

ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА

УДК 574.64:57.083.3

**ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОФІЗІОЛОГІЧНОГО МЕТОДУ ДЛЯ ОЦІНКИ
ТОКСИЧНОСТІ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД**

В. О. Конончук

студент 4 курсу, група ЕКО-41, навчально-науковий інститут агроекології та землеустрою
Науковий керівник – к.с.-г.н., доцент О.О. Бєдункова

*Національний університет водного господарства та природокористування,
м. Рівне, Україна*

Проведено оцінку токсичності поверхневих вод різних ділянок малої річки Устя за допомогою цитофізіологічного методу біотестування з використанням акваріумної водорості *Vallisneria*. Помічено, що в період осінньої межени поверхневі води річки проявляють переважно слабку токсичність, за виключенням ділянки річки поблизу гирла, де вода виявилась, високо токсичною. Зроблено припущення про негативний вплив стічних вод в межах даної ділянки. Обґрунтовано доцільність продовження досліджень, з метою відстеження формування токсичності гідроекосистеми на різних ділянках у різні сезони року.

Ключові слова: поверхневі води, токсичність, гідроекосистема.

Проведена оценка токсичности поверхностных вод различных участков малой реки Устья с помощью цитофизиологического метода биотестирования с использованием аквариумной водоросли *Vallisneria*. Замечено, что в период осенней межени поверхностные воды реки проявляют преимущественно слабую токсичность, за исключением участка реки вблизи устья, где вода оказалась высоко токсичной. Сделано предположение о негативном влиянии сточных вод в пределах данного участка. Обоснована целесообразность продолжения исследований, с целью отслеживания формирования токсичности гидроэкосистемы на разных участках в разные сезоны года.

Ключевые слова: поверхностные воды, токсичность, гидроэкосистема.

The evaluation of the toxicity of surface waters River Ustia of different sites. It is applied cytophysiological bioassay method using algae aquarium *Vallisneria*. It has been observed that during the autumn low water surface waters of the river have weak toxicity, and the area near the mouth of the river - high. On this site there are wastewater discharges. It is necessary to continue research in order to monitor the formation of hydroecosystems toxicity at different sites in different seasons.

Keywords: surface water, toxicity, hydroecosystem.

Вступ. Використання біологічних тестів передбачено рядом національних і міжнародних стандартів – SFS, ISO (International Standards Organisation), CEN (European Committee for Standardization). При виконанні тестів хімічних з'єднань використовують інструкції Організації зі співпраці і розвитку в Європі OECD's (Guidelines testing of chemicals). З невеликим відхиленням аналогічні інструкції застосовуються в США (Агентство по охороні навколошнього середовища – EPA, ASTM), і Канаді (Environment Canada). Документація містить досить детальний опис методик, які вирішують два важливі напрямки в охороні водних екосистем. По-перше, за допомогою біотестування встановлюються рибогосподарські ГДК забруднюючих речовин і токсичних речовин. По-друге, більшість науковців доводять, що завдяки простоті та швидкості виконання процедури

біотестування, можливо отримати оперативний сигнал про ступінь токсичності природних вод.

Аналіз останніх досліджень. Тести на токсичність проводяться з метою визначення співвідношення і взаємозв'язку між реакціями пристосування організмів та масштабом впливу забруднення [1]. На сьогодні, під біотестом розуміють систему, або визначений набір взаємопов'язаних елементів, що складається з трьох основних частин: 1) тест-об'єкта, який підлягає відповідному впливу зі сторони експериментатора; 2) метода, або набору методів для реєстрації (фіксації) досліджуваної реакції або характеристики (тест-функції); 3) метода обробки одержаної інформації [2].

Вибір тест-організмів визначається їх розповсюженістю, простотою утримання та культивування в лабораторії, низькою собівартістю, простотою методик спостережень. На думку дослідників, кожен з тест-організмів заслуговує на увагу та має специфічні переваги. Однак, ні один з організмів не є універсальним та чутливим до всіх речовин у однаковій мірі [3]. Тому, при виборі тест-об'єкта певного виду, необхідні знання не лише про стратегію життєвого циклу цього виду в цілому, а й про його здатність витримувати несприятливі умові на різних стадіях онтогенезу [4].

Залежно від цілей досліджень, тривалість експериментів варіює від декількох хвилин до декількох місяців. При цьому, ряд авторів [1-5] відмічають, що тест-функції, які використовуються при дослідженнях повинні давати чітку і точну реакцію на токсичний вплив та мало залежати від тривалості експерименту.

В якості тест-реакцій (тест-функцій, тест-критеріїв) використовується широкий набір фізіологічно-біохімічних показників гідробіонтів різних систематичних груп: морфологічні характеристики [2], показники росту [3], виживаність [4], інтенсивність фотосинтезу [5], цитогенетичні показники [6], аналіз ядерцевих біомаркерів [7].

Дослідження відношення впливу і особливостей пристосування зазвичай основані на даних про концентрацію речовин у водоймі, або в розчині тест-досліду. Серед екотоксилогічних тестів найбільш вживаними являються тести, в яких фіксуються зміни на рівні клітин. Доведено, що рослинні клітини є чутливими та інформативними індикаторами, навіть при низьких концентраціях токсикантів [4, 6, 7], що обумовлює об'єктивність оцінки та високий результат діагностики токсичності досліджуваного середовища.

Зокрема, при аналізі токсичності водойм, високу чутливість та інформативність забезпечує використання в якості тест-об'єктів водоростей різних систематичних груп. Водорості лежать в основі гідроекосистем і, завдяки фотосинтетичній функції, є високочутливими до забруднення водного середовища. Світло для водоростей є не лише джерелом енергії, але й активним уражуючим фактором, при чому, процеси ураження різко активуються при порушеннях токсикантами різних стадій метаболізму. Така активація обумовлена зменшенням використання енергії світла у реакціях фотосинтезу, що забезпечує показовість тест-реакцій водоростей на клітинному рівні в умовах реального часу [8].

Одним з найбільш чутливих показників життєздатності клітини є рух цитоплазми (циклоз) [8, 9]. Рух цитоплазми забезпечує внутрішньоклітинний та міжклітинний транспорт речовин, переміщення органел у клітині, має важливе значення у реакціях подразнення. У його здійсненні беруть участь елементи цитоскелету – мікрофіламенти та мікротрубочки. Джерелом енергії для цього руху виступає АТФ [8]. За сприятливих умов цитоплазма рослинних клітин постійно рухається. На зовнішні та внутрішні впливи клітина відповідає змінами цього руху, його швидкості. Зміни рухливості цитоплазми пов'язують зі зміною проникності поверхневої мембрани до іонів, або інших токсичних сполук, які можуть бути активаторами або інгібіторами АТФ-ази і впливати на рівень АТФ у клітині. Вважається, що зміни внутрішньоклітинної концентрації АТФ, зумовлені дією ушкоджуючих агентів, впливають на організацію актиноподібних феламентів цитоплазми, що у свою чергу спричинює зміни в'язкості цитоплазми та швидкості її руху [9]. Прискорення або

уповільнення швидкості циклозу залежить від більшості, навіть незначних факторів, що доводять вивчення впливу на клітину факторів фізичної та хімічної природи [10], а також комбінованих ефектів електромагнітних випромінювань та дії іонізуючої радіації [11].

Постановка завдання. Метою нашої роботи було проведення токсикологічної оцінки поверхневих вод за допомогою цитофізіологічного способу біотестування з використанням в якості тест-об'єкту лабораторної культури акваріумної водорості валіснерія (*Vallisneria (P.Micheli ex. L. 1753)*).

Дослідною гідроекосистемою було обрано малу річку Устя, яка внаслідок цілого ряду природних та антропогенних чинників має несприятливі умови самоочищення, що особливо гостро проявляється на урбанізованих ділянках водотоку [12]. Відбір проб води проводили згідно методики [13] у період осінньої межені 2015 року на ділянках гідроекосистеми, що зазнає антропогенного навантаження різної інтенсивності:

- контрольний створ № 1 - західна околиця хутора Івачків (верхів'я річки, природний фон);
- контрольний створ № 2 - нижче м. Здолбунів (вплив скиду стічних вод);
- контрольний створ № 3 - в межах міста Рівне, 100 м нижче дамби оз. Басів Кут (контрольний пункт нижче дамби Басівкутського водосховища);
- контрольний створ № 4 - в межах міста Рівне, в районі центрального міського ринку (вплив скиду стічних вод м. Рівне);
- контрольний створ № 5 - розширення ділянка в межах м. Рівне, поблизу кафе "La Riva" (вплив скиду стічних вод м. Рівне);
- контрольний створ № 6 – с. Оржів, 0,1 км вище впадіння в р. Горинь (контрольний пункт у гирлі).

Методика досліджень. Для оцінки токсичності поверхневих вод та донних відкладів малої річки Устя було використано цитофізіологічний метод за Сіренко-Смірновою [10], який зводиться до фіксації проходження хлоропластом однієї або кількох поділок окуляр-мікрометра та визначення швидкості руху цитоплазми як відношення величини відстані у мікromетрах до числа секунд, за яке хлоропласт проходить цю відстань (мкм/с). Методика має кількісний вираз за п'ятибальною шкалою визначення ступеня токсичності водного середовища (від нетоксичного до летального), який дає змогу градуювати токсичність модельного середовища в межах п'яти груп.

Результати досліджень. Результати проведеного біотестування та оцінку впливу дослідних зразків поверхневих вод р. Устя на швидкість руху хлоропластів *Vallisneria* представлено у табл. 1.

Таблиця 1
Швидкість руху хлоропластів *Vallisneria* та ступінь токсичності дослідних зразків поверхневих вод малої річки Устя

Показники біотестування у схемах експерименту	Ділянки відбору проб води					
	створ № 1	створ № 2	створ № 3	створ № 4	створ № 5	створ № 6
швидкість руху, % до контролю	80,56±1,85	111,97±19,04	41,74±9,89	54,76±4,12	73,33±7,69	181,48±26,1
ступінь токсичності	немає токсичності	немає токсичності	слабка токсичність	слабка токсичність	слабка токсичність	висока токсичність

Так, в ході експерименту вода річки Устя чинила слабку токсичність у створах, що знаходяться в межах м. Рівне. При цьому, середня швидкість руху хлоропластів валіснерії становила у третьому створі 0,10 ум.од./с ($41,74\pm9,89\%$ відносно контролю), у четвертому створі 0,14 ум.од./с ($54,76\pm\%$ відносно контролю) та 0,18 ум.од./с ($73,33\pm7,69\%$ відносно контролю) у п'ятому створі. Висока токсичність води була відмічена у створі № 6, де середня

СТУДЕНТСЬКИЙ ВІСНИК
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ВОДНОГО ГОСПОДАРСТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

швидкість руху хлоропластів валіснерії була $0,45 \text{ ум.од./с}$, що становило $181,48 \pm 26,1\%$ відносно контролю. У створах №1 та №2, де середня швидкість руху хлоропластів була відповідно $0,20$ та $0,27 \text{ ум.од./с}$, токсичність води не проявлялась, що підтверджує порівняння цих значень з контрольним – $80,56 \pm 1,85\%$ та $111,97 \pm 19,04\%$. Відомо, що прояв токсичних впливів гідроекосистем залежить і від таких факторів як температура поверхневих вод та інтенсивність продукційно-деструкційних процесів [14...17]. Це робить необхідним продовження досліджень, з метою відстеження формування токсичності гідроекосистеми на різних ділянках у різні сезони року.

Висновки. Аналіз отриманих результатів дозволяє стверджувати, що в досліджуваний період осінньої межі 2015 року поверхневі води річки проявляють слабку токсичність в межах гідроекосистеми, що зазнає антропогенного впливу стічних вод м. Рівне та високу токсичність поблизу гирла річки, що очевидно зумовлює вплив стічних вод та поверхневого стоку в межах смт Оржів.

Відчутні за короткий період часу зміни швидкості руху хлоропластів у дослідних зразках, порівняно з контролем, свідчать, що клітини *Vallisneria* чутливо реагують на присутність токсикантів. Враховуючи простоту культивування рослини та показовість її цитофізіологічних змін, застосований цитофізіологічний спосіб біотестування може бути рекомендований для інтегральної оцінки токсичності гідроекосистем, яка зможе обґрунтовувати необхідність аналітичного контролю для з'ясування хімічної природи забруднень.

Список використаних джерел:

1. Филенко О. Ф. Взаимосвязь биотестирования с нормированием и токсикологическим контролем загрязнения водоемов / О. Ф. Филенко // Водные ресурсы. – 1985. – № 3. – С. 130-134.
2. Черкашин С. А. Биотестирование: терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсикологии / С. А. Черкашин // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыболовецкого научно-исследовательского центра. – 2001. – Том 128. – С. 1020-1035.
3. Филенко О. Ф. Биотестирование: возможности и перспективы использования в контроле поверхностных вод / О. Ф. Филенко. – Л. : Гидрометиздат, 1989. – С. 185-193.
4. Брагинский Л. П. Теоретические аспекты проблем «нормы и патологии» в водной токсикологии / Л. П. Брагинский // Теоретические вопросы водной токсикологии : Мат-лы 3-го сов.-амер. симпоз. – Л. : Наука, 1981. – С. 29-40.
5. Майстренко В. Н. Экологический мониторинг суперэкотоксикантов / В. Н. Майстренко, Р. З. Хамитов, Г. К. Будников. – М. : Химия, 1996. – 320 с.
6. Веселов Е. А. Патологические функциональные и морфологические изменения у пресноводных беспозвоночных и рыб под влиянием интоксикации / Е. А. Веселов // Норма и патология в водной токсикологии. – Байкальск, 1977. – С. 111-114.
7. Веялкіна Н. М. Використання клітинних біомаркерів рослинних і тваринних тест-організмів для оцінки токсичності води : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.16 «Екологія» / Н. М. Веялкіна. – Київ, 2011. – 20 с.
8. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин / М. М. Мусієнко. – К. : Вища шк., 1995. – 503 с.
9. Смирнова Н. Н. Цитофізиологічний метод експрес-оценки токсичності природних вод / Н. Н. Смирнова, Л. А. Сиренко // Гібробіол. Журн. – 1993. – 29, № 4. – С. 95 – 101.
10. Котовщиков А. В. Оценка экологического состояния реки Оби в районе г. Барнаула на основе пигментных характеристик фитопланктона / А. В. Котовщиков, Т. В. Кириллова, Е. И. Третьякова // Мир науки, культуры, образования. – 2010. – № 1 (20).
11. Тордія Н. В. Дослідження швидкості руху цитоплазми як цитофізіологічний метод в радіобіологічному експерименті / Н. В. Тордія, Д. М. Гродзинський // Цитология и генетика. – 2004. – 38, № 1. – С. 63–71.
12. Бедункова О. О. Оцінка рівнів токсичності поверхневих вод річки Устя в межах урбанізованих ділянок водозберігального басейну / О. О. Бедункова, С. М. Глаз // Матеріали між нар. наук.-практ. інтернет конференції «Наукові пріоритети розвитку аграрної сфери в умовах глобальних змін» 4-5 грудня 2014 р. – Тернопіль : Крок, 2014. – 191 с.
13. ДСТУ 4107-2002 (ISO 5667-16:1998, MOD) Якість води. Відбір проб. Частина 16. Настанови з біотестування. – Київ : Держспоживстандарт України. – 2003. – 38 с.
14. Біотестування у природоохоронній практиці / Технічний комітет зі стандартизації ТК 82 "Охорона навколошнього природного середовища та раціональне використання ресурсів України". Київ 1997. – 240 с.
15. Филенко О. Ф. Основы водной токсикологии / О. Ф. Филенко, И. В. Михеева – М. : Колос, 2007. – 144 с.
16. Метелев В. В. Водная токсикология / В. В. Метелев, А. И. Канаев, Н. Г. Дзасохова – М. : Колос, 1971 – 247 с.
17. Клименко М. О. Гідроекологія. Підручник / М. О. Клименко, Ю. В. Пилипенко, Ю. Р. Гроховська, О. В. Лянзберг, О. О. Бедункова. – Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2015. – 380 с.