, 1922. Avd. 2, Bd. 18, N 1.
7. Поддубная Т. Л. Материалы по питанию массовых видов тубифицид Рыбинского водохранилища // Труды Ин-та биологии водохранилищ. 1961. Т. 4, № 7. С. 219–231.
8. Цветкова Л. И. О роли сапробных олигохет в кислородном балансе водоемов (бассейн р. Невы): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1969.
9. Brinkhurst R. O., Austin M. J. Assimilation by aquatic *Oligochaeta* // Int. Revue ges. Hydrobiol. 1979. Vol. 64(2). P. 245–250.
10. Brinkhurst R. O., Chua K. E. Preliminary investigation of the exploitation of some potential nutritional resources by three sympatric tubificid oligochaetes // J. Fish. Res. Board Canada. 1969. Vol. 26(10). P. 2659–2668.
11. Whitley S. L., Seng T. N. Studies on the bacterial flora of tubificid worms // Hydrobiologia. 1976. Vol. 48 (1). P. 79–83.
12. Wavre M., Brinkhurst R. O. Interactions between some tubificid oligochaetes and bacteria found in the sediments of Toronto Harbour, Ontario // J. Fish. Res. Board Canada. 1971. Vol. 28(3). P. 335–341.
13. Brinkhurst R. O., Chua K. E., Kaushik N. K. Interspecific interactions and selective feeding by tubificid oligochaetes // Limnol. Oceanogr. 1972. Vol. 17(1). P. 122–133.
14. Мартынова М. В. Роль некоторых бентосных организмов в удалении соединений азота и фосфора из донных отложений // Гидробиол. журн. 1985. № 6. С. 44–48.
15. Цветкова Л. И. Водные малощетинковые черви (систематика, экология, исследования фауны СССР) // Труды ВГБО. М.: Наука, 1972. Т. 17. С. 118–125.
16. Герлах С. А. Загрязнение морей. Диагноз и терапия. Л.: Гидрометеиздат, 1985.

## Use of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Tubificidae, Oligochaeta) for Purification of Bottom Sediments from Oil and Oil Products

D. S. VOROBYEV<sup>1,2</sup>, Yu. A. FRANK<sup>1</sup>, S. V. LUSHNIKOV<sup>1</sup>, N. A. ZALOZNYI<sup>2</sup>, Yu. A. NOSKOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research and Technological Association "Priborservis"  
634041, Tomsk, Komsomol'sky ave., 70  
E-mail: sci@priborservice.tomsk.ru

<sup>2</sup>Tomsk State University  
634050, Tomsk, Lenin ave., 36  
E-mail: danilvorobiev@yandex.ru

Possibility to use water worms *Oligochaeta*, *Tubificidae* for purification of bottom sediments from oil and oil products is considered.

It is shown in a set of experiments with *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 that oil, even in so high concentrations as 16,72 g/kg, did not cause their death. Mortality of the organisms during the experiment was caused by natural reasons. Active mixing of silt (bioturbation) under the action of the worms was observed, which was expressed as an increase in the thickness of the silt layer in comparison with the reference conditions. In this situation, a trend to increase the silt layer with an increase in oil concentration in bottom sediments was observed. It was established that oil concentration in bottom sediments decreased within 30 days as a result of the vital activity of *Limnodrilus hoffmeisteri* by a factor of 1,20–1,72 or by 16,67–41,90 % ( $\alpha < 0,05$ ) in comparison with reference aquarium without worms.

**Key words:** bioturbation, bottom sediments, silt, *Limnodrilus*, *Oligochaeta*, oil, oil products, purification, worm mortality, tubificides.