

5. Гончарук В.В. Некоторые характеристики цитотоксичности и генотоксичности водных растворов полигексаметиленгуанидина / В.В. Гончарук, Н.Н. Гаранько, В.В. Архипчук // Доповіді НАН України. — 2002. — № 3. — С. 167–170.
6. Кулагина К.В. Исследование зависимости частоты сердечных сокращений *Daphnia magna* от концентрации пестицидов / К.В. Кулагина // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 3 — С. 191–197.
7. Олькова А.С. Биотестирование в научно-исследовательской и природоохранной практике России / А.С. Олькова // Успехи современной биологии. — 2014. — N 6. — С. 614–622.
8. Tortajada C. Water Demand Management in Singapore: Involving the Public / C. Tortajada, Yug. K. Joshi // Water Resour Manage, 2013. — Vol. 27. — P. 2729–2746.
9. Biedunkova O. Comparative analysis of the seasonal dynamics of bioaccumulation of toxicants in different types hydroecosystems / O. Biedunkova, A. Klimenko, A. Petruk // British Journal of Science, Education and Culture. — No. 1 (5). — Vol. III. — London: London University Press, 2014. — 440 p.
10. Genotoxicity evaluation of water soil leachates by Ames test, comet assay, and preliminary *Tradescantia micronucleus* assay / B. Lah, T. Vidic, E. Glasencnik et al. // Environmental Monitoring and Assessment April. — 2008. — Vol. 139 (1–3). — P. 107–118.
11. Monitoring von Wetter, Limnologie und Sedimentbildung zum Prozessverständnis der Warvenablagerung im Tiefen See (Klocksiner Seenkette) / Ul. Kienel, G. Kirillin, B. Brademann et al. — Ung-heft, 2015. — 79. Tagung Norddeutscher Geologen. — S. 90–91.
12. River watch. Manual for public environmental monitoring. — SPb.: Friends of the Baltics / Coalition Clean Baltics, 2015. — 32 p.
13. Водна стратегія України на період до 2025 року (наукові основи) / За наук. ред. М.І. Ромащенко, М.А. Хвесика, Ю.О. Михайлова. — К., 2015. — 46 с.

УДК 577.34 : 574.64 : 504.062

ВИКОРИСТАННЯ *VALLISNERIA GIGANTEA* GRAEB. ДЛЯ ЕКСПРЕС-ОЦІНКИ ПОТЕНЦІЙНОЇ НЕБЕЗПЕКИ ВОДИ

Е.О. Аристархова

кандидат біологічних наук, доцент
докторант

Інститут агроекології і природокористування НААН

Проаналізовано можливість удосконалення способу визначення токсичності водного середовища шляхом заміни тест-об'єкта *Vallisneria spiralis* на *Vallisneria gigantea*, що дасть змогу підвищити інформативність і зменшити працемісткість проведення біотестування вод.

Ключові слова: біотестування вод, *Vallisneria spiralis*, *Vallisneria gigantea*, швидкість руху хлоропластів, рівень токсичності.

Проблема забезпечення населення питною водою високої якості є однією з пріоритетних в Україні та світі [1, с. 6]. Особливо гостро в нашій країні постає питання значного погіршення стану вод поверхневих джерел водопостачання, оскільки вони на 80% забезпечують централізоване водопостачання, а також визначають якість питної води як у відношенні первинного, так і її вторинного забруднення [1, с. 7; 2, с. 3]. Підготовка води в умовах водочисних станцій та водоканалів потребує використання речовин-дезинфікантів, коагулянтів, флокулянтів, які додаються у воду для її знезараження і очищення [2, с. 2–3] відповідно до

рівнів первинного забруднення вододжерел. Однак залишки цих речовин та утворення з них нових токсикантів у питній воді призводять до забруднення іншого роду, яке включає в себе не менш небезпечні речовини, в тому числі й мутагени та канцерогени. Для вирішення цієї проблеми слід розробити сучасні методологічні підходи до здійснення моніторингу вод. Серед існуючих методів експрес-оцінки потенційної небезпеки води для людини і довкілля широко застосовують біотестування, за допомогою якого порівняно швидко визначають її токсичність по відношенню до тест-об'єктів [3, с. 28]. На уніфікованих істотах (дафніях, церіодафні-

ях, інфузоріях та ін.) за їхньою іммобілізацією (фактично — смертністю) якість води можна з'ясувати протягом якнайменше двох діб [4; 5, с. 6]. Останнім часом виникла потреба в оперативному біотестуванні на організмах, завдяки яким можна за декілька годин виявляти небезпечне забруднення води. Як правило, їх застосовують як додаткові тест-об'єкти до уніфікованих істот [5, с. 1–2; 6, с. 2]. Серед перспективних в Україні і за кордоном пропонують використовувати мікроорганізми, а також мікро- і макрофіти, в тому числі водні рослини. При цьому особлива увага надається вибору їх тест-функцій задля підвищення інформативності біотестування вод [6, с. 1–3; 7, с. 2–3; 8, с. 16; 9; 10].

Перші дослідження в цьому напрямі з'явилися наприкінці минулого століття [3, с. 8; 11] і досі залишаються надзвичайно актуальними [7, с. 175–176]. Такий підхід до біотестування вод відображено в наукових працях відомих українських учених Л.П. Брагінського, Н.М. Смірної, Л.Я. Сіренко, М.О. Клименка, В.В. Архипчука, В.В. Гончарука, М.М. Мусієнка, О.П. Ольховича Ю.Р. Гроховської, Н.М. Гаранько та багатьох ін. Втілені науковцями ідеї досить оригінальні і з успіхом використовуються в біотестуванні природних та стічних вод [3; 8–13]. Проте деякі способи біотестування, створені ними, після відповідного удосконалення щодо підвищення чутливості тест-об'єктів та спрощення процесу визначення тест-ознак можна використати і для експрес-оцінки потенційної небезпеки вод поверхневих джерел водопостачання та питної води. На увагу заслуговує запропонований Н.М. Смірною та Л.Я. Сіренко спосіб визначення токсичності водного середовища за допомогою валіснерії спіральної, яка належить до вищої водної рослинності [11]. Розроблений у 1994 р., цей спосіб біотестування досі широко використовується на ряді водоканалів України [5, с. 2–3]. Для його удосконалення доцільно замінити тест-об'єкт на більш чутливий вид, спростити техніку визначення основної тест-ознаки та зменшити час експозиції. За допомогою таких інновацій можна не тільки пристосувати відомий спосіб до біотестування малозабруднених вод, а й отримувати оперативну інформацію щодо стану цих вод з найменшими витратами засобів і часу. Замінивши тест-об'єкт — водну рослину *Vallisneria spiralis* L. на більш чутливий до забруднень вид *Vallisneria gigantea* Graeb., варто проаналізувати всі переваги запропонованого способу біотестування порівняно з базовим варіантом. Саме цьому й присвячена ця стаття, тобто дослідженню підвищення інформативності та зменшення працемісткості в разі проведення біотестування

вод поверхневих джерел водопостачання та питної води з використанням *V. gigantea*.

Для реалізації мети досліджень проведено порівняльний аналіз базового (БС) та запропонованого (ЗС) способів біотестування токсичності води, проби якої були відібрані в підготовлений посуд з водосховищ р. Тетерів, резервуарів чистої води (РЧВ) та водопровідної мережі на КП «Житомирводоканал» [5, 9]. Після відбору проб води їх переливали в хімічні склянки (100 мл) і формували контрольну та дослідні групи за такою схемою:

- контрольна група — проби відстояної (24 год) водопровідної води;
- дослідна група Д-1: проби води — з водосховища Денишівського;
- дослідна група Д-2: проби води — з дозабору Відсічне;
- дослідна група Д-3: проби води — з РЧВ 5000 м³;
- дослідна група Д-4: проби води — з РЧВ 20 000 м³.

Тест-об'єкти: листки валіснерії (аналоги за походженням та довжиною).

Тест-ознака: швидкість руху хлоропластів (ШРХ) у клітинах листків.

Експонування: БС — 1,5 год ($n=10$) та ЗС — 1 год ($n=15$).

Біотестування: виготовлення мікропрепаратів з листків валіснерії, визначення шляху, пройденого хлоропластом, і часу на його проходження.

Досліди проводили в триразовій повторності при температурі води $+20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ та інших ідентичних умовах. З листків валіснерії готували мікропрепарати. Медіальна частина кожного з них була поверхнею для отримання п'яти зрізів із подальшим розміщенням їх на предметному склі в краплі протестованої води. Для розрахунку ШРХ за допомогою секундоміра під мікроскопом фіксували час проходження хлоропластом однієї або декількох поділок окуляр-мікрометра. ШРХ розраховували за такою формулою:

$$V = \frac{l}{t}, \quad (1)$$

де V — швидкість руху хлоропласту, мкм/с; l — шлях, який пройшов хлоропласт, мкм; t — час проходження хлоропластом відповідного шляху, с.

Отримані дані порівнювали з контролем. Для кожної дослідної проби води розраховували індекс токсичності (%) за ДСанПіН 2.2.4-171-10 [2], використовуючи таку формулу:

$$T = \frac{(I_k - I_0)}{I_k} \cdot 100, \quad (2)$$

де T — індекс токсичності, %; I_k — величина тест-реакції валіснерії у контролі; I_0 — величина тест-реакції валіснерії у досліді.

На основі індексів токсичності вод, розрахованих окремо для *V. spiralis* і *V. gigantea*, зробили висновки про чутливість тест-організмів до забруднення вод.

Порівняльний аналіз ефективності способів біотестування проб води, відібраних у водосховищах р. Тетерів та резервуарах чистої води на КП «Житомирводоканал» [5, с. 2–3], представлено в таблиці. За стандартом підприємства СТП 17-08, затвердженим на КП «Житомирводоканал» як тест-організм, використано *V. spiralis*, що не є уніфікованим і пропонується як додатковий до стандартного біотесту щодо визначення іммобілізації дафній протягом 24 та 48 год. [5, с. 2–14]. Виходячи з цього, запропоновано замінити тест-об'єкт *V. spiralis* на *V. gigantea*, оптимізувати біотестування, зменшивши час експозиції та спростивши процес підготовки мікропрепаратів, і використати оригінальну шкалу щодо рівнів токсичності вод, яка узгоджується з ДСанПіН 2.2.4-171-10 [2, с. 6].

За даними біотестування на *V. gigantea* розроблено шкалу рівнів токсичності води, яка є зручнішою, ніж у базовому варіанті [11], і повністю узгоджується з ДСанПіН 2.2.4-171-10. При її створенні було враховано, що крім валіснерії, індекс токсичності води буде визначено й на дафніях. Незалежно від тест-об'єктів, які використовуються в дослідженнях, він не повинен перевищувати 50% [2, с. 6]:

1–25 % — допустимий рівень токсичності;
26–50% — низький рівень токсичності;
51–75% — середній рівень токсичності;
76–100% — високий рівень токсичності.

Запропонований розподіл рівнів токсичності води вказує на те, що допустимий та низький рівні відповідають якості вод, які можуть бути використані за основним призначенням, а середній та високий — створюють небезпеку їх застосування.

Тест-ознака, за якою пропонується проводити біотестування, представлена швидкістю руху хлоропластів (ШРХ) — яскраво забарвлених органел у клітинах листків валіснерії. У базовому способі той самий показник визначається як швидкість руху протоплазми (ШРП) [11], але розраховується так само, як і ШРХ. Тому цілком можливо використати запропоновану тест-ознаку, тим більше, що в інших авторів, за умов проведення подібних досліджень, розглядається саме швидкість руху хлоропластів [13, с. 36–37].

Хлоропласти захоплюються протоплазмою, яка здійснює ротаційний рух уздовж клітинних оболонок [11; 13, с. 36]. Тому рухову активність протоплазми найпростіше спостерігати і визначати за переміщенням хлоропластів, які добре розрізняються у світловому мікроскопі. Та й сам по собі рух хлоропластів є досить важливим показником щодо стану деяких водних рослин, у тому числі валіснерії. Скоріше за все, хлоропласти також можуть деякою мірою впливати на переміщення протоплазми як механічно, так і внаслідок фізіологіч-

Порівняльний аналіз способів біотестування за допомогою валіснерії проб води з водосховищ р. Тетерів та РЧВ на КП «Житомирводоканал»

Дослідні групи та показники	Ефективність біотестування за тест-ознакою ШРХ			
	<i>V. spiralis</i> (Т, %)	Рівень токсичності	<i>V. gigantea</i> (Т, %)	Рівень токсичності
Д-1 (водосховище Денишівське)	22,1	ДРТ	28,3	НРТ
Д-2 (водозабір Відсічне)	15,9	ДРТ	24,5	ДРТ
Д-3 (РЧВ 5 000)	12,5	ДРТ	19,4	ДРТ
Д-4 (РЧВ 20 000)	16,1	ДРТ	25,9	ДРТ
Тривалість експозиції, год	1,5	—	1	—
Підготовка до тестів та визначення тест-ознак, год	1	—	1,2	—
Кількість дослідних об'єктів (n)	10	—	15	—

Примітки: Т — індекс токсичності води по відношенню до контролю. Рівні токсичності води: ДРТ — допустимий, НРТ — низький.

них та біохімічних процесів, що відбуваються в них.

Можливість біотестування за допомогою показника ШРХ пояснюється постійністю ротаційного руху протоплазми, а відтак — і хлоропластів, у нормі. Забруднювальні речовини, як відомо, змінюють проникність клітинних мембран і здатні впливати на переміщення хлоропластів. Деякі з токсикантів, проникаючи в клітину, розріджують протоплазму і тим самим прискорюють рух цих органел, а деякі, навпаки, підвищують в'язкість протоплазми, уповільнюючи швидкість їхнього руху [11; 12, с. 95–96; 13, с. 36].

Отримані в дослідженні дані свідчать про те, що запропонована для проведення експрес-оцінки води *V. gigantea* за тест-ознакою ШРХ більш чутлива до загальної токсичності протестованих вод, ніж *V. spiralis* L. за аналогічним показником. До того ж за допомогою *V. gigantea*, що має прямі листки, можна значно швидше, простіше та якісніше виконувати зрізи та виявляти наявність забруднень у воді порівняно з *V. spiralis*, спірально закручені листки якої дещо ускладнюють виготовлення мікропрепаратів. Особливо важливе значення має показник ШРХ за необхідності швидкого визначення стану водного середовища в разі залпових забруднень, а також питної води внаслідок підвищеного утворення в ній після підготовки в умовах водоканалів небезпечних сполук.

Отже, з використанням *V. gigantea* замість *V. spiralis* підвищується інформативність та зменшується працездатність проведення біотестування вод.

ВИСНОВКИ

Експрес-оцінку потенційної небезпеки вод поверхневих джерел водопостачання та питної води доцільно проводити за допомогою біотестування на *V. gigantea*, використовуючи тест-ознаку ШРХ після 1-годинної експозиції її листків. Запропонований спосіб біотестування порівняно з базовим є більш чутливим, швидким і точним у визначенні, дає можливість адекватно оцінювати впливи антропогенних чинників на води різної якості за наявності в них як високих, так і низьких рівнів забрудненості.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Запольський А.К. Охорона питних вод від виснаження і забруднення / А.К. Запольський, І.В. Шумигай // Агроекологічний журнал. — 2015. — № 3. — С. 11–15.
2. ДСанПіН 2.2.4-171-10. «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» / № 452 / 17747. — Міністерство охорони здоров'я України. Державні стандартні норми та правила / [чинний від 1.07.2010 р.]. — 50 с.
3. Брагінський Л.П. Біотестування як метод контролю токсичності природних і стічних вод / Л.П. Брагінський // Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень. — Львів: Світ, 1993. — С. 27–37.
4. ДСТУ 4173-2003. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD).
5. СТП 17-08 Методика. Цитофізіологічна експрес-оцінка токсичності води (Біотестування) / Комунальне підприємство Житомирське виробниче управління водопровідно-каналізаційного господарства [дійсний від 10.09.2008 р.]. Житомир, 2008. — 15 с.
6. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. — М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. — 118 с.
7. Стецюк Л.М. Використання методів біоіндикації та біотестування для оцінки стану водних екосистем / Л.М. Стецюк // Вісн. Нац. ун-ту водного господарства та природокористування. — Вип. 2 (62). «Сільськогосподарські науки», 2013. — С. 175–181.
8. Клименко М.О. Порівняльна характеристика результатів оцінки якості води за гідрохімічними показниками та водною рослинністю / М.О. Клименко, Ю.Р. Гроховська // Вісн. РДТУ. — Рівне, 2001. — Вип. 3(10). — С. 15–22.
9. Пат. № 67315 А Україна, МПК G 01 № 33/18. Спосіб оцінки генотоксичності водного середовища / В.В. Архипчук, Н.М. Гаранько, В.В. Гончарук; заявник та патентовласник Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАНУ. — № 2003088029; заявл. 28.08.2003, опубл. 15.02.2006.
10. Пат. № 20031211812 Україна А01G 7/00 (2006.01). Спосіб визначення впливу хімічних речовин на функціональний стан рослин / В.С. Стружко, В.С. Феденко. — опубл. 15.11.2004.
11. Пат. № 3918 Україна. Спосіб визначення токсичності водного середовища / Н.М. Смірнова, Л.Я. Сіренко. — опубл. 27.12.1994.
12. Смирнова Н.Н. Цитофизиологический метод экспресс-оценки токсичности природных вод / Н.Н. Смирнова, Л.А. Сиренко // Гидробиологический журнал. — Т. 29, № 4, 1993. — С. 95–101.
13. Мусієнко М.М. Методи дослідження вищих водних рослин / М.М. Мусієнко, О.П. Ольхович. — К.: Вид-во поліграфічний центр «Київський університет», 2004. — С. 36–38.