

**VILNIAUS UNIVERSITETO  
GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETO  
EKOLOGIJOS IR APLINKOTYROS CENTRAS**

**EGLĖ RATKELYTĖ**

**APLINKOTYROS IR APLINKOTVARKOS STUDIJŲ PROGRAMA**

**NAFTOS IR NAFTOS PLOVIKLIO SIMPLE GREEN BENDRAS TOKSINIS  
POVEIKIS VAIVORYKŠTINIAM UPĖTAKIUI ANKSTYVOJE  
ONTOGENEZĖJE**

**MAGISTRINIS DARBAS**

**Moksliniai vadovai:  
dr. N. Kazlauskienė  
doc., dr. S. Sinkevičius**

**VILNIUS  
2006**

## Turinys

<b>1) ĮVADAS.....</b>	<b>4</b>
<b>2) LITERATŪROS APŽVALGA.....</b>	<b>6</b>
2.1.Naftos dispergentų naudojimas ir poveikis aplinkai.....	6
2.1.1. Cheminės dispersijos mechanizmas.....	6
2.1.2. Dispergentų toksiškumas ir poveikis gyviems organizmams.....	8
2.2.Naftos išsiliejimų likvidavimo cheminėmis medžiagomis pasekmės.....	9
2.3.Ploviklis Simple Green.....	12
2.3.1. Simple Green savybės.....	12
2.3.2. Ploviklio Simple Green poveikis naftos produktams ir jo toksiškumo tyrimai.....	13
....2.3.3.Ploviklio Simple Green fizikinis-cheminis veikimo mechanizmas.....	15
2.4. Toksinių medžiagų mišiniai ir jų poveikis hidrobiontams.....	20
<b>3) DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....</b>	<b>23</b>
<b>4) TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODIKA.....</b>	<b>24</b>
4.1.Tyrimo objektas.....	24
4.2.Lašišinių žuvų ankstyvųjų vystymosi stadijų apžvalga.....	25
4.3.Metodika.....	29
<b>5) DARBO REZULTATAI.....</b>	<b>32</b>
5.1. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio mirtingumui ankstyvoje ontogenezeje.....	32
5.2. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio kardiorespiracinei sistemai (širdies ir kvėpavimo dažniui) ankstyvoje ontogenezeje.....	38
5.3. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio vystymuisi, ritimosi procesui, kraujotakos sistemai bei elgsenai ankstyvoje ontogenezeje.....	44

5.4. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro ilgalaikio poveikio vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų fiziologiniams rodikliams ypatumai.....	49
<b>6). DARBO REZULTATŲ APTARIMAS.....</b>	<b>54</b>
<b>7). IŠVADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS.....</b>	<b>60</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>64</b>

## 1. Įvadas

Pastaruoju metu padažnęję naftos išsiliejimai jūroje, Kuršių mariose, upėse ar ežeruose tapo ypač svarbia gamtosaugine problema. Tai verčia galvoti apie greitą ir efektyvų naftos surinkimą. Lietuvoje naftos ir jos produktų išsiliejimų poveikis biotai tapo ypatingai aktualus po kelių Baltijos jūros priekrantėje įvykusių išsiliejimų Būtingės terminalo akvatorijoje. Be mechaninių priemonių naftos išsiliejimų likvidavimui yra naudojami įvairių rūšių dispergentai. Tačiau, chemikalų naudojimas gali pakeisti numatomus naftos poveikio efektus, nes patys chemikalai gali būti toksiški. Be to, jų naudojimo atveju, nafta gali žymiai greičiau patekti į vandens storumę.

Viena iš tokių medžiagų, kuri buvo naudojama naftos išskaidymui dviejų paskutiniųjų naftos išsiliejimų Būtingės terminale atvejais, yra ploviklis „Simple Green“, kuris efektyviai pašalina naftos plėvelę nuo vandens paviršiaus. Šio ploviklio naudojimo pasekmės gali būti katastrofiškos hidroekosistemoms, nes per trumpą laiką yra ištirpinami netirpūs naftos produktai. Be to, mažai yra žinomos žalos nedarančios arba mažai darančios tirpalo koncentracijos. Dėl galimo naftą skaidančių medžiagų poveikio aplinkai ir gyviesiems organizmams nėra vienareikšmės nuomonės. Yra prielaida, kad dispergentai gali sukelti neigiamą žuvų reakciją, keisti jų migracijos kelius, mitybos plotus.

Vandens organizmams vieni iš pavojingiausių yra ištirpę naftos angliavandeniliai, kurių koncentracija vandenyje, paveikus naftą detergentu, gali padidėti šimtus ar net tūkstančius kartų ir, priklausomai nuo išsiliejusios naftos kiekio, pasiekti ūminius letalius lygius jautriausiems vandens organizmams (bestuburiams, žuvims ankstyvoje ontogenezeje, vandens augalams).

Į hidroekosistemą išsiliejus naftai, jos sklaidos vandenyje procesai vyksta labai dinamiškai, todėl vien tik gamtoje atlikti tyrimai neleidžia išsamiai įvertinti hidroekosistemoje susidariusios ekotoksikologinės situacijos. Siekiant išaiškinti naftos išsiliejimų likvidavimo pasekmių poveikį vandens organizmams gėlavandenėse ir jūrinėse ekosistemose, kartu su bioindikaciniais tyrimais būtina atlikti modelinius bandymus laboratorinėmis sąlygomis, kurie leistų išsamiau įvertinti naftos išsiliejimų likvidavimui naudojamo detergento poveikį ir pasekmes organizmams. Be to, iki šiol vykdyti Baltijos jūros akvatorijos tyrimai daugiausia apėmė fizinių ir cheminių rodiklių ,

žemesniųjų hidrobiontų biocenozė ir žuvų monitoringinius tyrimus, tačiau to neužtenka iki galo įvertinti visas akvatorijų taršos aktualijas. Kompleksinis skirtingo filogenetinio lygio bei ontogenezės vandens organizmų monitoringas iki šiol nebuvo vykdomas. Neiširti kriterijai ir neparengtos gamtosauginės rekomendacijos, įvertinančios specifines šių akvatorijų teršalų (naftos produktų), jų avarinių išsiliejimų bei jų likvidavimo pasekmes vandens organizmams ir ekosistemoms. Todėl ekotoksinio poveikio, jo pasekmių tyrimai Baltijos jūros akvatorijoje yra labai aktualūs, turi didelę praktinę bei teorinę reikšmę sprendžiant šio regiono gamtosaugines problemas. Prognozuojant Baltijos jūroje vykstančius ekotoksinius procesus būtina įvertinti aktualiausių šioms akvatorijoms teršalų poveikį, jo specifiką bei dėsningumus (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

## **2. Literatūros apžvalga**

### **2.1 Naftos dispergentų naudojimas ir poveikis aplinkai**

Užterštumo nafta pavojus vandenių florai ir faunai neapsiriboja tiesioginiu naftos ir jos produktų poveikiu. Kovai su užterštumu naftos produktais naudojami įvairūs cheminiai junginiai, dažniausiai emulguojantys naftą. Likviduojant šiuos teršalus, į vandenį patenka įvairūs preparatai, kurie savaime yra toksiški. Dispergentai – tai chemikalų grupė, skirta paspartinti naftos plėvelės natūralios dispersijos (sklaidos) procesą. Jų panaudojimas kartais būna vienintelė priemonė šalinant naftą nuo vandenių paviršiaus, ypač tada, kai mechaninis utilizavimas neįmanomas. Jie skirti tam, kad minimizuotų naftos poveikį aplinkai: neišskaidyta plėvelė ir naftos likučiai – tai nuolatinis pavojus paukščiams, žinduoliams, žuvims. Tačiau reaguojant į išsiliejimus, dispergentų naudojimas yra ribotas ir griežtai kontroliuojamas pagrindinio šalies šių produktų naudojimo reglamento (Clean-up techniques).

#### **2.1.1. Cheminės dispersijos mechanizmas**

Natūralios dispersijos metu, esant bangavimui ar kitai turbulencijai jūros paviršiuje, naftos plėvelė visiškai ar iš dalies susiskaldo į lašelius ir pasklinda vandens stulpė. Dispergentų sudėtyje yra medžiagų, pagreitinančių šį procesą. Dispergentai sudaryti iš dviejų komponentų: detergento ir tirpiklio. Detergentas (ploviklis) – paviršinio aktyvumo medžiaga teršalams šalinti nuo nešvaraus paviršiaus. Detergento molekulės panašios į dviejų skirtingų skysčių, kurie tarpusavyje nesimaišo, molekules ir yra tarsi sąsaja tarp jų. Viena detergento molekulių, esančių dispergentuose, dalis pritraukia naftą (yra lipofilinė), kita dalis – vandenį (yra hidrofilinė).

Kai dispergentai užpurškiami ant naftos plėvelės, vandens ir naftos tarpusavio įtempimai sumažėja, o tai paskatina visiškai išsisklaidžiusios naftos lašelių formavimąsi. Šie lašeliai gali būti įvairaus dydžio ir suspenduotos būsenos. Tačiau pagrindinė sąlyga, kad procesas būtų sėkmingas, yra tolygus detergento pasiskirstymas po visą naftą. Tai pasiekti padeda dispergental sudėtyje esantys atitinkami tirpikliai, kurie leidžia dispergentui įsiskverbti į plėvelę ir veikia kaip detergental atrama (Clean-up

techniques). Dispergentai kartu su vandens paviršiaus bangavimu verčia naftą formuoti mažas daleles, kurios skaidosi ir tirpsta vandenyje, didindamos biodegradaciją.

Naftos dispersijos cheminiais dispergentais efektyvumas jūroje priklauso nuo naftos tipo ir cheminės sudėties, naftos erozijos (nuolydžio) laipsnio, naftos plėvelės storio, dispergento tipo, lašelių dydžio ir panaudojimo santykio, vyraujančios jūros būsenos (būklės, bangavimo energijos), jūros temperatūros ir druskingumo (Use of dispersants).

Dispergentai efektyviai veikia tik kai kurių tipų naftą, todėl pirmiausia nustatomos išsiliejusios naftos fizinės ir cheminės savybės (klampumas, lakumas, toksiškumas ir t.t.), kad būtų imamasi optimaliausių priemonių.

Dispergentai mažai veikia klampią, plūduriuojančią naftą (tirpikliui nespėjus įsiskverbti, dispergentas nuteka nuo tokios naftos į vandenį). Išaiškinta, kad dispergentai disperguoja daugumą skystų aliejų ir emulsijas, kurių klampumas mažesnis nei 2000 centistoksu (centistoksas (cSt) – naftos mobilumo (slankumo) matavimo vienetas), pavyzdžiui, mazutas, kai aplinkos temperatūra 10-20 laipsnių C. Dispergentų veiksmingumas priklauso nuo jūros būsenos, temperatūros ir kitų anksčiau minėtų faktorių. Šios medžiagos vis dėlto efektyviau veikia į krantą išmestas klampias naftas, nes pailgėjęs sąlyčio laikas leidžia dispergentui geriau įsiskverbti į naftą. Geriausiai dispergentai veikia ką tik išsiliejusią naftą (Clean-up techniques).

Dispergentų pagalba naftos plėvelė pašalinama nuo vandens paviršiaus, tačiau susidaro laikini disperguotos naftos debesys keliuose viršutiniuose vandens stulpo metruose. Šių debesų ribose yra didžiausias biologinės rizikos laipsnis. Jie potencialiai pavojingi planktoniniams augalams ir gyvūnams, ypač mikrozooplanktonui, įskaitant ir planktonines žuvų lervutes ir ikrus. Kiek mažesnis pavojus gresia nektonui, nes jie tik viršutiniuose vandens sluoksniuose patiria trumpalaikius naftos ir detergiento komponentų poveikius. Nedidelė rizika giliau vandens rūšims, pavyzdžiui, plekšnėms, nes disperguotos naftos debesys formuojasi keliasdešimt ar šimtai metrų virš dugno ir tam, kad nusėstų ant jo, reikia kelių savaičių ar mėnesių. Tačiau vis tik disperguota nafta sukelia bentosinių rūšių, tokių kaip moliuskai, mirtingumą, jei dispergentai naudojami sekliuose vandenyse, kur silpnas vandens maišymasis, ar uždaruose telkiniuose. Todėl dažniausiai naftos teršalų dispergentai nenaudojami 1-10 m gylio vandens telkiniuose.

Atsargus ir kontroliuojamas dispergentų panaudojimas yra efektyvus įrankis kovojant su naftos dėmėmis jūrose, tačiau būtina žinoti tam tikras sąlygas: naftos paplitimą, jos judėjimą ir atstumą iki jautrių aplinkos elementų, gyvosios gamtos prioritetus, rūpinimosi sauga laipsnį, vandens telkinio gylį ir maišymosi laipsnį, naftos dispersijos laipsnį.

### **2.1.2. Dispergentų toksiškumas ir poveikis gyviems organizmams**

Pasaulyje į dispergentų daromą žalą visuomenės dėmesys buvo atkreiptas po 1967m. įvykusios tanklaivio "Torrey Canyon" avarijos. Tada buvo panaudoti didžiuliai kiekiai dispergentų daugiau estetiniais, o ne ekologiniais tikslais. Ilgalaikiais tyrimais buvo nustatyta, kad nafta užteršti aplinkos plotai atsistato daug greičiau negu tie plotai, kur buvo panaudoti dispergentai.

Disperguotos naftos toksiškumą vandens organizmams visų pirmausia lemia kiekvieno dispergento cheminė sudėtis (tirpiklio tipas, aromatinių angliavandenių kiekis disperguotoje naftos dėmėje, funkcinės grupės ir molekulinė detergento struktūra, cheminis stabilumas ir koncentracija). Todėl prieš naudojimą laboratoriskai turi būti nustatytas kiekvieno dispergento efektyvumo ir toksiškumo lygis.

Dispergento toksiškumą organizmams lemia šie faktoriai: jūros vandens temperatūra ir deguonies kiekis jame; organizmo rūšis, amžius, vystymosi ar augimo stadija, sveikata, organizmo ekspozicijos tęstinumas ir kiti (Use of dispersants).

Ūminiu toksiškumu pasižymi ne disperguota nafta, o kur kas nuodingesnės jos frakcijos. Cheminių distergentų naudojimas išsiliejusios naftos plėvelei skaidyti, padidina policiklinių aromatinių angliavandenių (PAA) kiekį vandens stulpelė, tai trikdo normalią PAA degradaciją, ko pasekoje didėja potencialus toksiškumas vandens organizmams ir jų natūraliai aplinkai. Vandens organizmams šie junginiai yra vieni iš pavojingiausių, jų koncentracija vandenyje, paveikus naftą detergentu, gali padidėti šimtus ar net tūkstančius kartų ir, priklausomai nuo išsiliejusios naftos kiekio, pasiekti ūminius letalius lygius jautriausiems vandens organizmams (bestuburiams, žuvims ankstyvoje ontogenezeje, vandens augalams). PAA yra vieni iš naftos komponentų, sukeltantys plačios apimties biologinius efektus, tokius kaip kancerogeniškumas, mutageniškumas,



teratogeniškumas, ūmus toksiškumas (apsinuodijimas) ir endokrininės sistemos pažeidimas. Naftoje yra šimtai PAA junginių. Kiekvienas iš jų vandens stulpelį elgiasi skirtingai, priklausomai nuo jo fizikocheminių savybių. Manoma, kad cheminiai dispergentai suskaido naftą į mažesnius ir mažiau hidrofobiškus lašelius, o šie savo ruožtu yra lengviau skaidomi veikiant fiziškai (pvz.: bangavimo) (Mihoko Yamada ir kt., 2003). Tačiau dispergentų naudojimas naftos plėvelei suskaidyti, gali pakeisti naftos poveikio numatomas pasekmes. Pirmiausia, patys chemikalai gali būti toksiški, antra, juos naudojant, nafta daug greičiau patenka į vandeninguosius sluoksnius. Naftos dispersija vandenyje, kur yra nedidelis bangavimas ar maišymasis didina organizmų ekspoziciją toksiniams naftos komponentams (Baltijos jūros aplinkos būklė, 2003). Taigi, daugumos tyrėjų nuomone, dispergentai didina toksiškų PAA tirpumą vandens stulpelį, tuo pačiu padidindami ir jų bioprieinamumą bei sukeldami neigiamą efektą įvairioms vandens bendrijoms (Mihoko Yamada ir kt., 2003).

Naikinantis efektas priklauso nuo teršalų koncentracijos. Trumpalaikis nereikšmingų naftos-detergento mišinio koncentracijų poveikis lemia įvairių organizmų judesių sutrikimus. Kai kurie organizmai, turintys išorinius griaučius, yra atsparesni detergentų poveikiui (Baltijos jūros aplinkos būklė, 2003).

Tiriant dispergentų poveikį kai kurių jūrų žuvų (sardinės, silkės, jūros liežuvio ir dviejų rūšių plekšnių) embrionams ir lervutėms, eksperimento pradžioje buvo stebimas padidėjęs aktyvumas, o vėliau narkozė. Lervutės darė tik pavienius sporadiškus susitraukimus ir reagavo tik į prisilietimus. Šioje stadijoje dar buvo stebimas grįžtamasis toksikanto poveikis, kuomet lervutės, perkeltos į švarų vandenį, grįžo į normalią būseną. Pokyčiai darosi negrįžtami, kai nebegaunama atsakomoji reakcija į stiprius dirginimus (badymą), prieš mirtį audiniai stipriai pažeidžiami, ypač uodegos epidermis. Tiriant plekšnės embrionus, stebimi kūno iškrypimai, dalis embrionų išvis neišsiriti (Wilson K.W., 1970).

Dėl detergentų poveikio stebimi patologiniai pakitimai: ant žuvų lervučių išorinės dangos formuojasi pūslės, uodegos galas atrodo tarsi apipjaustytas, pažeidžiami audiniai, blokuojami chemoreceptoriai (tai trukdo maisto paieškai ir mitybai), sutrinka kvėpavimas ir druskų balansas organizme (Baltijos jūros aplinkos būklė, 2003).

Pažeidimų, padarytų žiaunoms dėl epitelinių ląstelių išbrinkimo (iki kraujosruvų ir antrojo plonojo sienelės sluoksnio suirimo bei visiško gleivinės ląstelių netekimo), laipsnis taip pat priklauso nuo detergento koncentracijos ir ekspozicijos laiko. Subletalios detergentų koncentracijos sukelia žuvų žiaunų kvėpavimo epitelio sutrikimus (kvėpavimo epitelio ląstelių suplonėjimas ir pailgėjimas bei plonojo antrinio sluoksnio suaugimas, kuriuos sukelia epitelinių audinių tarp gretimų plonųjų sluoksnių ir jų galuose periferija). Morfologiniai pakitimai ne visada lemia –žuvies mirtį, tačiau ilgam laikotarpiui sutrinka žiaunų kvėpavimo funkcijos. Veikiant aktyvioms paviršiaus medžiagoms, žuvų kraujyje padidėja hemoglobino ir eritrocitų kiekis bei tuo pačiu sumažėja leukocitų kiekis. Manoma, jog tai yra tarsi apsauginės reakcijos pasekmė (Mironov O.G., 1972). Žuvų ir kitos jūrų gyvybės lervos stadija arba ankstyvosios stadijos yra jautresnės toksiškam naftos ar dispergento efektui. Todėl dispergentų stengiamasi nenaudoti šalia komercinių žūklės rajonų, svarbių nerštaviečių, žuvų veisimosi plotų ir t.t., jei pavojus negresia svarbesniems aplinkos ištekliams (Baltijos jūros aplinkos būklė, 2003).

## 2.2. Naftos išsiliejimų likvidavimo cheminėmis medžiagomis pasekmės

Naftos bei jos produktų išsiliejimai į Baltijos jūrą tapo pirmaeile gamtosaugine problema, nes patekę į jūrą, jie gali sukelti neigiamus pokyčius vandens organizmuose ir ypač žuvyse ir pažeisti ekosistemas. Todėl yra ypač aktualu įvertinti išsiliejusios naftos ir jos produktų poveikį vandens organizmams. Lietuvoje žalios naftos avarinių išsiliejimų jūroje likvidavimui buvo naudojamas naujos kartos emulgatorius "SIMPLE GREEN". Tokio emulgatoriaus naudojimo ekologinės pasekmės nėra iširtos ir gali būti katastrofiškos vandens organizmams ir ekosistemoms.

Chemikalų naudojimas naftos išsiliejimų likvidavimui gali pakeisti įprastines NA savybes t.y. didinti jų tirpumą vandenyje, tai savo ruožtu sukelia jų bioprieinamumo didėjimą ir pakeičia chemikalo, naftos ir organizmo biologinių membranų sąveikas (Singer ir kt., 1998). Nustatyta, kad chemiškai disperguota nafta gali labiau paveikti NA prieinamumą Australijos ešeriui (*Macquaria novemaculeata*) tiek per vandenį, tiek per maisto grandinę (Cohen ir kt., 2001a, b). Autoriai pratęsė savo darbus, įvertindami naftos išsiliejimų likvidavimo 2 metodais, pasekmes šių žuvų jaunikliams. Vandenyje chemiškai disperguota nafta žymiai padidino citochromo-C-oksidadzės aktyvumą žiaunose ir kepenyse, laktatdehidrogenazės aktyvumą kepenyse lyginant su kontrole. Palyginus naftos, dispergento ir naftos bei dispergento mišinio poveikį vaivorykštinio upėtakio (*Oncorhynchus mykiss*) jaunikliams buvo nustatyta, kad naftos bei dispergento mišinys daug toksiškesnis (Lockhart ir kt., 1996).

Tačiau Adams ir kt., (1999) nustatė, kad paveikta dispergentu nafta buvo mažiau toksiška, nei viena nafta arba vienas dispergentas. Šie tyrimai rodo, kad toksiškumo duomenys gali skirtis priklausomai nuo naftos bei dispergento rūšies. Apskritai tyrimų apie dispergentų toksiškumą yra labai mažai.

### **2.3. Ploviklis Simple Green**

Šiuolaikinė pramonė įvairiose srityse naudoja daugybę plovimo ir valymo priemonių. Tokių priemonių pasiūla auga, tuo pačiu didėja jų efektyvumas, mažėja kenksmingas poveikis aplinkai. Simple Green yra naftą ir jos produktus skaidantis detergentas, skirtas likviduoti naftos išsiliejimams atvirame vandenyje. Ši medžiaga taip pat yra plovimo, valymo ir dezinfekavimo priemonė, priklausanti naujų priemonių, numatomų tiekti ir naudoti Lietuvoje, kategorijai. Lietuvoje jis pirmą kartą panaudotas 2001m. Baltijos jūroje išsiliejusios naftos skaidymui. Tačiau nėra atlikta jokių studijų apie šio chemikalo biologinį poveikį vietinėms ekosistemoms. Todėl būtina iširti, koku mastu ši priemonė ardo naftos produktus, ir koks yra jos poveikis aplinkai.

#### **2.3.1. Simple Green savybės**

Simple Green yra sudarytas iš nestabilaus, neskiesto 2-butoksietanolio (<6%). Green vardu yra žymimi keli plovikliai – valikliai (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

Ploviklis-valiklis Simple Green – skystis; tai nejoninės paviršinio aktyvumo medžiagos (5-15%) ir angliavandeniliai (iki 5%); įvairios paskirties valiklis, laikomas universaliu valikliu vandeniui atspariems paviršiams valyti.

Crystal Simple Green valiklis – skystis; tai paviršinio aktyvumo medžiagos (iki 15%) ir alifatiniai angliavandeniliai (iki 5%); taip pat įvairios paskirties valiklis; siūlomas detalėms, rezervuarams plauti.

Simple Green D – dezinfekuojantis valiklis-skystis; tai paviršinio aktyvumo medžiagos (iki 15%), ketvirtiniai amonio junginiai (iki 1%) ir alifatiniai angliavandeniliai (iki 5%); siūloma vandeniui atspariems paviršiams valyti ir dezinfekuoti.

Simple Green kalkių nuosėdoms šalinti – skystis; tai nejoninės paviršinio aktyvumo medžiagos (iki 5%), hidroksiacto rūgštis (iki 10%); siūlomas mineralinėms nuosėdoms, kieto vandens dėmėms šalinti.

Simple Green gelis rankoms valyti; valiklio sudėtyje yra rankų odą drėkinančio lanolino ir šveitimo stiprumą didinančios pemzos; šalina tepalus, alyvą, dervą, suodžius,

neuždziūvusius dažus ir kt. nešvarumus; veikia su vandeniu ir be jo (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

Visų šių ploviklių sudėtyje vyrauja nejoninės paviršinio aktyvumo medžiagos.

Plovikliu-valiklius gamina: Sunshine Makers, inc., Research and development division, 15922 Pacific Coast Highway Huntington Harbour, CA 92649, USA.

Valikliai-plovikliai efektyvumo ir toksiškumo atžvilgiu yra tirti JAV. Valiklis Simple Green vertinamas kaip nenuodingas ir greitai suyantis produktas.

Simple Green produktus tyrė ir higieninę ekspertizę atliko Lietuvos Respublikos Sveikatos apsaugos ministerijos Dezinfekcijos, medžiagų, plovimo ir valymo bei kosmetikos priemonių higieninio reglamentavimo ir registravimo ekspertų komisija.

Simple Green produktai – priemonės, užregistruotos Lietuvoje pagal pateiktus gamintojo dokumentus, reikalingus priemonių registravimui.

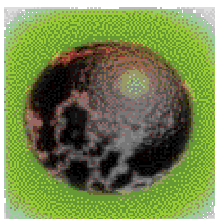
GVT specialistai tyrinėjo bazinį universalų Simple Green ploviklį-valiklį (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

### **2.3.2. Ploviklio Simple Green poveikis naftos produktams ir jo toksiškumo tyrimai**

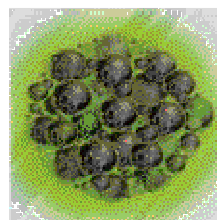
Ploviklio skaidymo galia buvo tyrinėta naudojant 2% naftą ir 2% mazutą. Ploviklis buvo skiedžiamas distiliuotu vandeniu (gerai tirpsta vandenyje). Naudotas dviejų koncentracijų ploviklis – 3% ir 9% (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

Rezultatai įvertinti vizualiai (pagal 5 balų sistemą) ir fotografuojant. Ploviklis efektyvus. Jis smulkina ir skaido naftos ir mazuto plėvelę (soliubilizacija), (pav.1). Didesnės koncentracijos ploviklis skaido efektyviau. Naftos ir mazuto plėvelė smulkinama ir skaidoma per pirmąsias naftos ir ploviklio kontakto minutes. Ploviklio toksiškumui tirti naudota Escherichia coli kultūra. Duomenys parodė, kad ploviklis slopina testuoto organizmo Escherichia coli augimą net esant 3% jo koncentracijai. Išryškėjo ploviklio savybė frakcionuoti – smulkinti teršalą į mikro daleles. Nustatyta, kad didesnės koncentracijos ploviklis pasižymi stipriomis toksinėmis ar dezinfekavimo savybėmis – jis inhibuoja mikroorganizmų dauginimąsi, tačiau ne 100% (Aplinkos biologinis valymas, 2003).

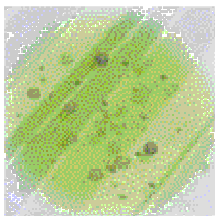
*Kaip veikia SIMPLE GREEN*



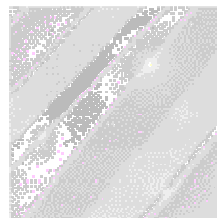
Kaip ir dauguma valiklių, Simple Green pirmiausiai suskaldo dideles naftos, tepalų ir riebalų globules į mikroskopinius lašelius – micles.



Tačiau skirtingai nei pramoniniai detergentai Simple Green ir toliau skaldo šiuos mikroskopinius lašelius (micles).



Lašeliams smulkėjant ir gausėjant, didėja jų paviršiaus plotas, kurį atakuoja Simple Green ir vanduo. Taigi, lašeliai ne tik suskaidomi ir išskaidomi, bet ir ištirpinami vandenyje.



Suskaidęs naftą, Simple Green išsisklaido vandenyje.

1 pav. Simple Green poveikis naftai ir jos produktams.

(<http://www.hawaii.gov/dbedt/ert/archive/heeetsed/hee-simple.html>)

### 2.3.3. Ploviklio Simple Green fizikinis-cheminis veikimo mechanizmas

Simple Green sudėtis (Skyrius parengtas remiantis Jacob Israelachvili knyga „Intermolecular & Surface Forces”, 1998m., second edition):

5 – 15 % surfaktantai (Paviršinio aktyvumo medžiagos – PAM)

iki 5 % alifatiniai angliavandeniliai

< 6 % 2-butoksietanolis ( $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{OH}$ )

Modeliuojant galimą ploviklio Simple Green veikimo mechanizmą išskyla nemažai problemų dėl labai nekonkrečios gamintojo pateikiamos produkto sudėties – nenurodyta nei surfaktantų, nei alifatinių angliavandenilių cheminės formulės bei tikslios koncentracijos. Šios informacijos nepasiekiamumas paaiškinamas vis dar galiojančiu produkto patentu. Galbūt dėl šios priežasties tiek mokslinėje literatūroje, tiek internetinėse duomenų bazėse nepvyko surasti fizikinio-cheminio SG veikimo mechanizmo. Daugelyje studijų, analizuojančių SG kaip valiklio savybes ir galimą toksiškumą, apsiribojama labai nekonkrečiais ir moksliskai neapibrėžtais terminais – “skaido”, “tirpdo”, “valo”, “naikina” riebalus, tepalus ir kt. medžiagas, moksliskai apibūdinamas kaip “hidrofobinės”.

Akivaizdu, jog analizuojant galimą SG-nafta komplekso biotoksiškumą, tenka atsakyti į keletą svarbių klausimų:

1. Ar SG padidina naftos biotoksiškumą
2. Jei TAIP, kaip šis pokytis priklauso nuo SG ir naftos koncentracijų santykio
3. Ar įmanoma šį neigiamą (?) SG poveikį minimizuoti, maksimaliai išsaugant teigiamas jo savybes naftos plėvelės skaidymui, ir kokiais būdais tai galime pasiekti?..

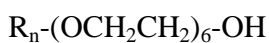
Šiame skyriuje pateikiamas vienas iš galimų SG veikimo mechanizmų, kuris daugiausia remsis fizikinėmis-cheminėmis sąveikaujančių molekulių savybėmis ir šiuolaikine tarpmolekulinės sąveikos teorija. Pažymėtina, kad šis mechanizmas jokiu

būdu nepretenduoja tapti vieninteliu teisingu, greičiau tai tiesiog hipotezių, neprieštaraujančių šiuolaikiniam mokslui, rinkinys.

Visų pirma, reikia įvertinti, ar SG veikia kaip cheminis katalizatorius ( maži produkto kiekiai „suka“ naftos skaidymo reakciją ratu), ar kaip tiesioginio veikimo preparatas. Žvelgiant į SG cheminę sudėtį ir turint omenyje jo tiesinę efektyvumo priklausomybę nuo koncentracijos, beveik vienareikšmiškai peršasi tiesioginio veikimo mechanizmas. Yra žinoma, kad angliavandenilių (naftos) fazės atsiskyrimas vandeniniuose tirpaluose sąlygojamas tarpmolekulinių Van der Valso tipo jėgų (tolimojo veikimo stūmos jėgos tarp angliavandenilių ir vandens molekulių), bei stiprių (ypač vandenyje) hidrofobinės traukos jėgų tarp angliavandenilių. Tai gerai žinomi „hidrofilškumo“ ir „hidrofobiškumo“ principai. Naftoje dominuojantys didelės molekulinės masės angliavandeniliai linkę vandens paviršiuje formuoti ištisinį mono(daugia)-sluoksnį. Naftos sudėtinių dalių (angliavandenilių) tirpumas vandenyje (monomerų koncentracija) labai mažas – tipinės maksimalaus tirpumo ribos gana žymiai mažesės nei mM eilės. Tai reiškia, kad bioprieinamų (vandenyje ištirpusių) naftos komponentų žala gyviesiems organizmams labai nedidelė, o lyginant su naftos sąlygojamu deguonies stygiumi vandenyje ar tiesioginio bioorganizmų-naftos kontakto žala, praktiškai lygi nuliui. Tačiau naftos tirpumą vandenyje gali padidinti keletas faktorių: vandens bangavimas, temperatūra, jonų koncentracija ir t.t). Situacija gana ženkliai pasikeičia, kai naftos monoslauksnis ardomas detergentu, pvz.: SG. Remiantis gamintojo pateikiama infoermacija, darykime prielaidą, kad SG sudaro šie komponentai:

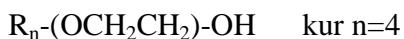
1. Įvairaus ilgio alifatiniai angliavandeniliai (turėtų dominuoti mažesnės molekulinės masės, nes SG gerai tirpus)

2. Nejoniniai surfaktantai (paprastai alkilpolioksietilen-monoeteriai)



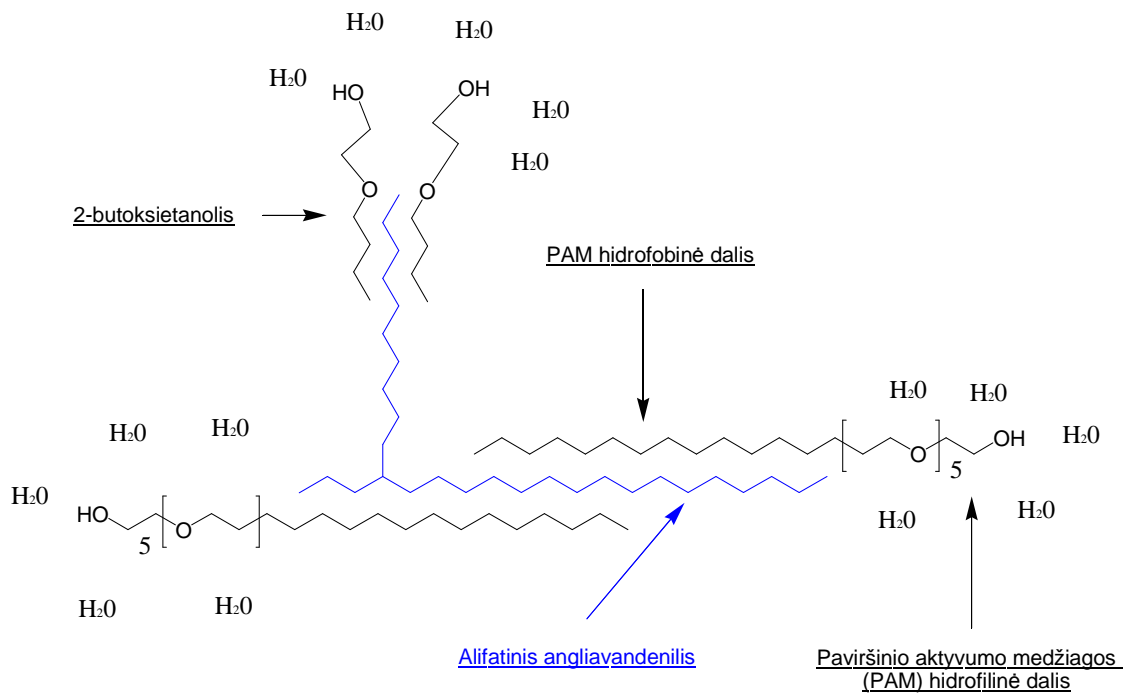
Kur n paprastai 8-12 CH<sub>2</sub> grupių

3. 2-butoksietanolis iš esmės yra „mini“ nejoninis surfaktantas



Kokios galimos sąveikos tarp SG komponentų, ir kodėl SG, turėdamas savo sudėtyje alifatinių angliavandenilių yra “gerai tirpus vandenyje”? Tarp alifatinių angliavandenilių ir nejoninių surfaktantų galima hidrofobinė sąveika, pvz.:





2 pav. Hipotetinė Simple Green komponentų sąveika vandenyje.

Tai logiškai paaiškinama ir žvelgiant į atitinkamų komponentų koncentracijų santykį: Alifatiniai angliavandeniliai 1 : 2 , 3 surfaktantai (procentinis santykis). T.y. 1 angliavandenilio molekulė sąveikauja su 2 – 5 surfaktanto molekulėmis – efektyviai „tirpinama“. Molinis santykis 1 : 1-5 ar > , priklausomai nuo komponentų molinės masės (MW).

Alifatiniai angliavandeniliai 1 : 1 2BOE (procentinis santykis). Molinis santykis 1 : 10 ar > nes MW (2BOE) << MW (alif.angliav.), t.y. 1 angliavandenilio molekulė (ypač šakota) sąveikauja su daug 2BOE molekulių. Taip pat galimos sąveikos „angliavandenilis – angliavandenilis“, „surfaktantas – surfaktantas“, „surfaktantas – 2 BOE“, „2BOE – 2BOE“, bet energetiškai jos nepalankios ir realiai praktiškai nestebimos.

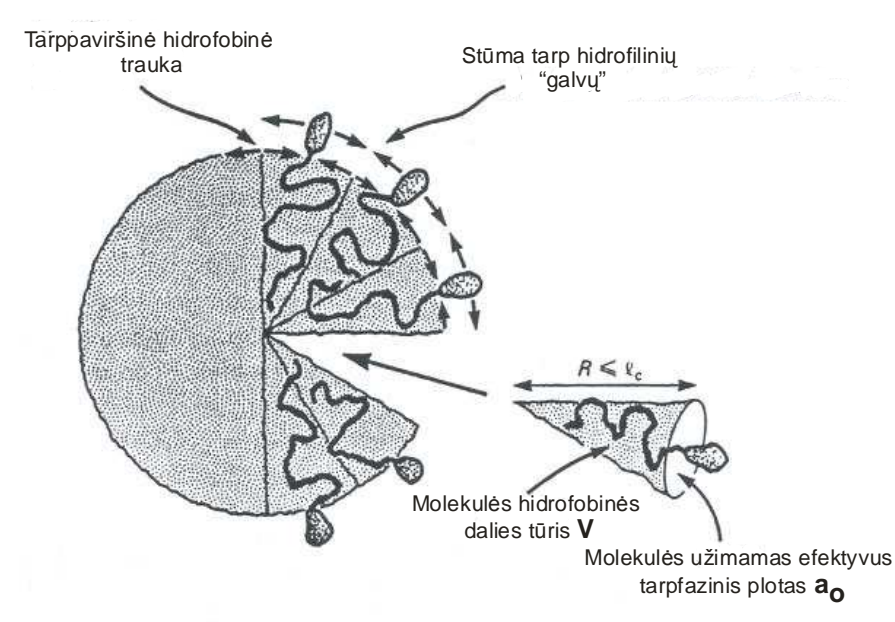
Kas vyksta, kai naftą apipurškiame SG vandeniniu tirpalu? SG komponentai sudaro analogiškas aptartosioms sąveikas su naftos angliavandeniliais. Alifatinųjų angliavandenilių buvimą SG galima būtų pagrįsti taip : C10 – C20 alifatiniai angliavandeniliai lengvai „ištirpsta“ naftos monosluoksnyje, jį suskystina ir padaro prieinamesnį surfaktantų interkaliacijai. Taip pat, priklausomai nuo (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> skaičiaus,

alifatiniai angliavandeniliai gali įtakoti įvairių multimerinių struktūrų, apie kurias bus kalbama toliau, formą, dydį, pasiskirstymą tirpale. Yra žinoma, kad surfaktantai vandenilinius ryšius turinčiuose tirpikliuose formuoja micles, monosluoksnius, bisluoksnius, atvirkštines micles ir kitų formų struktūras. Pagrindinės viduagregatinės sąveikos, sąlygojančios amfifilinių molekulių savaiminę asociaciją vandenyje yra šios (3 pav.):

1. hidrofobinė traukos jėga tarp molekulių, veikianti fazių riboje tarp vandens ir surfaktanto hidrofilinių grupių
2. hidrofilinės, joninės ir erdvinės stūmos jėgos tarp amfifilo hidrofilinių grupių.

Kokio dydžio ir formos struktūrą formuos surfaktantas, priklauso nuo keleto parametrų:

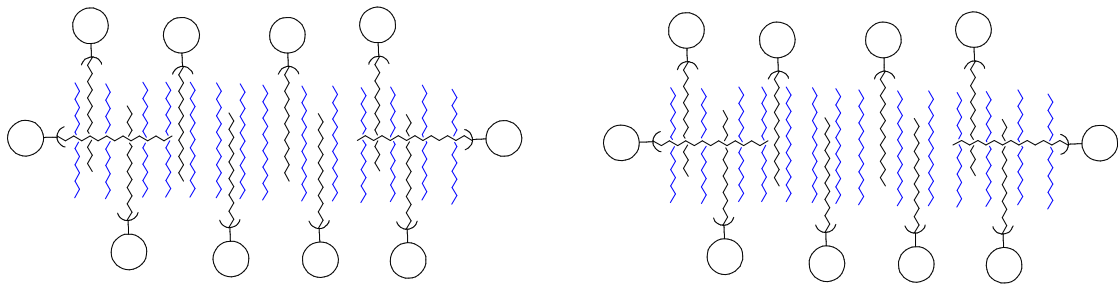
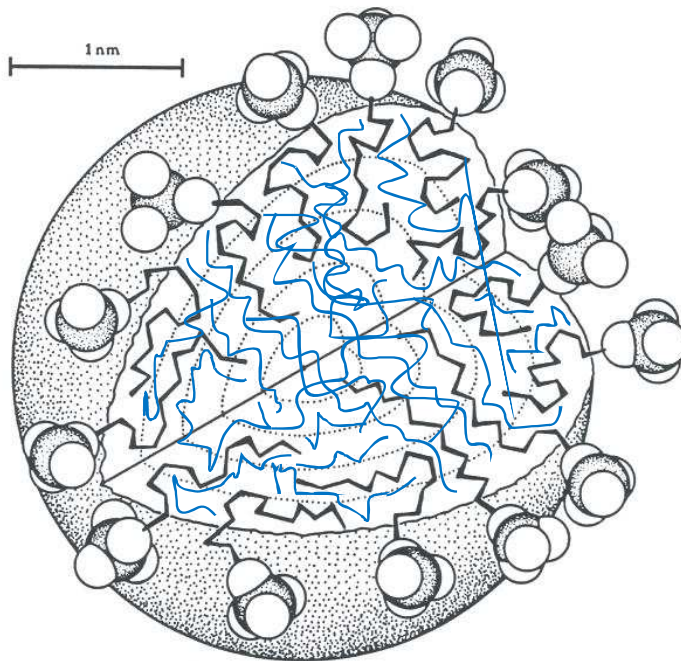
- a. surfaktanto „galvos“ hidrofiliškumas, krūvio buvimas ar nebuvimas, krūvio dydis, „galvos“ dydis (tūris) – aprašomas parametru  $a_0$ .
- b. hidrofobinės „uodegos“ (maksimalus) ilgis – aprašomas parametru  $l_c$  (arba  $R$ ), bei jos šakotumas (tūris) –  $V$ .
- c. surfaktanto koncentracija (monomerų) – aprašomas parametru.
- d. priklausomybė nuo tirpiklio savybių (jonų koncentracijos, pH, kt.)



3 pav.:  
Amfifilinių molekulių sąveika micelėje ir ją apibūdinantys parametrai.

Šie parametrai kartu – vadinamasis molekulės formos faktorius  $V / a_0 l_c$ . Jei  $V / a_0 l_c < 1/3$  – formuojama rutulio formos micelė, kai  $> 1/2$  bet  $\leq 1$  - bisluoksnis ir t.t.

SG esantys surfaktantai, priklausomai nuo jų cheminės sudėties, koncentracijos, galėtų formuoti įvairių formų ir dydžių naftos-surfaktanto erdvinės struktūras, pradedant erdvinėmis micelėmis, baigiant dvisluoksniu ar „skylėtu“ monosluoksniu.  
Pvz.:



5 pav. Paviršinio aktyvumo medžiagų suardytas angliavandenilių monosluoksnis.

PAM taip pat gali padidinti naftos sudedamųjų komponentų (pvz. PAA) monomeringą koncentraciją, kurie būtų gana lengvai įsisavinami bioorganizmų. Akivaizdu, kad

didėjant SG-nafta santykiui, daugėja sferinių micelių, be to, jos iki tam tikro laipsnio smulkėja. Micelių minimalų dydį apsprendžia ir SG esantys alifatiniai angliavandeniliai. Modeliuojant su biomembranomis parodyta, kad į micelę, ar į dvisluoksnę micelę įterpus hidrofobinių angliavandenilių, kinta jos išlinkimas, t.y. spindulys, o tuo pačiu ir micelės dydis.

Taigi, atrodytų – kuo daugiau SG – tuo daugiau ir tuo smulkesnės naftos-SG micelės, tuo didesnė tikimybė jų kontaktui su bioorganizmais, tuo palankesnės sąlygos PAA „išsilaisvinimui“ iš naftos konglomeratų.

Tikslesnį SG poveikio mechanizmą, kaip jau minėta, labai apsunkina ne tik žinių trūkumas apie SG, bet ir naftos nevienalytiškumas, jos įvairovė ir kiti faktoriai. Dar kartą pažymėtina, kad šiame skyriuje siūlomi SG veikimo modeliai yra hipotetiniai, neprieštaraujantys pagrindiniams tarpmolekulinių sąveikų dėsniams, tačiau gerai paaiškinantys šiame darbe aprašomus eksperimentinius rezultatus. (Skyrius parengtas remiantis Jacob Israelachvili knyga „Intermolecular & Surface Forces“, 1998m., second edition).

#### **2.4. Toksinių medžiagų mišiniai ir jų poveikis hidrobiontams**

Natūraliomis sąlygomis gyvus organizmus beveik visada veikia ne viena, bet iš karto kelios toksinės medžiagos. Nustatyta, kad aplinkoje esant dviem ir daugiau toksikantų, jų poveikis organizmams būna specifinis, t.y. toksikantai specifiškai veikia vienas kito poveikio efektą organizmui. Tokio pobūdžio poveikis gali būti paaiškintas chemine medžiagų tarpusavio sąveika tirpale. To pasekoje mažėja pradinių medžiagų koncentracija, ir organizmui didžiausią poveikį turi reakcijos produktas (Filenko, 1989).

Gyvi organizmai žymiai greičiau ir jautriau reaguoja į toksinių medžiagų bei jų mišinių nedideles koncentracijas. Ypač tai aktualu vandens telkinių mažos taršos įvertinimui. Biologinių testų, jų kompleksų panaudojimo dėka, gali būti įvertinti ne tik atskirų medžiagų, bet ir jų mišinių toksiškumas (Kazlauskienė ir kt., 1994).

Tiriant toksikantų mišinių poveikį hidrobiontams nustatyta, kad šis poveikis priklauso nuo organizmų rūšies, vystymosi stadijos, išankstinės aklimatizacijos, maitinimo, bandymų trukmės, toksikantų prigimties, koncentracijos, vandens kietumo, temperatūros, pH, ir kitų veiksnių (Alabaster et all., 1984).

Vienų autorių nuomone, mišinių poveikio efektai nepriklauso nuo toksikantų santykio mišinyje, kitų darbai liudija, kad mišinių poveikio efektai priklauso nuo toksikantų santykinų proporcijų (Brown et all., 1970).

Bendras mišinio toksiškumas gali būti adityvių, sinergetinių, antagonistinių komponentų sąveikų išdava. Be pačių komponentų sąveikos, mišinio poveikį apsprendžia ir jo koncentracija (letali-neletali), veikimo laikas (ilgalaikis-trumpalaikis), sudedamųjų medžiagų tipas ir koncentracija.

Remiantis duomenimis apie mišinių poveikį, galima manyti, kad tuo atveju, kai organizmą veikia keletas toksikantų, galima sąveika tarp įvairių fiziologinių procesų pačiame organizme, įskaitant ir procesus, reguliuojančius cheminių medžiagų adsorbiciją, surišimą su plazmos baltymais, pasiskirstymą, pernešimą, atpalaidavimą iš audinių, metabolizmą ir eliminaciją. Kiekvienas iš šių procesų gali lemti bendrą organizmo būseną (cheminių medžiagų kaupimą audiniuose, augimo greičio ir kitus pakitimus, žūtį). Egzistuoja įvairios poveikio efektų formos:

1. Antagonizmas – medžiagų suminis efektas mažesnis už efektų sumą.
2. Adityvus poveikis – medžiagų suminis efektas lygus efektų sumai.
3. Sinergizmas – medžiagų suminis efektas didesnis už efektų sumą.

Ploviklis CRYSTAL Simple Green (SG) yra naftos dispergentas, naudojamas naftos išsiliejimams likviduoti atviruose vandenyse, gėluose vandenyse, estuerijose ir jūrinėje aplinkoje. Lietuvoje jis pirmą kartą panaudotas 2001 metais Baltijos jūroje išsiliejus naftai. Tačiau šios medžiagos biologinis poveikis hidrobiontams vietinėmis sąlygomis nebuvo tirtas. Todėl šio darbo tikslas yra nustatyti naftos, detergento Simple Green ir šių medžiagų mišinio bendrą poveikį žuvims ankyvoje ontogenezėje laboratorinėmis sąlygomis.

Tyrimai rodo, kad žuvis ankstyvose vystymosi stadijose yra žymiai jautresnės už suaugėlius. Subletalūs efektai buvo tirti atliekant bandymus su 0.5 mg/l detergento

koncentracija. Ši koncentracija nebuvo labai toksiška lervoms, o suaugusioms žuvims iš viso nepadarė jokio poveikio. Tačiau ilgalaikiai tyrimai parodė, kad detergentas SG turi neigiamą poveikį žuvims anktyvose jų vystymosi stadijose (vaivorykštinio upėtakio lervų mirtingumo padidėjimas) (M. Z. Vosylienė, N. Kazlauskienė, K. Jokšas, 2005). Taipogi buvo stebimas didesnis naftos ir SG mišinio toksinis poveikis, negu kiekvienos šių medžiagų atskirai. Eksperimento pabaigoje lervų mirtingumas išaugo, žymiai sulėtėjo širdies bei kvėpavimo dažniai, didesnis buvo ir kraujotakos sutrikimų (kraujo išsiliejimai įvairiose kūno vietose) skaičius. (M. Z. Vosylienė, N. Kazlauskienė, K. Jokšas, 2005). Šie tyrimai patvirtina ir kitų autorių darbus, kad dispergentų naudojimas didina toksišią naftos poveikį hidrobiontams (Pollino CA, Holdway DA, 2002.), kadangi padidėja naftos angliavandenilių koncentracija (Yamada M, Takada H. ir kt., 2003) bei tirpumas vandenyje (Wolfe MF, Sshwartz ir kt., 2001), o taip pat padidina PAA prieinamumą ir jų neigiamą poveikį hidrobiontams [Linden O., Rosemarin A., ir kt., (1987), Scott BF (1984)].

### 3. Darbo tikslas ir uždaviniai

**Darbo tikslas:** ištirti naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendrą toksinį poveikį vaivorykštiniam upėtakiui (*Oncorhynchus mykiss*) ankstyvose jo vystymosi stadijose priklausomai nuo koncentracijos ir poveikio trukmės bei įvertinti ilgalaikio poveikio fiziologiniams rodikliams ypatumus.

#### **Uždaviniai:**

- 1) Ištirti naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendrą poveikį vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų mirtingumui priklausomai nuo koncentracijos ir poveikio trukmės.
- 2) Ištirti naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendrą ilgalaikį poveikį vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų kardiorespiracinei sistemai.
- 3) Ištirti naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendrą ilgalaikį poveikį vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų vystymuisi, ritimosi procesui, kraujotakos sistemai bei elgsenai.
- 4) Įvertinti naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendro ilgalaikio poveikio vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų fiziologiniams rodikliams ypatumus.
- 5) Palyginti naftos atskirai ir naftos bei naftos ploviklio Simple Green mišinio ilgalaikį poveikį vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvoje ontogenezeje.

## 4. Tyrimų medžiaga ir metodika

### 4.1. Tyrimo objektas

#### **Vaivorykštinis upėtakis (*Oncorhynchus mykiss*).**

Kūnas verpsto formos, plokščias iš šonų. Nugara plieno spalvos, šonai sidabriški, dėmėti. Pilvas pilkšvai baltas. Per nerštą išryškėja rožinė juosta kūno šonuose. Žvynai nedideli.

Paplitę Ramiojo vandenyno baseine nuo Aliaskos iki Kalifornijos. Yra praeivės ir gėlavandenės (upinės ir ežerinės) formos. Praeivis vaivorykštinis upėtakis vadinamas plienagalve lašiša, o sėsli – vaivorykštiniu upėtakiu. Plienagalvė lašiša labai gimininga Kamčiatkos lašišai (*S. penshinensis*). Subręsta 3-4 m. Neršia anksti pavasarį ant akmenuoto ar žvyruoto grunto, kai vandens temperatūra apytikriai lygi 6 laipsniams. Ikreliai dugniniai, nelipnūs, apvalūs, oranžiniai ar geltoni, 5-6 mm. Vislumas – iki 2-3 tūkst. ikrelių. Jaunikliai gyvena upėse apie 2 m., minta bestuburiais, jūroje – bestuburiais ir žuvimi. Auginami tvenkiniuose, dirbtinai veisiami žuvivaisos įmonėse. Lietuvoje reti. Sėslūs vaivorykštiniai upėtakai panašūs ir labai giminingi su Kamčiatkos upių mikitomis (*S. mykiss*). Dažniausiai auginami tvenkiniuose. Subręsta 3, rečiau – 2 m. Neršia įvairiu laiku, dažniausiai pavasarį. Lietuvoje – vasario – gegužės mėn., kai vandens temperatūra 4-8 laipsniai. Ikreliai nelipnūs, apvalūs, oranžiniai ar geltoni, 4-6 mm. Vislumas – 0.5-2.5 tūkst. ikrelių.

Praeivių ir sėšlių formų vaivorykštiniai upėtakai skiriasi ikrelių didumu: sėšlių formų ikreliai ir lervos didesni. Embrionų ir lervų vystymasis nesiskiria. Embrionai vystosi apie 50-60 parų. Išsiritusios lervos kūnas storas pilkas, didelė galva, su didelėmis tamsiomis akimis. Trynio maišelis didelis, kiaušiniškas, oranžinis ar geltonas. Trynio maišelis rezorbuojasi praėjus dviem savaitėms nuo išsiritimo (J. Virbickas, 2000).

Ankstyvoji ontogenezė – tai embrioninis ir lervų periodai, apimantys šiuos etapus: 1) nuo apvaisinimo iki blastodisko formavimosi; 2) skilimas ir blastulės formavimas; 3)



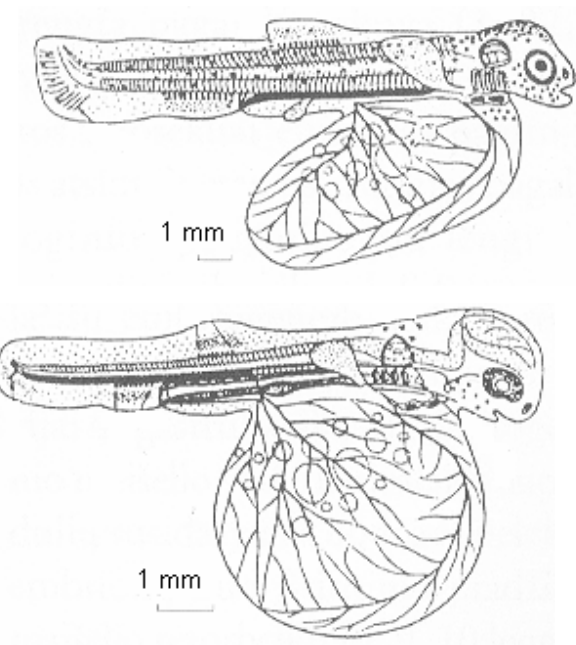
gastruliacija; 4) pagrindinė organogenezė; 5) nuo embriono judrumo. Širdies pulsacijos, gemalinės kraujotakos pradžios; 6) pasyvi laisvų embrionų būklė; 7) mišri mityba (endogeninė ir egzogeninė).

#### 4.2. Lašišinių žuvų ankstyvųjų vystymosi stadijų apžvalga

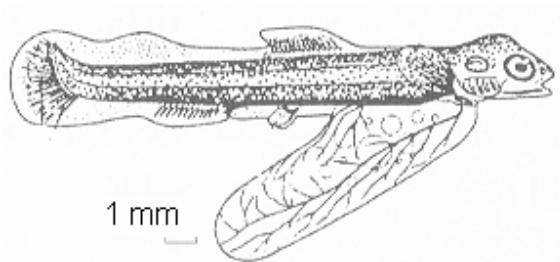
Ankstyvoji lašišinių žuvų ontogenezė susideda iš trijų pagrindinių laikotarpių: embrioninio, lervučių ir mailiaus. Kiekvienam vystymosi laikotarpiui būdinga savita ryšio su aplinka sistema, saviti tarpusavio ryšiai ir morfofiziologiniai ypatumai. Kiekvienas individo vystymosi laikotarpis skirstomas į smulkesnius etapus. Etapas- tai tokia žuvų vystymosi atkarpa, kai organizmas auga, jame vyksta kokybiniai ir kiekybiniai pokyčiai, tačiau nekinta esminių santykių su aplinka pobūdis. Perėjimas nuo vieno etapo į kitą vyksta šuoliškai. Vystymosi etapai skirstomi į stadijas (Baltijos lašiša Lietuvoje, 2000).

**Embrioninis.** Šiam laikotarpiui būdinga endogeninė mityba, naudojant maistingo trynio atsargas. Šis laikotarpis susideda iš šių etapų: apvaisinimo ir išbrinkimo, blastodisko skilimo, trynio apaugimo blastodermos ląstelėmis, galinės kūno dalies formavimosi ir t.t. Išsiritus embrionams prasideda pasyvios būsenos poembrioninis etapas. Tuo metu embrionai yra pasyvūs 10-12 parų, laikosi dugne, nereaguoja į šviesą ir vandens tėkmę. Tai pasyvios būsenos ir endogeninės mitybos etapas. Kraujyje yra susiformavę tik pirminiai eritrocitai, trynio maišelyje gausu kraujo kapiliarų, 1-2 dideli riebaliniai lašeliai. Vamzdelio formos virškinamasis traktas nėra pakankamai diferencijuotas, žiaunų aparatas nepilnai išsivystęs. Laisvų embrionų masė pasyvios būsenos pradžioje yra 70-100 mg, kūno ilgis 20-24 mm, trynio maišelis sudaro 50% visos kūno masės. Padidėja kvėpavimo intensyvumas ir medžiagų apykaitos produktų išskyrimas, kraujotakos sistemos sandara tampa sudėtingesnė. Ankstyvojo etapo eigoje (apie 10 parų) kinta laisvųjų embrionų išorė. Kūnas tamsėja, didėja pigmentinių ląstelių kiekis galvos srityje ir ant nugaros, pradeda kvėpuoti žiaunomis. Virškinamasis traktas

ilgėja, atsiskiria skrandis. Laisvieji embrionai grupuojasi, pakinta laikysena (nugara į viršų), išsirikiuoja vėduoklėmis, intensyvėja kūno pigmentacija. Bendra masė didėja, nors trynio maišelio dydis tik šiek tiek kinta. Aktyvios būsenos etapui būdinga endogeninė mityba. Intensyviai vystosi pelekai ir jų rastiniai elementai. Laisviesiems embrionams atsiranda šviesos baimė (neigiamas fototaksis), teigiama reakcija į srovę (reofilinė reakcija). Trynio likutis sudaro 50% visos buvusios trynio masės. Visi šie požymiai rodo, kad laisvieji embrionai pereina į lervos laikotarpį.

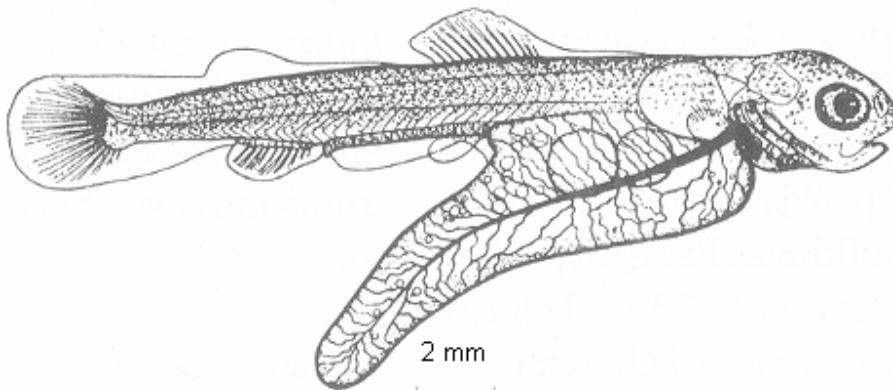


6 pav. Embrionai

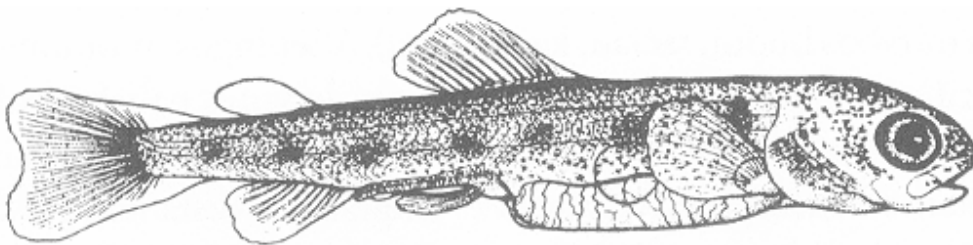


7 pav. Laisvas embrionas

**Lervos.** Baigiantis laisvųjų embrionų laikotarpiui, keičiasi jų išorė ir elgsena. Formuojasi lerva. Intensyviai vystosi pigmentinės ląstelės, kūno raumenys, lervos nebebūna skaidrios, jos įgyja spalvą. Pavieniai melanoforai atsiranda ant peleku, jų sankaupos ant nugaros ir kūno šonų formuoja tamsias dėmes, būdingas lašišinių žuvų jaunikliams. Pelekuose baigia formuotis atraminiai elementai, uodegos peleke susiformuoja iškirptė, baigia formuotis regos aparatas, išnyksta šviesos baimė, mažėja trynio maišelio apimtis (trynio likutis sudaro 1/3). Lervos plaukia iš visos masės, kyla į paviršių ir pripildo plaukiojamąją pūslę oro. Skrandis įgyja būdingą įlinkį. Kūno masė pasiekia 130-170 mg, ilgis 24-28 mm. Organizme vyksta svarbūs funkciniai pokyčiai, susiję su atskirų organų sistemų funkcinės veiklos pradžia: virškinamojo trakto, sekrecijos, šalinimo, kraujotakos ir kt. Normalus organizmo vystymasis šiuo laikotarpiu sąlygoja jo tolesnį gyvybingumą. Nors šis laikotarpis trumpas, bet per jį baigia vystytis pagrindiniai definityviniai organai ir formuotis mailius.



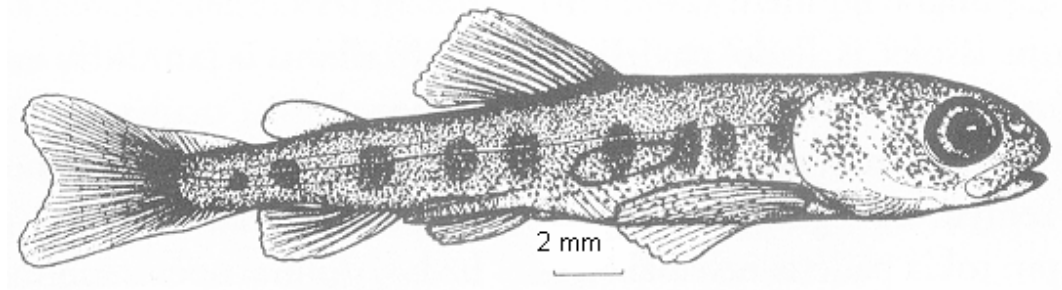
8 pav. Lerva (trynio likutis sudaro 2/3 jo kiekio).



9 pav. Lerva (trynys rezorbuotas).

**Mailius.** Pradėjus maitintis lervutėms, prasideda mailiaus, vėliau jauniklių augimo laikotarpis. Formuojasi žvynai, prasideda anatomicinė lyties diferenciacija. Visi šie procesai reikalauja daug energijos, kuri gaunama su maistu. Mailiaus kūno masė ir kvėpavimo intensyvumas sparčiai didėja. Mailiaus laikotarpio trukmė priklauso nuo vandens temperatūros režimo.

Įvairių stadijų, etapų ir laikotarpių trukmė yra skirtinga ir priklauso nuo vystymosi tempo bei morfofiziologinių pokyčių sudėtingumo. Kiekvienam naujam vystymosi etapui organizmas ruošiasi po truputį, kaupdamas naują kokybę. O tai sudaro galimybę organizmui pereiti į naują būseną, reikalaujančią naujų išorinės aplinkos sąlygų (Jandovskaja ir kt., 1976).



10 pav. Mailius.

### 4.3. Metodika

Tyrimai buvo atlikti su vaivorykštinio upėtakio (*Oncorhynchus mykiss*) ikrtais, surinktais ir apvaisintais Žeimenos žuvivaisos įmonėje. Ikratai atgabenti „akutės“stadijoje (24 parą nuo apvaisinimo pradžios). Šiuo laikotarpiu jie yra mažiausiai jautrūs transportavimui. Pervežant ikrus temperatūra neturi viršyti 5<sup>0</sup>C, jie laikomi izotermiškose konteineriuose ar dėžėse su ledu. Ikratai išdėliojami į plastmasinius lovelius, loveliai dedami į indus su vandeniu. Vanduo atnaujinamas kartą per parą. Prieš bandymą indai turi būti gerai išplauti ir išdezinfekuoti. Naudojamas artezinis vanduo parą prieš eksperimentą papildomai aeruodamas. Nustatomas vandens pH, kietumas ir kiti parametrai. Išdėliojus ikrus į lovelius, į kiekvieną iš jų įpilama tam tikras naftos kiekis, atitinkamai sudarė sekančios naftos koncentracijos: 0,11 g/l, 0,22 g/l, 0,43 g/l, 0,87 g/l, 1,73 g/l, 3,46 g/l, 6,93 g/l ir į kiekvieną iš jų įvesta 0,5 g/l ploviklio Simple Green. Ikrų inkubacija vykdoma šaldytuve visiškoje tamsoje esant pastoviai 9,5<sup>0</sup>-10<sup>0</sup> C temperatūrai, kuri yra optimali šiai žuvų rūšiai.

#### **Bandymai**

Kiekvienam tyrimui imama po 200 ikrų, tai yra po 100 ikrų dviejuose pakartojimuose. Lygiagrečiai tomis pačiomis sąlygomis, bei su tuos pačios stadijos ikratais statoma kontrolė.

Indai, kuriuose vykdomas testas, laikomi šaldytuve, tamsoje, kad iki minimumo sumažintų embrionų vystymosi eigų trikdymą tiriamuoju laikotarpiu.

Temperatūra turi būti nesikeičianti, pastovi 10 ± 0,2 <sup>0</sup>C

Kontrolei ir skiedimui naudojamas artezinis vanduo, kurio pH 7,2-7,8, kietumas 250-270mg/l CaCO<sub>3</sub>, ištirpusio deguonies kiekis nemažesnis kaip 7 mg/l.

.

#### **Ilgalaikiai (chroniški) bandymai**

Vykdomi siekiant nustatyti tiriamų medžiagų ilgalaikį poveikį organizmams. Stebimi ir registruojami rodikliai atspindintys svarbiausių organizmo gyvybinių sistemų veiklą: mirtingumą, kardiorespiracinės sistemos darbą, elgsenines reakcijas, vystymosi

parametrus. Šių bandymų metu yra nustatoma didžiausia neveikli koncentracija (DNK), t.y. eksperimento metu nustatyta didžiausia teršiančios medžiagos koncentracija, nesukelianti pastebimo neigiamo ir statistiškai patikimo poveikio organizmui (pagal jautriausius jo rodiklius). Taip pat nustatoma mažiausia veiklioji koncentracija (MVK), t.y. eksperimento metu nustatyta mažiausia teršiančios medžiagos koncentracija, dar sukianti statistiškai patikimą neigiamą poveikį organizmui (pagal jautriausius jo rodiklius). Didžiausia priimtina koncentracija (DPK) yra apskaičiuotas DNK ir MVK geometrinis vidurkis ( $DPK = \sqrt{DNK \times MVK}$ ), t.y. teršiančios medžiagos koncentracija vandenyje nesukelianti neigiamo poveikio jautriausiems organizmams (pagal jautriausius jų rodiklius). Remiantis mažiausia DPK jautriausiam gyvūnui priimama atskirų teršiančių medžiagų didžiausia leidžiama koncentracija (DLK) vandenyje (M.Z. Vosylienė ir kt., 2003).

Mirtingumas: po 96 val. ir 10 parų ekspozicijos kiekvienoje tiriamos medžiagos koncentracijoje ir kontrolėje skaičiuojamas žuvusių ikrų skaičius ir įvertinamas jų žuvimo procentas.

Širdies darbas: po 5-10 parų, binokuliario pagalba, stebimas ir registruojamas embriono širdies darbas, kuris vertinamas pagal širdies susitraukimų dažnį per 1 minutę (ŠD, kart./min.). Imama po 10 embrionų iš kiekvieno kontrolinio bandymo.

Lervos: 34-35 parą, nuo apvaisinimo pradžios prasideda lervų ritimasis, trunkantis 5-7 paras. Tai viena jautriausių stadijų ontogenezeje. Šios stadijos metu žūva daugiausiai embrionų, nes realizuojasi embriogenezės defektai.

Mirtingumas: lervoms nustatomas nuo jų ritimosi pradžios, po 96 h ekspozicijos, po 10 parų ekspozicijos, po 25 parų ekspozicijos ir bandymo pabaigoje (baigus virškinti trynio maišelį, po 35 parų).

Kardiorespiraciniai rodikliai: po 20 parų ekspozicijos, binokuliario pagalba, tirpaluose ir kontrolėje stebimas lervų kardiorespiracinės sistemos darbas: skaičiuojamas širdies susitraukimų (ŠD, kart./min.) ir žiauninių dangtelių, tai yra kvėpavimo judesių dažnis per 1 minutę (KD, kart./min.).

Vystymosi stadijų trukmė: lervų ritimasis bei trynio maišelio rezorbcijos laikas įvairiose tiriamos medžiagos koncentracijose yra nevienodas. Baigus virškinti trynio maišelį (85 paras nuo apvaisinimo) bandymas nutraukiamas. Bandymo trukmė 60 parų.

Vizualiai stereo mikroskopo (Meiji Techno RZ Series) pagalba stebimi embrionų ir lervų kraujotakos sutrikimai, elgsena (išsibarstymo procentas, reakcija į išorinius dirgiklius) bei fotografuoti „Nikon“ „Coolpix 995“ skaitmeniniu foto aparatu.

Tyrimų rezultatai statistiškai apdoroti skaičiuojant aritmetinius vidurkius, aritmetinio vidurkio paklaidas, patikimi skirtumai tarp matuojamų dydžių įvertinti naudojant Stjudento kriterijų. Diplominiame darbe duomenys apdoroti naudojantis šiomis kompiuterinėmis programomis:

Microsoft Office XP Professional with FrontPage (version 10.0.2627.0) programų paketu:

1. Tekstui surinkti Microsoft Word
2. Lentelėms ir grafikams braižyti Microsoft Excel
3. Paveikslams skanuoti Microsoft Office Document Scanning
4. Darbo pristatymui (prezentacijai) Microsoft PowerPoint

Kitos kompiuterinės programos:

5. Duomenims apdoroti STATISTICA GraphPAD InStat (JAV)
6. Informacijai internete ieškoti Internet Explorer
7. Paveikslams, schemoms apdoroti bei paruošti Corel Graphics Suite 11, Adobe Photoshop 8.0
8. Struktūrinių cheminių formulių pavaizdavimui ChemOffice 2004

## 5. Darbo rezultatai

Tyrimai buvo atlikti su vaivorykštinio upėtakio (*Oncorhynchus mykiss*) ikras (nuo „akutės“ stadijos) ir lervomis (nuo jų išsiritimo pradžios iki trynio maišelio rezorbcijos), veikiant juos 0,11, 0,22, 0,43, 0,87, 1,73, 3,46, 6,93 g/l naftos koncentracijomis į kiekvieną iš jų pridedant 0,5 g/l ploviklio Simple Green. Toksiškumo kriterijai buvo upėtakio ikrų ir lervų žuvimo procentas, ir tokie fiziologiniai rodikliai, kaip širdies (ŠD) bei kvėpavimo (KD) dažniai.

### 5.1. Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio mirtingumui ankstyvoje ontogenezėje

Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų mirtingumui buvo tirtas norint išsiaiškinti mirtingumo priklausomybę nuo naftos koncentracijos ir poveikio trukmės.

#### Embrionai:

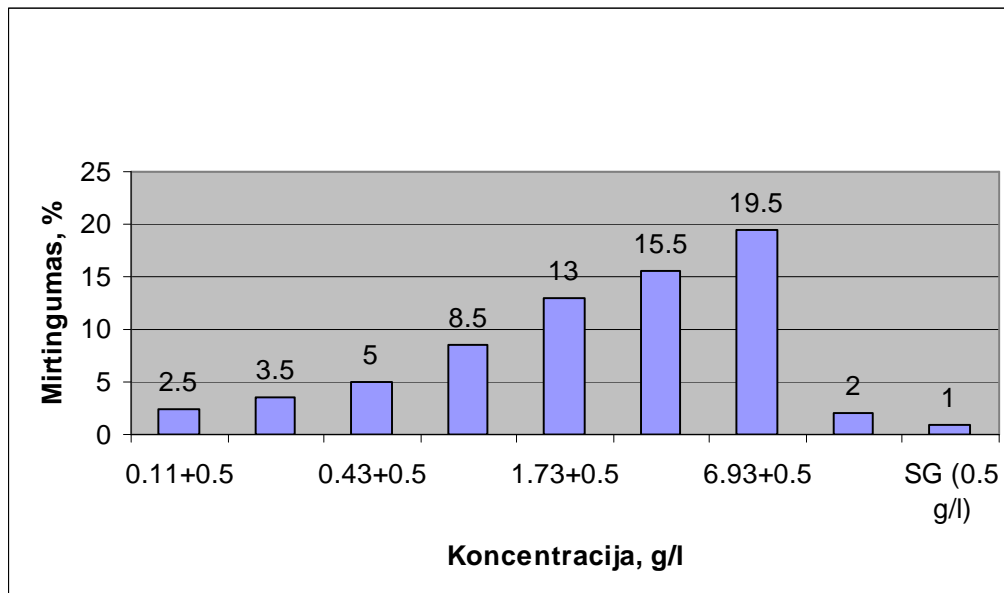
**1 lentelė.** Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumui (poveikis nuo akutės stadijos iki ritimosi pabaigos) (n = 200)

Koncentracija (N+SG), g/l	Embrionų mirtingumas, %		
	po 4 parų ekspozicijos	po 10 parų akspozicijos	ritimosi metu
0,11+ 0,5	0	0.5	2.5
0,22 + 0,5	0	1.0	3.5
0,43 + 0,5	0	3.0	5.0
0,87 + 0,5	0.5	1.0	8.5
1,73 + 0,5	0.5	1.5	13.0
3,46 + 0,5	0.5	1.0	15.5
6,93 + 0,5	2.5	2.5	19.5
<b>Kontrolė</b>	<b>0.25</b>	<b>0.25</b>	<b>2.0</b>
<b>SG (0,5 g/l)</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>1.0</b>

Iš 1 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad kontrolėje po 4 parų ekspozicijos žuvusių embrionų buvo tik 0.25%, po 10 parų mirtingumas išliko toks pat, o ritimosi



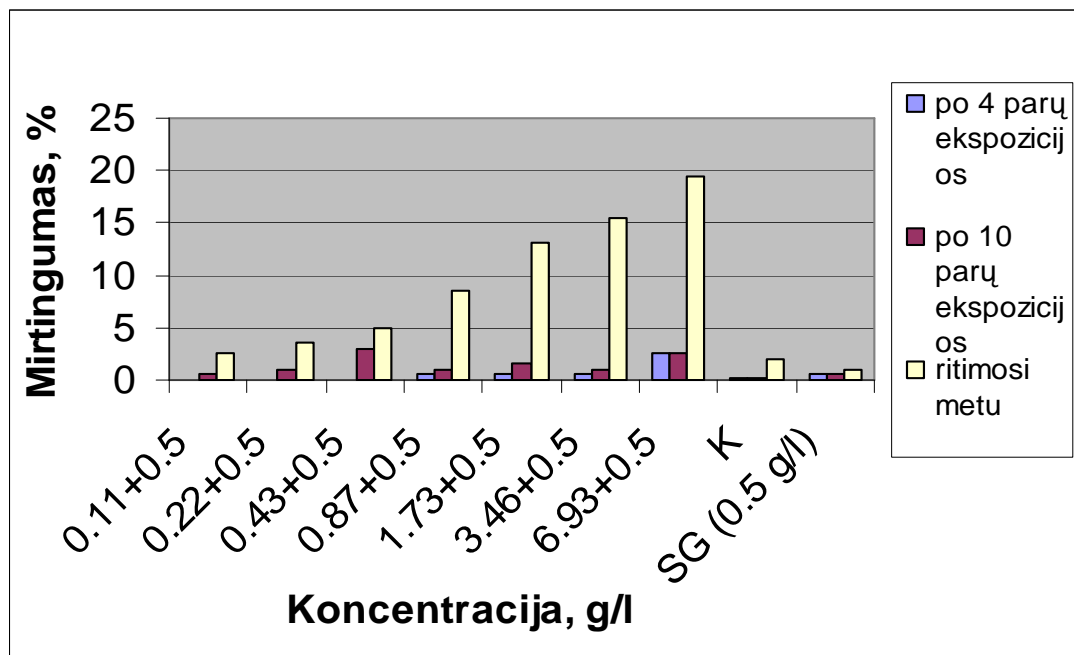
metu išaugo vos iki 2%. Veikiant ikrus vien tik plovikliu Simple Green (0,5 g/l), mirtingumas nesiskiria nuo kontrolinių bandinių. Veikiant upėtakio ikrus naftos ir ploviklio SG mišiniu, po 4 parų ekspozicijos 6,93 + 0,5 ir 3,46 + 0,5 g/l koncentracijose embrionų mirtingumas atitinkamai buvo 2,5 ir 0,5 %. Po 10 dienų ekspozicijos naftos ir ploviklio SG mišinys praktiškai neveikė embrionų mirtingumo, atitinkamai žuvinimas visose koncentracijose (0,11+0,5 – 6,93+0,5) buvo 1-3 %. Situacija žymiai pasikeičia ritimosi metu, embrionai tampa jautrūs didelių naftos ir ploviklio SG mišinio koncentracijų poveikiui. Esant 0,87+0,5 – 6,93+0,5 g/l naftos ir ploviklio SG mišinio koncentracijoms embrionų mirtingumas gerokai padidėja ir atitinkamai sudaro 8,5 – 19,5 %, tačiau tik esant 6,93+0,5 ir 3,46+0,5 g/l koncentracijoms jis yra reikšmingas (19,5 ir 15,5%) kadangi kontrolėje yra leistinas 15 % žuvinimas (11 pav.).



11 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumui ritimosi metu.

Atsižvelgiant į gautus mirtingumo duomenis buvo nustatytos DNK (didžiausia neveikli toksikanto koncentracija) ir MVK (mažiausia veikli toksikanto koncentracija), kurios atitinkamai buvo 0,22+0,5 ir 0,43+0,5 g/l. Pagal jas apskaičiuota ir didžiausia priimtina toksikanto koncentracija – DPK, kuri lygi 0,31+0,5 g/l mišinio koncentracijai. Ypatinų pakitimų šiuo laikotarpiu (iki ritimosi pradžios) nepastebėta, tačiau nafta vis

dėlto turėjo įtakos embrionų ritimosi procesui, ypač didesnėse koncentracijose (0,43+0,5 – 6,93+0,5 g/l). Išsiritusių lervučių skaičius priklausė nuo naftos koncentracijos mišinyje ir ekspozicijos trukmės. Didėjant koncentracijai ir ekspozicijos trukmei embrionų mirtingumas didėjo, tuo tarpu mažose naftos koncentracijose (0,11+0,5 - 0,22+0,5 g/l) situacija buvo panaši kaip kontroliniuose bandiniuose (pav 12).



12 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumui, priklausomai nuo mišinio koncentracijos ir poveikio trukmės.

**Lervos:**

Po ritimosi lervutės buvo veikiamos 35 paras ir didžiausias mirtingumas buvo stebimas visose naftos ir ploviklio koncentracijose esant didžiausiai ekspozicijos trukmei (35 paras) (2 lentelė).

**2 lentelė.** Naftos poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų mirtingumui (%) (poveikis nuo ritimosi pradžios iki trynio maišelio rezorbcijos), priklausomai nuo poveikio trukmės (n = 200).

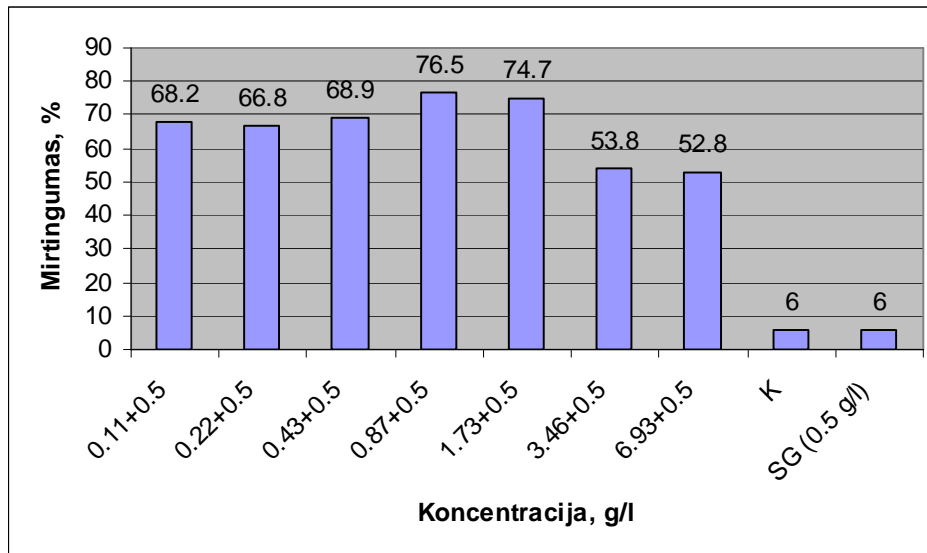
Koncentracija (N+SG), g/l	Lervų mirtingumas, %			
	po 4 parų ekspozicijos	po 10 parų ekspozicijos	po 25 parų ekspozicijos	po 35 parų ekspozicijos
0,11+ 0,5	0	2.1	64.1	68.2
0,22 + 0,5	0	2.1	51.8	66.8
0,43 + 0,5	0	1.6	60.0	68.9
0,87 + 0,5	1.1	4.9	58.0	76.5
1,73 + 0,5	0	10.9	70.7	74.7
3,46 + 0,5	3.6	27.2	50.9	53.8
6,93 + 0,5	5.6	8.7	52.8	52.8
<b>Kontrolė</b>	<b>0</b>	<b>0.3</b>	<b>4.0</b>	<b>6.0</b>
<b>SG 0,5 g/l</b>	<b>0.5</b>	<b>0.7</b>	<b>1.5</b>	<b>6.0</b>

Kaip matyti iš 2 lentelėje pateiktų duomenų, kontrolėje po 4 parų ekspozicijos upėtakio lervų mirtingumas buvo 0 %, po 10 parų ekspozicijos lervų mirtingumas siekė 0,3 % , po 25 parų ekspozicijos – 4,0 % , o po 35 parų ekspozicijos – 6,0 %.

Veikiant lervas vien tik plovikliu Simple Green (0,5 g/l), mirtingumas nesiskiria nuo kontrolinių bandinių (2 lentelė).

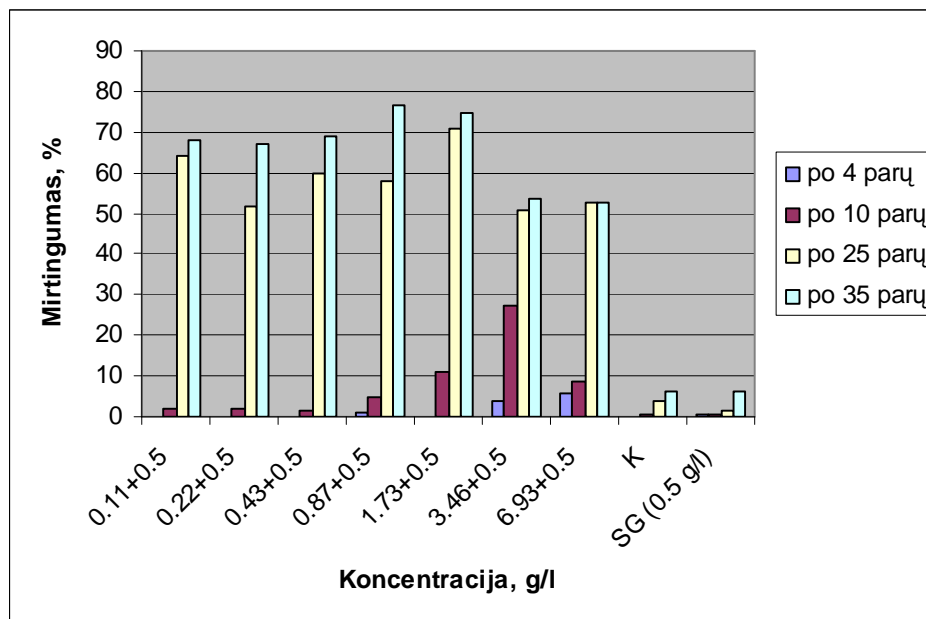
Veikiant upėtakio lervas naftos ir ploviklio SG mišiniu, po 4 parų ekspozicijos esant 3,46+0,5 – 6,93+0,5 g/l naftos koncentracijoms mišinyje lervų mirtingumas šiek tiek padidėja lyginant su kontrole ir atitinkamai sudaro 3,6 – 5,6 %, tačiau yra kontrolės ribose (kontrolėje yra leistinas 15 % žuvinimas). Situacija keičiasi didėjant poveikio trukmei. Po 10 parų ekspozicijos esant 0,87+0,5 g/l ir didesnei naftos koncentracijai mišinyje lervų mirtingumas padidėja iki 4,9 – 27,2 % ir toliau auga: po 25 parų

ekspozicijos lervų mirtingumas visose naftos ir ploviklio mišinio koncentracijose išauga iki 50,9 – 70,7 %, o po 35 parų jau siekia 52,8 – 76,5 % (13 pav.)



13 pav. Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras poveikis upėtakio lervų mirtingumui po 35 parų ekspozicijos.

Gauti rezultatai rodo, kad išsiritusios upėtakio lervos yra žymiai jautresnės naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendram poveikiui, lyginant su embrionais. Lervų mirtingumas labai priklauso nuo naftos ir ploviklio koncentracijų santykio mišinyje bei ekspozicijos trukmės. Didėjant ekspozicijos trukmei upėtakio lervų mirtingumas didėja (14 pav.). Taip pat mirtingumas didėja, mažėjant N/SG santykiui. Prie didelių naftos koncentracijų mišinyje (3,46+0,5 – 6,93+0,5 g/l) N/SG santykis yra didelis, ir todėl mirtingumas yra mažesnis. Tuo tarpu prie 0,11+0,5 – 1,73+0,5 g/l, N/SG santykis yra mažas, todėl lervų mirtingumas didėja (13 pav.).



14 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų mirtingumui, priklausomai nuo koncentracijos ir poveikio trukmės.

**5.2. Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio kardiorespiracinei sistemai (širdies ir kvėpavimo dažniui) ankstyvoje ontogenezeje**

**Embrionai:**

**3 lentelė.** Naftos ir naftos ploviklio Simple Green poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų širdies dažniui (krt/min) (poveikis nuo „akutės“ stadijos iki ritimosi pradžios) (n = 10).

Koncentracija (N+SG), g/l	Embrionų širdies dažnis (ŠD), krt/min.	
	po 5 parų ekspozicijos	po 10 parų ekspozicijos
0,11 + 0,5	84.57± 2.22	72.57± 1.04
0,22 + 0,5	89.14± 2.09	73.14± 1.14
0,43 + 0,5	89.14± 1.14	74.86± 1.44
0,87 + 0,5	80.57± 1.36 *	62.57± 1.04 *
1,73 + 0,5	79.43± 2.38 *	63.71± 0.81 *
3,46 + 0,5	79.43± 1.36 *	64.86± 1.44 *
6,93 + 0,5	82.29± 1.48 *	62.00± 1.51 *
<b>Kontrolė</b>	<b>87.43± 1.36</b>	<b>73.71± 1.48</b>
<b>SG 0,5 g/l</b>	<b>78.86±1.68 *</b>	<b>73.71± 1.19</b>

\* patikimai skiriasi nuo kontrolės (P ≤ 0.05).

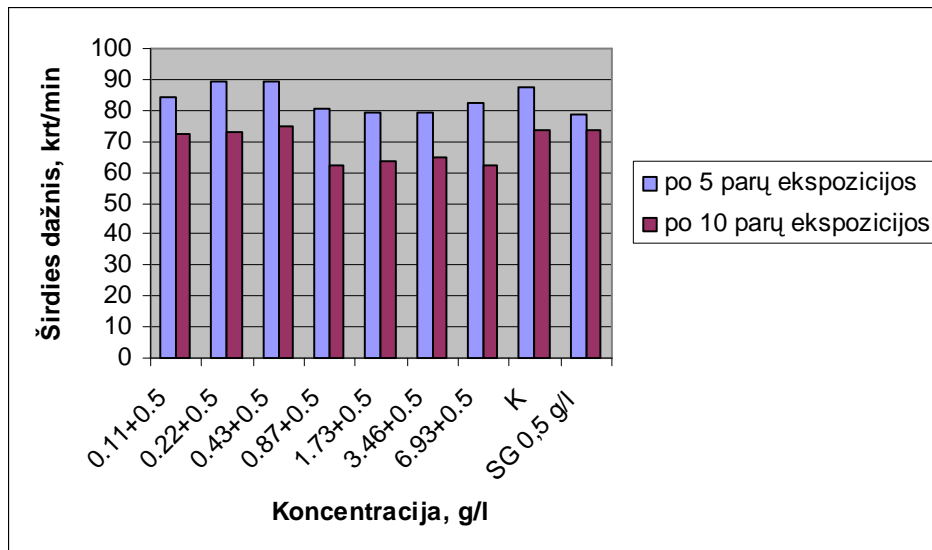
Kaip matyti iš 3 lentelėje pateiktų duomenų, kontrolėje po 5 parų ekspozicijos upėtakio embrionų širdies dažnis (ŠD) buvo 87,43 ± 1,36 krt/min., po 10 parų ekspozicijos šis dažnis buvo 73,71 ± 1,48 krt/min.

Veikiant ikrus vien tik plovikliu Simple Green (0,5 g/l), po 5 parų ekspozicijos upėtakio embrionų širdies dažnis (ŠD), lyginant su kontrole, patikimai sumažėjo (78,86±1,68 krt/min.), tačiau po 10 parų ekspozicijos jau nebesiskyrė nuo kontrolinių bandinių ir buvo 73,71± 1,19 krt/min (3 lentelė).

Mažose naftos ir ploviklio SG mišinio koncentracijose (0,11 + 0,5 g/l – 0,43 + 0,5 g/l) visą ekspozicijos laiką iki ritimosi periodo embrionų ŠD beveik nesiskyrė arba tik nežymiai skyrėsi nuo kontrolės. Upėtakio embrionų ŠD sulėtėjimą lėmė 0,87 + 0,5 g/l ir

didesnės naftos ir ploviklio mišinio koncentracijos. Po 5 parų ekspozicijos veikiant embrionus  $0,87 + 0,5$  g/l naftos ir ploviklio mišinio koncentracija, upėtakio embrionų širdies susitraukimų dažnis patikimai sumažėjo iki  $80,57 \pm 1,36$  krt/min. Po 10 parų ekspozicijos šis rodiklis dar sumažėjo iki  $62,57 \pm 1,04$  krt/min. Remiantis naftos ir ploviklio SG mišinio poveikiu upėtakio embrionų širdies dažniui, nustatyta DPK buvo  $0,61 + 0,5$  g/l (DNK –  $0,43 + 0,5$  g/l, MVK –  $0,87 + 0,5$  g/l).

Išanalizavus duomenis, galima teigti, kad upėtakio embrionų širdies darbo sulėtėjimas priklauso nuo didėjančios naftos ir ploviklio mišinio koncentracijos ir ilgėjančios poveikio trukmės (15 pav.).



15 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų širdies dažniui (po 5 ir 10 parų ekspozicijos).

Gauti rezultatai rodo, kad naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų širdies susitraukimų dažniui priklauso nuo mišinio koncentracijos ir veikimo trukmės (didėjant koncentracijai bei ekspozicijos laikui, širdies dažnis lėtėja).

## Lervos:

**4 lentelė.** Naftos ir naftos ploviklio Simple Green poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų širdies darbui (poveikis nuo ritimosi pradžios iki trynio maišelio rezorbcijos) priklausomai nuo poveikio trukmės (n = 10).

Koncentracija (N+SG), g/l	Lervų širdies dažnis (ŠD), krt/min.		
	vienadienės lervos	po 10 parų ekspozicijos	po 20 parų ekspozicijos
0,11+ 0,5	73.14±0.74	76.29±6.46	79.71±2.88
0,22 + 0,5	72.00±1.23	64.00±2.31 *	62.86±0.74 *
0,43 + 0,5	64.29±1.48 *	68.00±2.47 *	69.71±1.71 *
0,87 + 0,5	62.57±1.04 *	65.74±5.64 *	60.00±5.09 *
1,73 + 0,5	64.29±0.81 *	66.29±2.6 *	67.43±2.68 *
3,46 + 0,5	63.14±1.14 *	64.57±4.4 *	50.86±3.23 *
6,93 + 0,5	62.00±1.51 *	43.43±2.38 *	46.86±2.26 *
<b>Kontrolė</b>	<b>73.71±1.48</b>	<b>76.00±2.31</b>	<b>82.86±2.26</b>
<b>SG 0,5 g/l</b>	<b>76.00±1.23</b>	<b>72.00±2.76</b>	<b>74.29±2.74</b>

\* patikimai skiriasi nuo kontrolės (P ≤0.05)

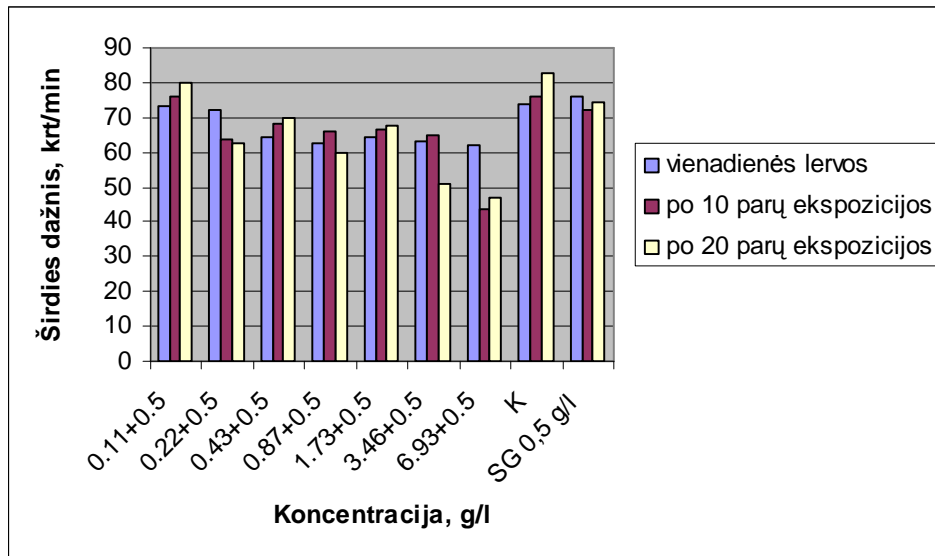
Kontrolėje lervų širdies susitraukimų dažnis svyravo 73.71±1.48 - 82.86±2.26 krt/min ribose.

Veikiant vaivorykštinio upėtakio lervas vien tik plovikliu Simple Green (0,5 g/l), viso bandymo metu širdies dažnis (ŠD), išliko labai artimas kontroliniams bandiniams.

Vienadienių lervų ŠD esant mažoms naftos koncentracijoms mišinyje (0,11+ 0,5–0,22 + 0,5 g/l) nesiskyrė nuo kontrolės, tačiau 0,43 + 0,5g/l ir didesnės naftos ir SG mišinio koncentracijos ženkliai sulėtino upėtakio lervų širdies darbą iki 64.29±1.48 krt/min. Po 10 parų ekspozicijos lervų širdies susitraukimų dažnis 0,22 + 0,5 g/l ir didesnėse mišinio koncentracijose dar labiau sumažėjo lyginant su kontrole ir sudarė 64±2.31 krt/min, o po 20 parų ekspozicijos šis dažnis tose pačiose koncentracijose jau siekė vos 62,86±0,74 krt/min. Pagal upėtakio lervų širdies darbą apskaičiuota DPK buvo 1,16+0,5 g/l (DNK – 0,11+0,5 g/l, MVK – 0,22+0,5 g/l).



Gauti rezultatai rodo, kad naftos ir ploviklio SG bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų širdies susitraukimų dažniui priklauso nuo koncentracijos ir poveikio trukmės (16 pav.).



16 pav. Vaivorykštinio upėtakio lervų širdies dažnio priklausomybė nuo naftos ir ploviklio Simple Green koncentracijos ir poveikio trukmės.

**5 lentelė.** Naftos ir ploviklio Simple Green poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažniui (poveikis nuo ritimosi pradžios iki trynio maišelio rezorbcijos) priklausomai nuo poveikio trukmės (n = 10)

Koncentracija (N+SG), g/l	Lervų kvėpavimo dažnis (KD), krt/min.		
	vienadienės lervos	po 10 parų ekspozicijos	po 20 parų ekspozicijos
0,11+ 0,5	94.86±1.68	92.00±1.95	92.00±1.95
0,22 + 0,5	85.14±2.09 *	92.57±2.53	92.00±2.83
0,43 + 0,5	89.14±1.14 *	83.71±6.18 *	82.57±1.84 *
0,87 + 0,5	82.57±1.36 *	82.5±1.36 *	86.57±2.21 *
1,73 + 0,5	88.57±2.03 *	89.00±2.6 *	82.57±2.21 *
3,46 + 0,5	85.71±0.81 *	82.0±1.51 *	85.14±6.34 *
6,93 + 0,5	89.14±1.14 *	78.86±1.9 *	77.14±2.72 *
<b>kontrolė</b>	<b>97.71±1.48</b>	<b>93.71±1.92</b>	<b>94.29±2.11</b>
<b>SG 0,5 g/l</b>	<b>96.57±1.04</b>	<b>86.86±3.11</b>	<b>93.71±1.19</b>

\* patikimai skiriasi nuo kontrolės ( $P \leq 0.05$ ).

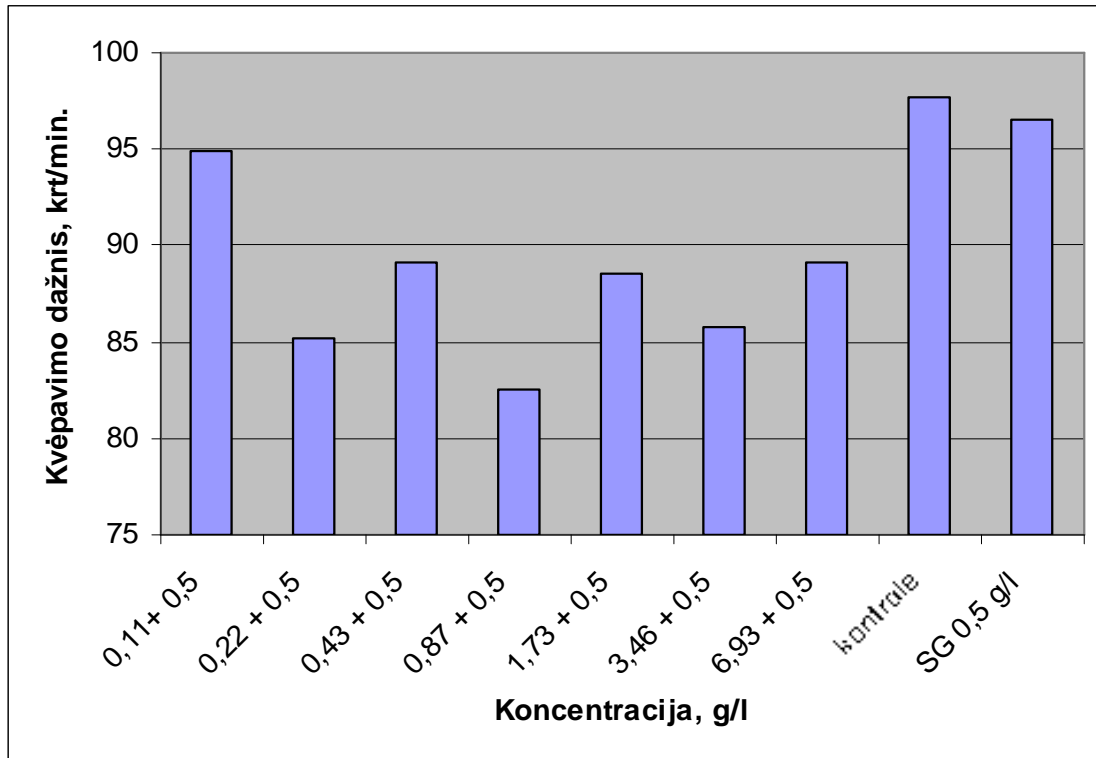
Kaip matyti iš 5 lentelėje pateiktų duomenų, lervų KD kontrolėje svyravo  $93.71 \pm 1.92$  –  $97.71 \pm 1.48$  ribose. Veikiant vaivorykštinio upėtakio lervas vien tik plovikliu Simple Green (0,5 g/l), viso bandymo metu kvėpavimo dažnis (KD), taip pat išliko kontrolės ribose.

Vienadienių upėtakio lervų KD esant  $0,11 + 0,5$  g/l mišinio koncentracijai nesiskyrė nuo kontrolės, tačiau veikiant jas  $0,22 + 0,5$  –  $6,93 + 0,5$  g/l naftos ir ploviklio mišinio koncentracijomis situacija keičiasi: esant  $0,22 + 0,5$  g/l koncentracijai vienadienių lervų KD lyginant su kontrole patikimai sumažėjo ir sudarė  $85.14 \pm 2.09$  krt/min, o prie  $6,93 + 0,5$  g/l koncentracijos buvo  $89,14 \pm 1,14$  krt/min. Po 10 parų ekspozicijos lervų KD dar sumažėjo ir prie  $0,43 + 0,5$  g/l mišinio koncentracijos buvo tik  $83,71 \pm 6,18$  krt/min. Tarp po 20 parų ekspozicijos lervų kvėpavimo dažnis išlieka beveik toks pat, kaip ir po 10 parų ekspozicijos ( $82,57 \pm 1,84$  krt/min).

Pagal naftos ir ploviklio Simple Green mišinio poveikį upėtakio lervų kvėpavimo dažniui, apskaičiuota DPK vienadienėms lervoms buvo  $0,16 + 0,5$  g/l (DNK –  $0,11$  g/l, MVK –  $0,22 + 0,5$  g/l). Lervoms po 10 ir 20 parų ekspozicijos DPK sudaro  $0,31 + 0,5$  g/l.

Gauti rezultatai rodo, kad upėtakio lervų kvėpavimo dažnis (KD) priklauso nuo naftos ir ploviklio SG mišinio koncentracijos bei dalinai nuo ekspozicijos trukmės.  $0,43 + 0,5$  g/l ir didesnė koncentracija ženkliai sumažino kvėpavimo dažnį lervoms po 10 parų ekspozicijos, o po 20 parų ekspozicijos KD buvo tose pačiose ribose kaip ir po 10 parų

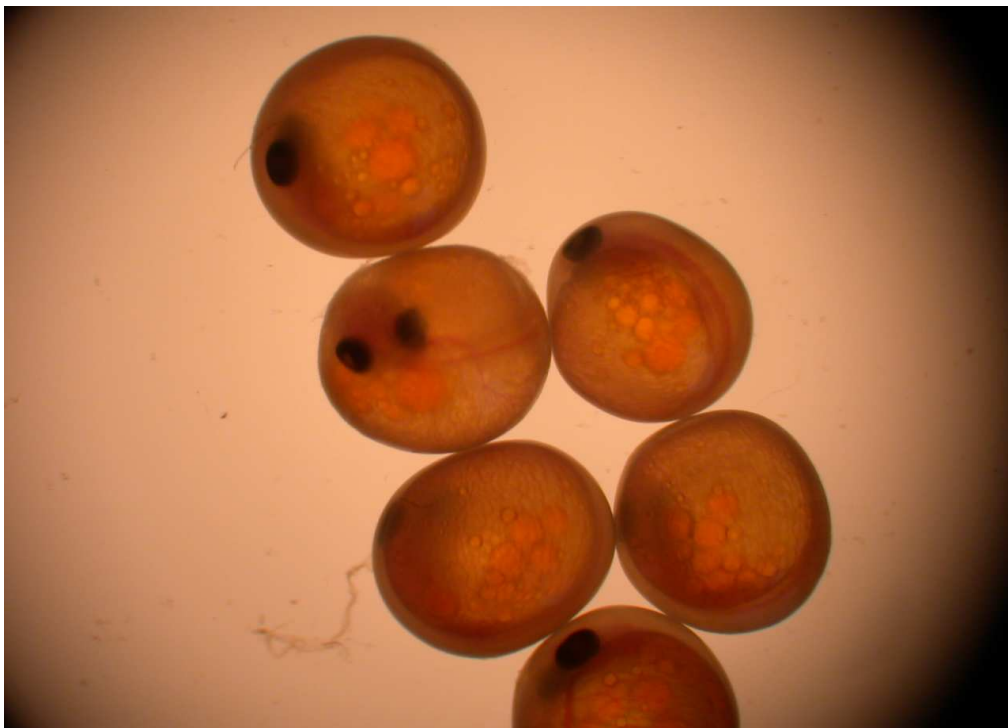
poveikio. Lervų KD pokyčiai esant didesnėms naftos ir ploviklio SG mišinio koncentracijoms pateikti 17 pav.



17 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažniui (vienadienės lervos).

### 5.3. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio vystymuisi, ritimosi procesui, kraujotakos sistemai bei elgsenai ankstyvoje ontogenezėje

Stebint vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų vystymąsi, veikiant juos naftos ir ploviklio Simple Green mišiniu, nustatyta, kad naftos ir SG mišinys neigiamai veikia daugelį ankstyvosios ontogenezės procesų. Apie 30% embrionų ir apie 50 % lervučių turėjo vienokius ar kitokius vystymosi, ritimosi proceso sutrikimus, lervų išsigimimus, kraujotakos sistemos bei elgsenos pakitimus. 0,43 + 0,5 – 6,93 g/l naftos ir SG mišinio koncentracijų diapazone lervos buvo silpnai išsivysčiusios, mažai pigmentuotos (neišryškėjo pigmentiniai raštai, silpnai arba visai nereagavo į išorinius dirgiklius, laikėsi pavieniui, t.y. išsibarsčiusios ir nesudarė lizdų). Stebimas mažesnis embrionų aktyvumas, nemažai daliai (58 %) embrionų užsitęsė ritimasis arba jie visai neišsirito. Taip pat buvo pastebėti kai kurie morfologiniai pakitimai, tokie kaip mažas, neišsivystęs, neskaidrus trynys, pažeistas pavandeniavęs trynio maišelis, kraujo išsiliejimai įvairiose kūno vietose. Tokie ikrai žūdavo dar ritimuisi nepasibaigus arba tuoj pat po jo. Taip pat daliai embrionų ritimasis buvo sustojęs, plyšus dangalui ties galva. Tuo tarpu 0,11 + 0,5 – 0,22 + 0,5 g/l mišinio koncentracijų diapazone lervos buvo stiprios, ryškiais pigmentiniais raštais, jautriai reagavo į išorinius dirgiklius, išsigimusių lervų nebuvo aptikta. Sutrikimų pavyzdžiai pateikti žemiau esančiose nuotraukose.



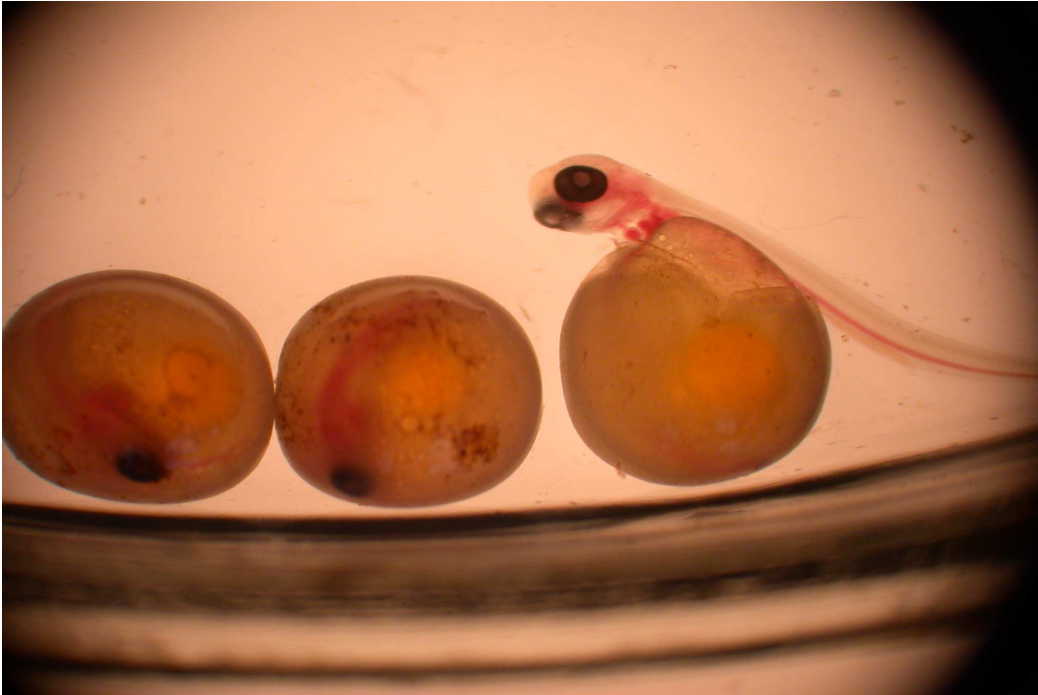
18 pav. Ikrai „akutės“ stadijoje, kontrolėje.



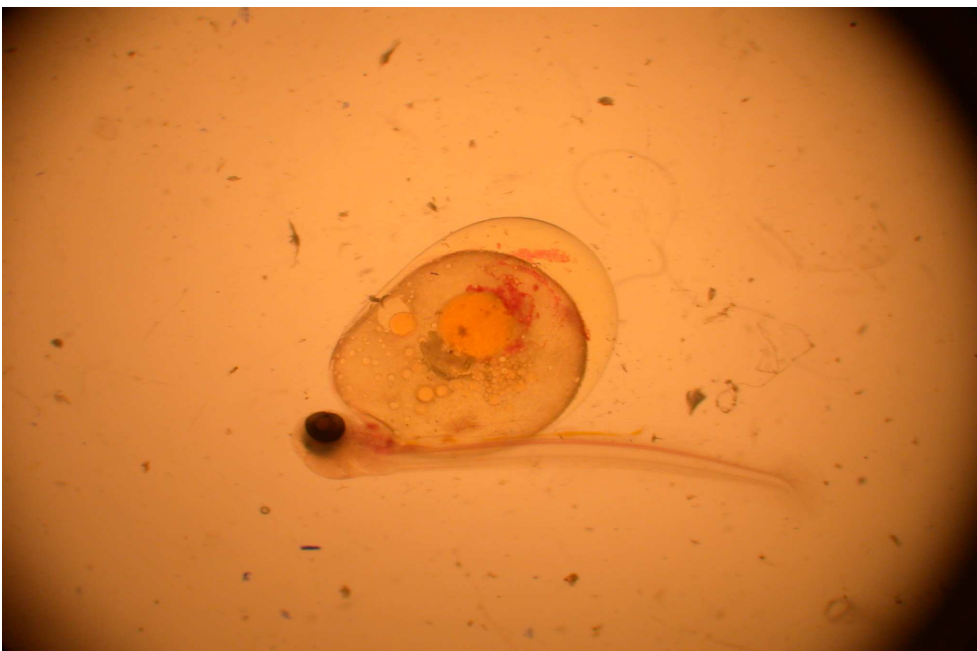
19 pav. Ikrai „akutės“ stadijoje ir laisvasis embrionas kontrolėje.



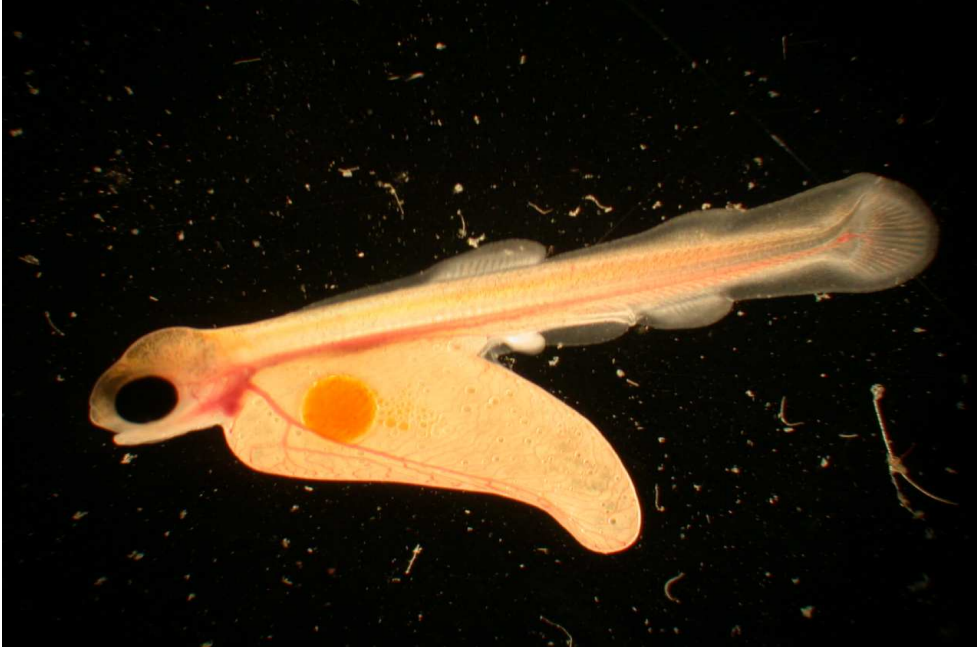
20 pav. Didelių mišinio koncentracijų ( $6,93 \pm 0,5$  –  $3,46 \pm 0,5$  g/l) poveikyje sutrikusi vienadienių lervų kraujotaka (viršuje – kontrolėje, apačioje – mišinio poveikyje).



21 pav. Embrionai ir normaliai besirinti lerva kontrolėje.



22 pav. Vienadienė lervutės pažeistas trynys, kraujo išsiliejimas trynio maišelyje esant  $6,93 \pm 0,5$  –  $3,46 \pm 0,5$  g/l. naftos ir ploviklio Simple Green mišinio koncentracijoms.



23 pav. Lervutės trynio maišelio kraujotaka kontrolėje .



24 pav. Ritimosi proceso sutrikimai esant  $6,93 \pm 0,5 - 3,46 \pm 0,5$  g/l naftos ir ploviklio Simple Green mišinio koncentracijoms. Ritimasis galva (sustojęs embriono ritimasis, plyšus dangalui ties galva).

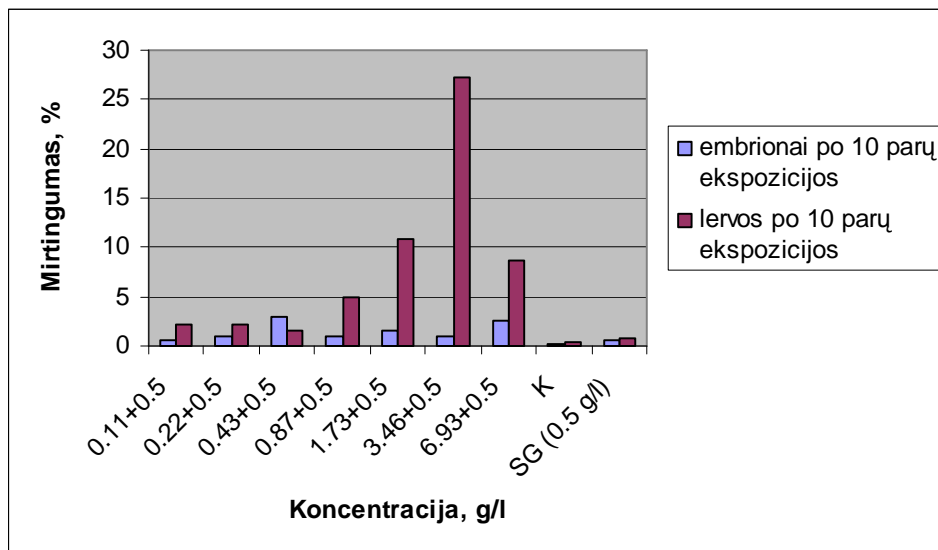
#### **5.4. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro ilgalaikio poveikio vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų fiziologiniams rodikliams ypatumai.**

Nafta pasižymi specifiniu poveikiu vandens organizmams. Ji gali veikti organizmus fiziniu būdu, blogindama gyvenimo sąlygas ir per toksinį poveikį. Chemikalų naudojimas naftos išsiliejimų likvidavimui gali pakeisti įprastines naftos angliavandenilių savybes t.y. didinti jų tirpumą vandenyje, tai savo ruožtu sukelia jų bioprieinamumo didėjimą ir pakeičia chemikalo, naftos ir organizmo biologinių membranų sąveikas (Singer ir kt., 1998). Toksiniai efektai labai priklauso nuo poveikio trukmės, naftos ir naftos detergento santykio bei koncentracijos, individų vystymosi stadijų ir t.t.

Stebint vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų jautrumą naftos ir ploviklio Simple Green poveikiui, nustatyta, kad jautrumas priklauso nuo mišiniu veikiamos

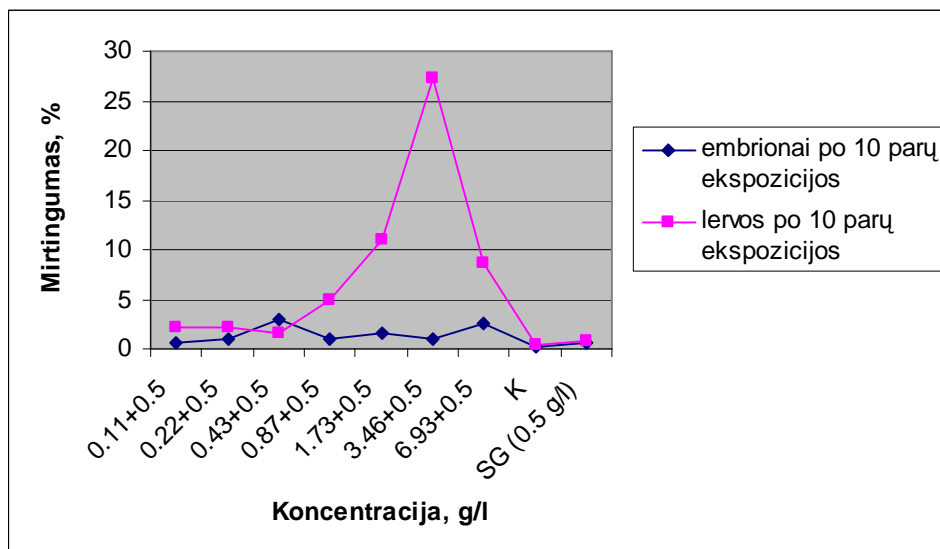


vystymosi stadijos. Naftos ir ploviklio poveikis embrionų mirtingumui yra labai nežymus, tačiau ženkliai mažina lervų gyvybingumą. Pavyzdžiui, palyginus embrionų ir lervų jautrumą naftos ir ploviklio mišiniui, veikiant jas tą patį 10 parų ekspozicijos laiką, akivaizdu, kad lervų mirtingumas yra žymiai didesnis nei embrionų (25 pav.). Ypač jų jautrumas padidėja ritimosi metu, kadangi tuo metu embrionai išsilaisvina nuo dangalo, saugančio juos nuo aplinkos poveikio.



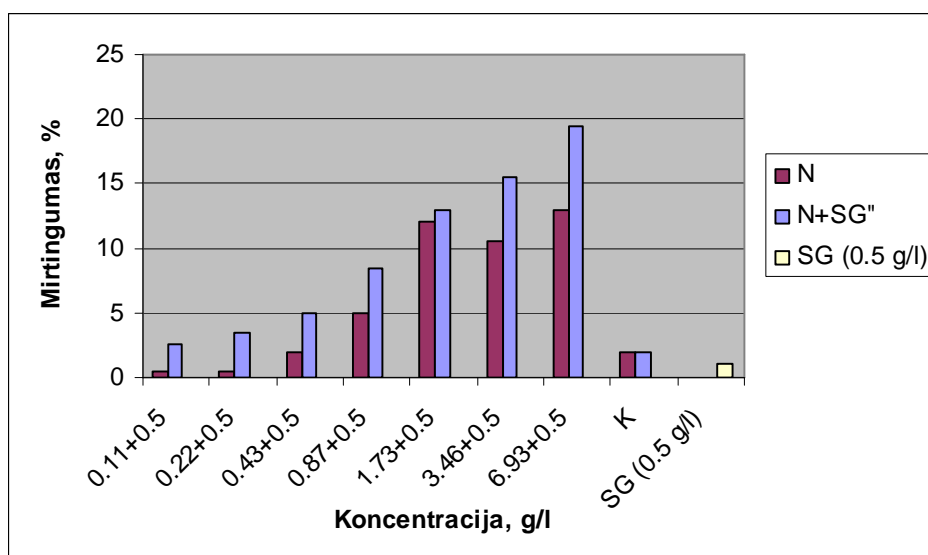
25 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų mirtingumui po 10 parų ekspozicijos.

Nustatyta, kad lervos jautresnės mišiniui nei embrionai, o jų jautrumas priklauso nuo mišinio koncentracijos. Palyginus mišinio poveikį embrionų ir lervų mirtingumui po 10 parų ekspozicijos, matyti, kad embrionų mirtingumas visose koncentracijose yra panašus kaip ir kontroliniuose bandiniuose. Tuo tarpu lervų mirtingumas, ypač didesnėse koncentracijose (0,87 + 0,5 – 6,93 + 0,5 g/l), ženkliai išauga (26 pav.).



26 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendras poveikis vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų mirtingumui po 10 parų ekspozicijos, priklausomai nuo naftos koncentracijos mišinyje.

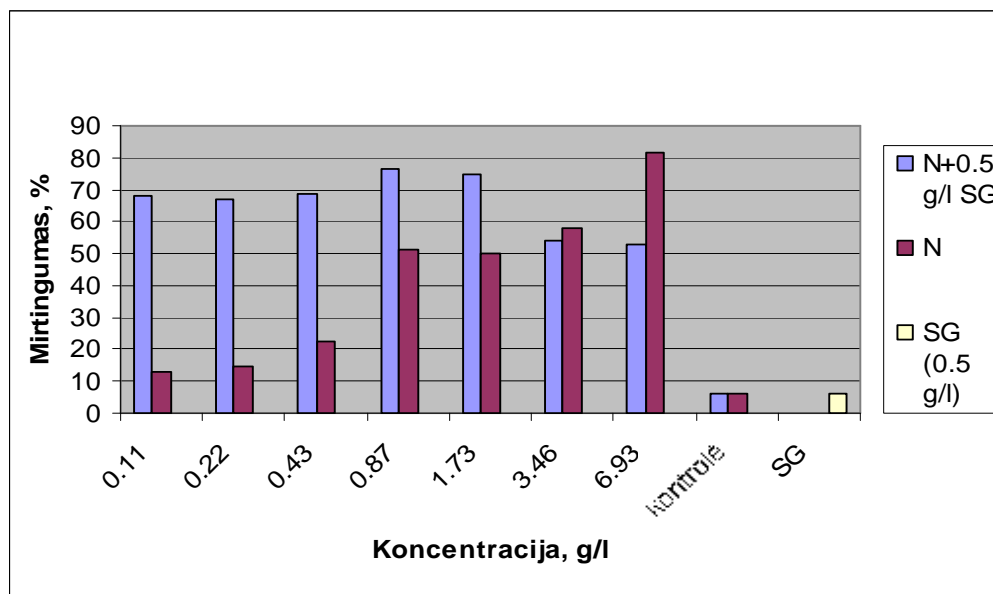
Palyginus šių tyrimų duomenis, su rezultatais gautais, tiriant toksišią naftos poveikį vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvoje ontogenezėje, matyti, kad ploviklio Simple Green naudojimas sustiprina neigiamą naftos poveikį. Tai ypač akivaizdu, palyginus embrionų mirtingumą ritimosi metu (27 pav.).



27 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro poveikio palyginimas su naftos poveikiu atskirai, vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumui ritimosi metu.

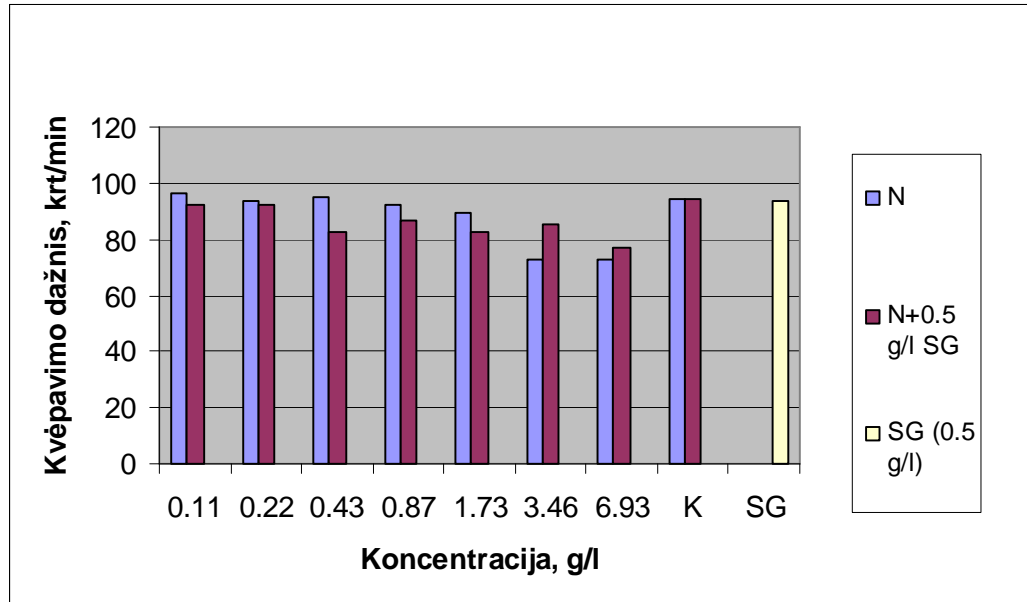
Naftos ir ploviklio SG mišinio poveikyje embrionų mirtingumas ritimosi metu gerokai didesnis, negu mirtingumas naftos poveikyje, jis didėja didėjant naftos koncentracijai.

Kiek kitokia situacija yra tiriant mišinio poveikį lervoms. Tiek jų mirtingumas, tiek ir širdies bei kvėpavimo dažniai, lyginant mišinio (nafta + SG) poveikį su naftos poveikiu atskirai, priklauso nuo naftos ir ploviklio SG koncentracijos santykio mišinyje (N/SG). Kuo šis santykis mažesnis, tuo naftos ir ploviklio Simple Green mišinio daromas žalingas poveikis didesnis, lyginant su rezultatais gautais vien tik su nafta. Iš žemiau pateikto grafiko matome, kad prie didelių naftos ir ploviklio Simple Green santykių (0,11/0,5 – 1,73/0,5 g/l) lervų mirtingumas yra patikimai didesnis, negu tose pačiose naftos koncentracijose atskirai. Tuo tarpu prie mažų santykių (3,46/0,5 – 6,93/0,5 g/l) mirtingumas didesnis, nei vien tik naftoje (28 pav.).



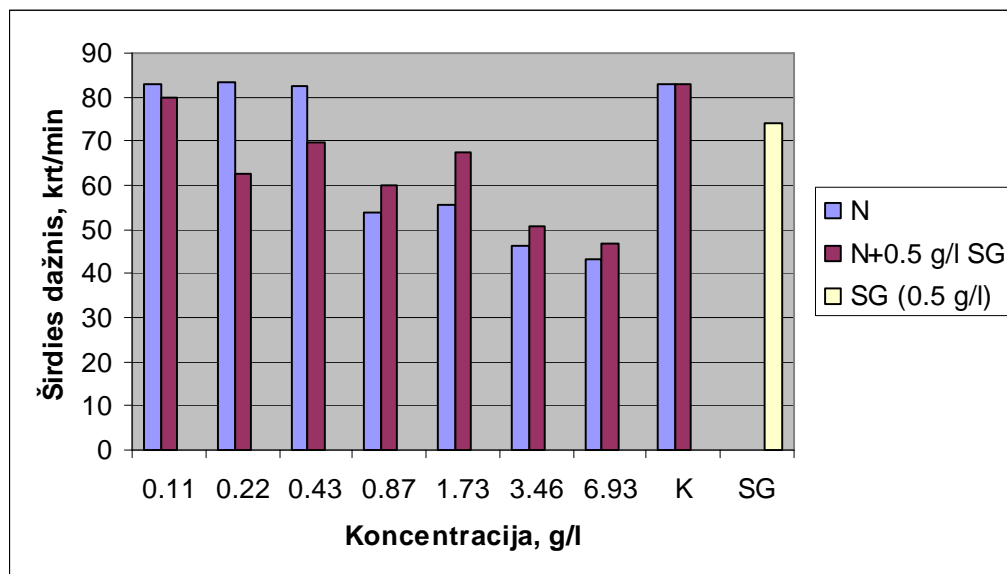
28 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro poveikio palyginimas su naftos poveikiu atskirai, vaivorykštinio upėtakio lervų mirtingumui po 35 parų ekspozicijos.

Bedras naftos ir ploviklio SG poveikis lervų kvėpavimui beveik nesiskyrė nuo rezultatų, gautų tiriant vien tik naftos poveikį. Gauti skirtumai yra statistiškai nepatikimi. (29 pav.).



29 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro poveikio palyginimas su naftos poveikiu atskirai, vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažniui po 20 parų ekspozicijos.

Naftos ir ploviklio SG bedras poveikis lervų širdies dažniui tik prie mažų N/SG santykių (0,11/0,5 – 0,43/0,5 g/l) patikimai skyrėsi (sulėtėjo) nuo rezultatų, gautų atliekant tyrimus vien tik su nafta atskirai. Mišinio poveikyje lervų kvėpavimas taip pat sulėtėjo, lyginant su naftos poveikiu atskirai (29, 30 pav.).



30 pav. Naftos ir ploviklio Simple Green bendro poveikio palyginimas su naftos poveikiu atskirai, vaivorykštinio upėtakio lervų širdies dažniui po 20 parų ekspozicijos.

## 6. Darbo rezultatų aptarimas

Šiame darbe naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras toksinis poveikis vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvose jo vystymosi stadijose įvertintas pagal embrionų ir lervų mirtingumą, fiziologinių rodiklių (širdies susitraukimų ir kvėpavimo dažniai) pokyčius, priklausomai nuo koncentracijos ir poveikio trukmės.

Apibendrinus gautus rezultatus, matome, jog tirtos naftos ir ploviklio Simple Green koncentracijos beveik neturėjo įtakos embrionų mirtingumui, tačiau ženkliai jį padidino ritimosi metu, ypač didesnėse koncentracijose (0,43+0,5 – 6,93+0,5 g/l) (1 lent. 11, 12 pav.). Didėjant mišinio koncentracijai besiritančių vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumas didėja. Lervų mirtingumas lyginant su embrionais, dar labiau išaugo ir priklausė ne tik nuo mišinio koncentracijos, bet ir nuo poveikio trukmės (2 lent. 13 pav.). Tiek embrionų, tiek lervų mirtingumui turėjo įtakos naftos ir ploviklio SG mišiniu veikiama vystymosi stadija. Nustatyta, kad jautriausios naftos ir ploviklio SG mišinio poveikiui pasirodė lervutės ritimosi metu, mažiau jautrūs pasirodė embrionai ankstyvoje „akutės“ stadijoje. Atsparumas naftos ir SG bendram poveikiui ypač sumažėjo ritimosi metu, dalinai ir pilnai išsiritę lervos buvo ypač jautrios mišinio poveikiui lyginant su ikrais. Tai susiję su ikrų embrioninėmis membranomis, kurios tarnauja kaip apsauginis barjeras tarp embriono ir aplinkos (Mizell, 1996). Tačiau šis barjeras yra pralaidus kai kurioms toksinėms medžiagoms. Tai nulemia selektyvus ikrų apvalkalo pralaidumas, ko pasekoje ikrai būna labiau atsparūs toksikantams nei išsiritusios lervos, kurioms toksinės medžiagos pažeidžia žiaunas ir pro jas patenka į organizmą (Acta Zoologica Lituanica, 1999).

Mūsų atliktų tyrimų rezultatai rodo, kad embrionų ir lervų išgyvenamumui turi įtakos poveikio trukmė ir naftos/Simple Green koncentracijų santykis (13, 14 pav.). Palyginus gautus rezultatus su rezultatais gautais, tiriant vien tik naftos poveikį vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvoje ontogenezėje, matome, kad ploviklis Simple Green padidina toksinį naftos poveikį (27, 28 pav.). Embrionų mirtingumas didėja, didėjant naftos koncentracijai mišinyje (27 pav.), tuo tarpu lervų mirtingumas priklauso nuo N/SG koncentracijų santykio mišinyje (28 pav), t.y. kuo tas santykis didesnis (6,93/0,5 g/l) tuo mažiau veikia mirtingumą (52,8 %). Tai, matomai, susiję su ploviklio Simple Green veikimu. Jis veikia naftą, skaidydamas ją į vis smulkėjančias micles. Kuo šio ploviklio kiekis didesnis, lyginant su naftos kiekiu, tuo daugiau ir smulkesnių naftos micelių

atsiranda vandenyje, tuo lengviau jos pasisavinamos bioorganizmų. Taipogi, padidėja vandenyje ištirpusių PAA. Prie mažų naftos koncentracijų ploviklis ją visiškai suskaido ir vandenyje atsiranda santykinai didesnis PAA kiekis, lyginant su didelėmis naftos koncentracijomis. Kai naftos koncentracija didelė, o ploviklio kiekis lieka tas pats (0,5 g/l), nafta suskaidoma iki micelių, tačiau jos nėra tokios smulkios, taigi sunkiau patenka į gyvus organizmus ir yra mažiau toksiškos. Taigi, ikrų mirtingumas didėja didėjant naftos koncentracijai vandenyje, nes prie mažų naftos koncentracijų atsiranda daug PAA, tačiau dėl savo embrioninio apvalkalo ikrai yra gana atsparūs jų poveikiui. Didėjant naftos koncentracijai mišinyje, o ploviklio koncentracijai išliekant tai pačiai (0,5 g/l), pastarasis nepajėgia suskaidyti visos naftos, ir ikrai žūsta ne tiek dėl padidėjusio PAA kiekio vandenyje, kiek dėl deguonies stygiaus. Su lervomis situacija keičiasi. Jos nebeturi jas saugančio dangalo, todėl tampa ypač jautrios vandenyje ištirpusių naftos produktų toksiniam poveikiui. Palyginus naftos atskirai ir naftos ir Simple Green mišinio poveikius, matome, kad prie mažų N/SG koncentracijų santykių (0,11/0,5 g/l) lervų mirtingumas ženkliai didėja, nes ploviklis dar gerai skaido naftą, ir vandenyje atsiranda daug ir smulkių naftos micelių bei PAA. Prie didelių N/SG santykių (3,46/0,5; 6,93/0,5), ploviklis suskaido naftą tik iki santykinai gana didelių micelių, kurios yra sunkiau įsisavinamos, ir tuo pačiu pagerėja deguonies patekimas į vandenį, nes suardoma ištisinė naftos plėvelė. Taigi lervų mirtingumas ženkliai sumažėja (52,8 %) lyginant su rezultatais, kur lervos buvo veikiamos vien tik nafta (81,61 %). (28 pav.).

Eilės mokslininkų tyrimai rodo, kad lašišinių žuvų ikrų ir lervų jautrumas toksikantams kinta priklausomai nuo embriono ar lervos vystymosi stadijos. Nustatyta, jog labiausiai jautrūs yra šie embriono vystymosi periodai: gastrulė, ankstyva organogenezė, ritimasis (Rosenthal et al., 1976). Ypač jautrūs yra ląstelių diferenciacijos etapai, kuomet formuojasi individo būsimų organų ląstelių specializacija (Filenko, 1988). Šioje stadijoje įvykę pažeidimai dažniausiai sumažina išsiritusių lervų skaičių, jų gyvybingumą (Filenko, 1988). Mūsų bandymo metu nafta kartu su plovikliu Simple Green veiktos lervutės buvo ypač jautrios ritimosi metu ir iškart po jo (12 pav.), ritimosi metu mirtingumas, didėjant mišinio koncentracijai nuo 0,43+0,5 iki 6,93+0,5 g/l, atitinkamai didėjo nuo 5 iki 19,5 %, tuo tarpu embrionų mirtingumas ankstyvoje „akutės“ stadijoje visose tirtose koncentracijose nesiskyrė nuo kontrolinių bandinių, ir po 10 parų

ekspozicijos tesiekė vos 2,5 – 3 %. Tai gali būti susiję su embrioną supančio apvalkalo membranose įvykusiais pakitimais (McKim, 1985).

Apibendrinus gautus rezultatus galima teigti, kad vaivorykštinio upėtakio jautrumas naftos ir ploviklio Simple Green mišiniui priklauso nuo mišiniu veikiamos individo vystymosi stadijos, poveikio trukmės, ir naftos bei ploviklio koncentracijų santykio mišinyje.

Atlikti ilgalaikiai naftos ir ploviklio Simple Green bendro poveikio tyrimai parodė, kad didesnės naftos koncentracijos mišinyje ilgalaikio poveikio metu ne tik sumažina upėtakio embrionų ir lervų išgyvenimą, bet ir pažeidžia svarbiausių gyvybinių sistemų darbą. Didesnių naftos koncentracijų mišinyje poveikio metu patikimai sulėtėja lervų širdies bei kvėpavimo dažniai (ŠD sulėtėja nuo  $62,86 \pm 0,74$  iki  $46,86 \pm 2,26$ , o KD nuo  $82,57 \pm 1,84$  iki  $77,14 \pm 2,72$ ) (4, 5 lentelės). Kaip žinia, toksikanto poveikyje įvykę embrionų ir lervų kvėpavimo ir širdies veiklos pokyčiai blogina embrionų ir lervų augimą, trikdo inkubacijos trukmę, stabdo vystymąsi (McKim, 1985). Prastai išsivysčiusi trynio maišelyje kraujo cirkuliacija trikdo jo panaudojimą, pažeidžia respiracinius mechanizmus, ko pasekoje sumažėja išsiritusių lervų dydžiai, sulėtėja augimo tempas, sumažėja prieaugis, biomasė, padidėja tikimybė tapti auka arba žūti (McKim, 1997).

Taigi, įvertinus tyrimo rezultatus, matome, kad didelių naftos ir ploviklio Simple Green koncentracijų bendras ilgalaikis poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų fiziologiniams rodikliams (širdies ir kvėpavimo dažniui) priklauso nuo koncentracijos dydžio bei poveikio trukmės.

Didesnių naftos ir ploviklio koncentracijų ( $1,73 \pm 0,5$  –  $6,93 \pm 0,5$  g/l) bendras ilgalaikis poveikis trikdo tiek embrionų, tiek lervų kraujotakos sistemą, stebimi kraujo išsiliejimai įvairiose kūno dalyse.

Apibendrinus tyrimų rezultatus, galima teigti, kad vaivorykštinis upėtakis yra ypač jautrus naftos ir ploviklio Simple Green bendram poveikiui ankstyvose vystymosi stadijose. Ploviklis ženkliai sustiprina toksinį naftos poveikį žuvims ankstyvoje ontogenezėje. Ilgalaikio tyrimo metu nustatyta, kad ploviklio Simple Green naudojimas naftos avariniams išsiliejimams likviduoti gali labiau sutrikdyti visų ankstyvosios ontogenezės etapų eigą, įskaitant embrionų formavimąsi, vystymąsi, lervų ritimąsi, augimą bei gyvybiškai svarbių fiziologinių sistemų darbą, lyginant vien tik su naftos



daromu žalingu poveikiu. Taigi, neapdairus ploviklio Simple Green naudojimas naftos išsiliejimų atveju gali būti katastrofiškas ir dar labiau įtakoti organizmų gyvybingumą ne tik embriono periodo metu, bet ir žymiai sumažinti populiacijos gausumą vėlesniuose vystymosi etapuose.

## **7. Išvados**

1. Nustatyta, kad didžiausia tirta naftos ir ploviklio Simple Green mišinio koncentracija ( $6,93+0,5$  g/l) nesukelia vaivorykštinio upėtakio embrionų (nuo „akutės“ stadijos iki ritimosi pradžios) didesnio mirtingumo, nei kontrolėje, tačiau ženkliai jį padidina ritimosi metu. Tuo tarpu visose tirtose mišinio koncentracijose ( $0,11+0,5$  –  $6,93+0,5$ g/l) ilgalaikio poveikio metu (nuo ritimosi iki trynio maišelio rezorbcijos) ženkliai padidina upėtakio lervų mirtingumą. Jautriausias naftos poveikiui buvo ritimosi periodas, kadangi jo metu stebėtas didžiausias lervučių mirtingumas.
2. Nustatyta, kad naftos ir ploviklio Simple Green mišinio  $0,87+0,5$  –  $6,93+0,5$  g/l koncentracijos ilgalaikio poveikio metu neigiamai veikia upėtakio embrionų ir lervų kardiorespiracinę sistemą: širdies bei kvėpavimo dažniai, lyginant su kontrole, patikimai sulėtėja.
3. Nustatyta, kad didžiausios naftos ir ploviklio Simple Green mišinio koncentracijos ( $0,87+0,5$  –  $6,93+0,5$  g/l) ilgalaikio poveikio metu neigiamai veikia embrionų ritimosi procesą (lyginant su kontrole užsitęsia 4-7 parom), sukelia embrionų ir lervučių kraujotakos sistemos pažeidimus (stebimi kraujo išsiliejimai įvairiose kūno vietose), bei elgsenos pakitimus (daugiau nei 50% lervučių nesudaro lizdų).
4. Nustatyta, kad naftos ir ploviklio Simple Green mišinio ilgalaikiam poveikiui turi įtakos ekspozicijos trukmė. Didėjant ekspozicijos trukmei, didėja vaivorykštinio upėtakio embrionų ir lervų mirtingumas, lėtėja širdies ir kvėpavimo dažniai.
5. Nustatyta, kad vaivorykštinio upėtakio embrionų mirtingumas priklauso nuo naftos koncentracijos mišinyje, o lervų mirtingumas nuo naftos ir ploviklio Simple Green koncentracijų santykio mišinyje (kuo santykis mažesnis –  $0,11/0,5$  g/l, tuo mirtingumas didesnis).
6. Nustatyta, kad ploviklis Simple Green padidina toksinį naftos poveikį vaivorykštiniam upėtakiui anktyvoje ontogenezeje – ženkliai padidėja embrionų (ritimosi metu) ir lervų mirtingumas (lervų mirtingumas mažiausiose naftos ( $0,11$  g/l) ir naftos bei ploviklio Simple Green mišinio ( $0,11+0,5$  g/l) koncentracijose atitinkamai sudaro 13 % ir 68,2%), sulėtėja širdies dažnis, lyginant su tyrimo, atlikto tiriant vien tik naftos toksinį poveikį vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvoje ontogenezeje, rezultatais.

7. Apibendrinus tyrimų rezultatus, galima teigti, kad  $0,87 \pm 0,5$  –  $6,93 \pm 0,5$  g/l naftos ir ploviklio Simple Green mišinio koncentracijos jau embriono periode trikdo organizmo fiziologinę būklę, kas gali įtakoti jo funkcionavimą bei išgyvenimą vėlesniuose jo vystymosi etapuose.

## **Literatūros sąrašas**

1. Bhattacharyya S., Kleks P.L., Nyman J.A. Toxicity to freshwater organisms from oils and oil spill Chemical Treatments in laboratory microcosms. *Environmental Pollution* 122 (2003) 205-215.
2. Clean – up techniques // <http://www.itopf.com/dispersa.html>.
3. Clayton J.R., Payne J.R., Farlow J.S. 1992. Oil Spill Dispersants. Mechanism of Action and Laboratory Tests. CRP Press, Boca Raton.
4. Davies L., Lewis A., Lunel T., Crosbie A. 1998. Dispersion of Emulsified Oils at Sea – Laboratory Study. AEA Technology, Oxfordshire, UK.
5. Esler R. (1987). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: a Synoptic Review, *Biol. Rep.* 85(1.11).- Washington, D. C.
6. Etkin D.S. Oil Spill Dispersants: From Technology to Policy. Cutter Information Corp., Arlington, MA. 1999.
7. Filenko O. F., 1988: Vodnaja toksikologija.- Černogolovka.
8. George-Ares A., Clark J.R. Aquatic toxicity of two Corexit dispersants, *Chemosphere* 40 (2000) 897-906.
9. Israelachvili J., Intermolecular & Surface Forces, 1998m., Academic Press, second edition.
10. Yablokov A. V., Ostroumov S. A. (1985). Urovni okhrany zhivoi prirody. – Moskva.
11. Yamada M, Takada H, Toyoda K, Yoshida A, Shibata A, Nomura H, Wada M, Nishimura M, Okamoto K, Ohwada K (2003): Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and the effects of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm. *Mar Pollut Bull* 47, 105-113.
12. Jankevičius K., Liužinas R. Aplinkos biologinis valymas, 2003, Vilnius.
13. Kazlauskienė N., Marčiulionienė D., Montvydienė D., Svecevičius G., Vosylienė M. Z. Biologinių testų komplekso taikymas vertinant vandens toksiškumą. 2003, Vilnius.
14. Kazlauskienė N., Svecevičius G., Vosylienė M. Z. Lietuvoje naudojamų skystų kūrų bei sorbentų poveikis vandens organizmams ir jo ekotoksikologinių pasekmių įvertinimas (2000-2001). Ataskaita. 2001. Vilnius.

15. Kazlauskienė N., Stasiūnaitė P. The Lethal and Sublethal Effect of Heavy Metal Mixture on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Its Early Stages of Development. Acta Zoologica Lituanica, 1999, Volumen 9, Numerus 2. Vilnius.
16. Kesminas V., Repečka R., Kazlauskienė N., Virbickas T., Stakėnas S., Kontautas A., Greičiūnas V., Ložys L., Bogdevičius R. Baltijos lašiša Lietuvoje. 2000, Vilnius.
17. Lessard R.R., Demarco G. The Significance of Oil Spill Dispersants. Spill Science & Technology Bulletin, Vol. 6, No. 1, pp. 59-68, 2000.
18. Lewis A., Aurand D., 1997. Putting Dispersants to Work: Overcoming Obstacles. API Publication Number 4562A, Washington, DC.
19. Linden O, Rosemarin A, Lindsog A, Høglund C, Johansson S (1987): Effects of oil and oil dispersants on an enclosed marine ecosystem. Environ Sci Tech 12, 374-382.
20. Michailova L. V., Kutdusova N. A., Abdulina G. X., Kozlov A. B. Tiezisy dokladov VIII sjezda gidrobiologicheskovo obschestva ran, Tom I, Kaliningrad, 2001.
21. Mihoko Yamada, Hideshige Takada, Keita Toyoda, Akihiro Yoshida, Akira Shibata, Hideaki Nomura, Minoru Wada, Masahiko Nishimura, Ken Okamoto, Kouichi Ohwada, Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and the effect of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm. Marine Pollution Bulletin 47 (2003) 105-113.
22. Mironov O.G. Biologičeskijie riesursi moria i nieftianojie zagrieznienijie. Moskva, Piščievaja promišlienost. 1972.
23. Pezeshki S.R., Hester M.W., Lin Q., Nyman J.A. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. Environmental Pollution 108 (2000) 129-139.
24. Pollino CA, Holdway DA (2002): Toxosity testing of crude oil and related compounds using early life stages of the crimson-spot-ted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). Ecotoxicol Environ Safety 52, 180 – 189.
25. Scott BF (1984): Impact of oil and oil-dispersant mixtures on the mixtures in freshwater pounds. Sci Total Environ 35, 191-206.

26. Stankevičius A. Baltijos jūros aplinkos būklė. 2003, Kaunas.
27. Summary // <http://www.pwsrca.org/OSPR/scidispersant.html>.
28. Use of dispersants // [www.amsa.gov.au/me/natplan/foolbox/dispersa/](http://www.amsa.gov.au/me/natplan/foolbox/dispersa/)
29. Virbickas J., Lietuvos žuvis, 2000, Vilnius.
30. Vosyliene M.Z., Kazlauskienė N., Jokšas K. Toxic Effects of Crude Oil Combined with Oil Cleaner Simple Green on Yolk-sac Larvae and Adult Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, 2005.
31. Wilson K.W. The toxicity of oil – spill dispersants to the embryos and larvae of some marine fishes // FAO techn.conf. on marine pollut. Rome. 1970.
32. Wolf M.F., Schlosser J.A., Schwartz G.J.B., Singaram S., Mielbrecht E.E., Tjeerdema R.S., Sowby M.L. Influence of dispersants on the bioavailability and trophic transfer of petroleum hydrocarbons to primary levels of a marine food chain, *Aquatic Toxicology* 42 (1998) 211-227.
33. <http://www.hawaii.gov/dbedt/ert/archive/heeetsed/hee-simple.html>
34. [http://www.msa.lt/tarsa\\_lt.htm](http://www.msa.lt/tarsa_lt.htm)
35. <http://www.simplegreen.ch>
36. <http://www.simplegreen.com>
37. <http://www.lfma.ivi.lt/Mezonas/Archyvas/m33files/ekolog.doc>
38. <http://www.itopf.com/clean-up.html>
39. [http://mks.lms.lt/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=84](http://mks.lms.lt/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=84)
40. [http://www.simplegreen.co.uk/q\\_a.php.htm](http://www.simplegreen.co.uk/q_a.php.htm)
41. [http://sea.helcom.fi/dps/docs/documents/Response%20Group/HELCOM%20RESPONSE%202003/4\\_1.pdf](http://sea.helcom.fi/dps/docs/documents/Response%20Group/HELCOM%20RESPONSE%202003/4_1.pdf)
42. <http://www.us-baltic2004.org/>
43. <http://www.pwsrca.org/projects/dispersant.html>
44. [http://facilities.uoregon.edu/custodial/PDF/UO\\_Simplegreen.pdf](http://facilities.uoregon.edu/custodial/PDF/UO_Simplegreen.pdf)
45. <http://www.setonresourcecenter.com/msds/docs/wcd00041/wcd04160.htm>
46. [http://oracle.am.lt/sp/ataskaitos%5CTA%204\\_3%20LT.pdf](http://oracle.am.lt/sp/ataskaitos%5CTA%204_3%20LT.pdf)



# **THE TOXIC EFFECT OF CRUDE OIL COMBINED WITH OIL CLEANER „SIMPLE GREEN“ ON RAINBOW TROUT IN EARLY ONTOGENESIS**

E. Ratkelytė  
Vilnius University

## Summary

Long-term effects of crude oil combined with oil cleaner „Simple Green“ were evaluated in chronic toxicity tests by use of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in early stages of development (embryos, larvae) as test-objects. The following toxicity criteria were studied for evaluation of toxic effects: mortality of embryos and larvae; physiological parameters (heart rate, ventilation frequency). The aim of the study was to investigate the overall effect of crude oil combined with oil cleaner „Simple Green“ on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in early development stages (embryos, larvae) depending on oil concentration in the mixture and exposure duration and to evaluate the specificity of negative effects of mixture on physiological parameters of fish.

It was determined that 0.87, 1.73, 3.46 and 6.93 g/l concentrations of crude oil combined with 0.5 g/l of “Simple Green” resulted in the significant increase in larvae mortality, but practically had no negative effect on embryos. Hatching was found to be the most sensitive stage of development, 1 day age larvae were less and embryos were the least sensitive to the toxic impact of mixture, respectively. It was estimated that 0.87+0.5, 1.73+0.5, 3.46+0.5 and 6.93+0.5 g/l concentrations of crude oil combined with oil cleaner „Simple Green“ disturbed the work of cardiorespiratory system (heart rate and ventilation frequency slowing down), resulted in malformations of larvae and their abnormal behaviour. Duration of exposure influenced the toxicity of crude oil also. When the duration of exposure prolonged, the mortality of larvae increased, the work of cardiorespiratory system slowed down.

Generalization of obtained data demonstrated that crude oil combined with oil cleaner „Simple Green“, can significantly affect the survival of the fish and diminish the abundance of population at following development stages.



1. Magistrinio darbo autorius:

EGLĖ RATKELYTĖ

\_\_\_\_\_  
( parašas)

2. Darbo vadovai:

g. m. dr. N. KAZLAUSKIENĖ  
doc. dr. S. SINKEVIČIUS

\_\_\_\_\_  
( parašas)

3. Recenzentas:

\_\_\_\_\_  
( vardas, pavardė)

\_\_\_\_\_  
(parašas)

4. Ekologijos ir Aplinkotyros Centro direktorius doc. dr. S. SINKEVIČIUS

\_\_\_\_\_  
(parašas)

5. Magistrinio darbo gynimo komisijos išvada ir įvertinimas:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

6. Magistrinių darbų gynimo komisijos pirmininkas  
hab. dr. V. BŪDA

\_\_\_\_\_  
(parašas)

Protokolas Nr. \_\_\_\_\_

Data 2006 \_\_\_\_\_

## BAIGIAMOJO DARBO ĮVERTINIMO LENTELĖ (RECENZENTUI)

Darbo pavadinimas: Naftos ir naftos ploviklio Simple Green bendras

toksinis poveikis vaivorykštiniam upėtakiui ankstyvoje ontogenezėje

Studento vardas ir pavardė: Eglė Ratkelytė

Studijų programa: Aplinkotyra ir aplinkotvarka

<b>Rodikliai ir galimų balų diapazonas</b>	<b>Įvertinimas (balais)</b>	<b>Pastabos</b> (privalomos esant neigiamam galutiniam įvertinimui)
Temos ir tikslų aktualumas mokslui ir/ar praktikai ; Metodikos kokybė, jos atitikimas darbo tikslams bei uždaviniams. Statistinis duomenų apdorojimas <b>(0 – 3,0)</b>		
Literatūrinės darbo dalies parengimo kokybė <b>(0 – 3,0)</b>		
Rezultatų analizė, aptarimas ir išvadų pagrįstumas <b>(0 – 4,0)</b>		
Galutinis (suminis) balas:		

### Darbo recenzentas

(mokslinis laipsnis, vardas pavardė ir parašas)

.....

Data: