

УДК 577.34 : 574.64 : 504.062

ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ ДОННИХ ВІДКЛАДІВ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ НА *DAPHNIA MAGNA S.* ТА *ALLIUM SERA L.*

Е.О. Аристархова

кандидат біологічних наук, доцент
докторант

Інститут агроекології і природокористування НААН

Для оцінювання гострої і хронічної токсичності донних відкладів водосховищ запропоновано використовувати тест-реакцію іммобілізації дафній на 1-шу (50%) і 8-му (60%) добу біотестування та тест-реакцію інгібування росту кореневого пучка цибулі на 8-му добу (56,94%).

Ключові слова: донні відклади, біотестування, тест-реакція, *D. magna*, *A. sera*, гостра і хронічна токсичність.

.....

Накопичення забруднювальних речовин на дні водойм і ремобілізація їх із донних відкладів (ДВ) — один з важливих механізмів регулювання вмісту цих речовин у водному середовищі [1]. Основними забруднювальними речовинами, які входять до складу відкладів на дні водойм, є органічні речовини, важкі метали, радіонукліди, пестициди тощо. За таких умов ДВ являють собою загрозу щодо погіршення якості води, оскільки постають потенційним джерелом вторинного забруднення водних мас [1]. Тому важливо, щоб за якістю ДВ постійно здійснювався належний контроль, який виявляв би основні негативні впливи та відтворював реальний стан небезпеки для водойм унаслідок їхнього ендогенного забруднення. Такий контроль можливий лише з використанням біотестування — методу біомоніторингу, що має низку переваг порівняно з іншими. Так, біотестування дає змогу визначити дію токсикантів, які містяться в мулі і донних накопиченнях, без значних матеріальних витрат та підготовки кваліфікованих кадрів для проведення таких досліджень. До того ж біотестування розглядається як інтегральний метод оцінювання стану ДВ, за даними якого розраховують індекс токсичності [2, 3] та визначають кількісний рівень небезпеки донних відкладів для водойм.

У багатьох дослідженнях було доведено актуальність проведення біотестування токсичності ДВ за визначення стану водойм [2, 3–5]. Як тест-об'єкти при цьому були використані організми різноманітних таксономічних груп, проте лише незначна їх частина визнана за уніфіковані (водорості, інфузорії, риби гуппі та коропові, гіллястовусі рачки, личинки комах, водні черви, цибуля звичайна, салат посівний тощо).

Кожен з уніфікованих тест-об'єктів використовували для розроблення стандартного

дослідку. Тому протягом тривалого часу для біотестування ДВ, як і інших середовищ, застосовували поодинокі біотести. Однак у ряді методик, пов'язаних з оцінюванням стану водойм [2, 3, 6–8], було зазначено, що ефективність методу біотестування істотно зростає в разі використання не поодиноких уніфікованих організмів, а наборів тест-об'єктів, до складу яких входять організми різної біологічної організації.

Враховуючи дані літературних джерел, для об'єктивного оцінювання стану ДВ у наших дослідженнях запропоновано проводити біотестування з використанням рослинної й тваринної форм організмів, реакція яких на одні й ті самі умови середовища може бути неоднозначною, — гіллястовусих ракоподібних (*Daphnia magna S.*) та вищих рослин (*Allium sera L.*).

Метою нашого дослідження було визначити методом біотестування на дафніях і цибулі гостру і хронічну токсичність донних відкладів.

Експериментальні дані щодо токсичності ДВ, відібраних у водосховищі Денишівському р. Тетерів, отримували за допомогою методик тестування на цибулі й дафніях [2–4, 6]. Для цього було сформовано три групи організмів-аналогів ($n = 20$), кожен з яких піддавали дії ДВ. Дафнії були аналогами за віком (24 год), а цибулини — за розміром ($d = 0,6–0,8$ см). Проби ДВ відбирали у вересні 2014 р. дночерпачем Екмана в кількості 1 дм³ на одну групу за загальноприйнятими методиками [3].

Відібрані проби настоювали добу на дистильованій воді для приготування водної витяжки, яку в подальшому переливали в хімічні ємності (0,5 дм³) і тестували за допомогою дафній і цибулі за однакових умов температури, вологості та освітленості.

Експерименти проводили за такою схемою:

- *Контрольна група К*: проби ДВ — з р. Тетерів за 50 м до водосховища.

- *Дослідна група Д1*: проби ДВ — з літоралі водосховища за 30 м від берега.

- *Дослідна група Д2*: проби ДВ — з р. Тетерів за 50 м нижче від греблі водосховища.

Тест-об'єкти: дафнія магна *D. magna* та цибуля звичайна (*A. сера*)

Біотестування — на основі кількості активних та іммобілізованих дафній і довжини кореневого пучка цибулі для визначення гострої (на 1-шу добу), короткотривалої хронічної (на 8-му) та довготривалої хронічної (на 15-ту добу) токсичності.

Індекс токсичності донних відкладів розраховували за такою формулою [3]:

$$T = \frac{I_k - I_0}{I_k} 100,$$

де T — індекс токсичності, %; I_k — кількість активних дафній на контролі (довжина кореневого пучка цибулі на контролі); I_0 — кількість активних дафній у досліді (довжина кореневого пучка цибулі в досліді).

Індекс токсичності донних відкладів не повинен перевищувати 50% незалежно від тест-об'єктів, що використовуються [3]. Якщо його значення більше за цей критерій, то забруднення ДВ вважаються небезпечними для водного середовища.

Відносну кількість дафній, що дали потомство, та іммобілізованих, у тому числі загиблих особин, а також відносну кількість цибулин

з порушенням розвитку корінців визначали, враховуючи загальну чисельність організмів у кожній групі за їх формування ($n = 20$).

Визначення токсичності ДВ в разі використання наборів тест-об'єктів ґрунтується на особливостях прояву їхніх реакцій у певні періоди спостереження. За тестування на дафніях переважно визначається їхнє виживання або іммобілізація (досягнення стану нерухомості). З 1-ої до 4-ої доби (найчастіше впродовж двох діб) за чітко вираженою тест-реакцією організмів виявляють гостру, а починаючи з 7-ої доби, — хронічну токсичність [2, 3]. У цибулі як тест-реакцію використано зниження (інгібування) росту корінців з 1-ої до 5-ої доби (найчастіше впродовж трьох діб). Тобто хронічну токсичність у цьому випадку взагалі не визначають. Проте біотестування токсичності ДВ може бути здійснено й за інших умов [3].

У проведеному нами біотестуванні ДВ на гостру та хронічну токсичність були визначені такі показники: кількість активних та іммобілізованих дафній і довжина кореневого пучка цибулі. На основі цих показників розраховували індекси токсичності ДВ у одні і ті ж самі терміни для тваринної і рослинної форм.

Результати біотестування токсичності ДВ р. Тетерів та Денишівського водосховища на дафніях наведено в табл. 1.

Отримані дані засвідчили гостру та хронічну токсичну дію на дафній складових ДВ, відібраних у Денишівському водосховищі. Під час біотестування індекс токсичності цих ДВ мав тенденцію до зростання і в кінці досліджень досягав значення, яке вказує на існуван-

Таблиця 1

Біотестування токсичності донних відкладів на *D. magna* ($n = 20$)

| Доба досліді/індекс токсичності води (T) | Кількість активних дафній: | | | | | |
|--|----------------------------|-----|----------------|-------|--------|-------|
| | Контрольна група (К) | | Дослідні групи | | | |
| | | | Д1 | | Д2 | |
| | особин | % | особин | % | особин | % |
| 1 | 20 | 100 | 10 | 50,00 | 14 | 70,00 |
| T_1 | — | | 50,00 | | 30,00 | |
| 8 | 20 | 100 | 8 | 40,00 | 12 | 60,00 |
| T_8 | — | | 60,00 | | 40,00 | |
| 15 | 19 | 95 | 6 | 31,58 | 10 | 52,63 |
| T_{15} | — | | 68,42 | | 47,37 | |
| Кількість дафній, які дали потомство | 15 | 75 | 4 | 20 | 7 | 35 |
| Іммобілізованих дафній | 1 | 5 | 14 | 70 | 10 | 50 |
| У т.ч. загиблих дафній | — | — | 10 | 50 | 6 | 30 |

ня середнього рівня токсичності. Це не дивно, оскільки донна частина водосховищ (бенталь), особливо та, що контактує з мертвим об'ємом та прилеглою до нього літораллю, вважається надзвичайно забрудненою. Навіть коли у водосховищах відбуваються процеси самоочищення, вони стосуються насамперед відновлення стану водних мас, у тому числі за рахунок осадження деяких речовин на дно. Фактично механізм самоочищення вод полягає в забрудненні бенталі і пов'язаний з подальшим формуванням донних відкладів. І якщо накопичення ґрунту, утворені на дні водосховища, яке експлуатується тривалий час, не виявляють гострої токсичної дії по відношенню до чутливих тест-об'єктів або вони мають найнижчий рівень токсичності (50%), як у нашому випадку, то хронічну дію вони, без сумніву, повинні мати. Так, ДВ водосховища на 8-му і 15-ту добу мали індекси токсичності значно більші (на 10 та 18,42% відповідно) за 50%. Донні відклади, які відібрали в р. Тетерів за 50 м нижчу від греблі водосховища, гострої та хронічної токсичної дії на дафній не виявили. Проте на 15-ту добу за індексом токсичності (47,37%) вони майже досягли межі небезпечності — 50%.

Аналізуючи реакцію дафній з різних груп на токсичну дію ДВ, з'ясували, що найменшу кількість іммобілізованих особин виявлено на контролі, а найбільшу — в дослідній групі Д1. Загиблих дафній серед іммобілізованих у групі Д1 було на 40% більше порівняно з Д2. А кількість дафній, які дали потомство, була, навпаки, на 42,86% більшою в групі Д2, ніж у Д1. Отже, токсичність донних відкладів з водосховища, за відсутності в ньому активного руху води, вища

для дафній порівняно з токсичністю річкових ДВ, які постійно омиваються водним потоком.

Подібна тенденція, хоч і менш чітко виражена, спостерігалася за біотестування токсичності ДВ на цибулі (табл. 2).

На першу добу досліджень кореневий пучок у цибулин найкраще сформувався на контролі, а в дослідних групах корінці достатньо ще не відросли, проте найдовший корінець за існування декількох менших все ж таки виміряти вдалося. У групі Д1 індекс токсичності в цей час хоча й не досяг межі 50%, проте мав тенденцію наближення до неї і був на 41,18% вищим порівняно з групою Д2. Незважаючи на цю різницю між групами, гострої токсичної дії ДВ по відношенню до розвитку кореневого пучка цибулі впродовж першої доби досліджень виявлено не було. Тому проводити біотестування їхньої токсичності в такий ранній термін недоцільно, тим більше, що вимірювати маленькі за розміром корінці незручно.

На 8-му добу експерименту виявлено хронічну токсичність ДВ щодо процесів росту кореневої системи цибулин. В обох дослідних групах ріст корінців цибулі загальмувався внаслідок небезпечного впливу складових ДВ. Так, середня довжина кореневого пучка в групі Д1 поступалась його довжині на контролі (майже вдвічі) та в групі Д2 (на 33,55%). Відповідно індекс токсичності донних відкладів у групі Д1 досягав 56,94%, а в групі Д2 був на 41,08% нижчим. Разом з тим чітко виражених порушень розвитку корінців (формування поодиноких корінців замість кореневого пучка та ін.) на цьому етапі ще неможливо було виявити, однак це вдалося зробити на 15-ту добу, в період, коли

Таблиця 2

Біотестування токсичності донних відкладів на *A. сера* (n = 20)

| Доба дослід/індекс токсичності води (T) | Середня довжина кореневого пучка: | | | | | |
|---|-----------------------------------|-------|----------------|-------|-------|-------|
| | Контрольна група (К) | | Дослідні групи | | | |
| | | | Д1 | | Д2 | |
| | см | % | см | % | см | % |
| 1 | 0,40 | 3,73 | 0,23 | 57,50 | 0,30 | 75,00 |
| T ₁ | — | | 42,50 | | 25,00 | |
| 8 | 6,20 | 57,78 | 2,67 | 43,07 | 4,12 | 66,45 |
| T ₈ | — | | 56,94 | | 33,55 | |
| 15 | 10,73 | 100 | 4,10 | 38,21 | 6,38 | 59,46 |
| T ₁₅ | — | | 61,79 | | 40,54 | |
| Цибулин з порушенням розвитку корінців | — | — | 2 | 10 | 1 | 5 |

спостерігалися, крім того, найбільші значення індексу токсичності ДВ (у групі Д1 — на 61,79% і у групі Д2 — на 34,39% нижче).

Використання дафній і цибулі як тест-об'єктів дало змогу запропонувати спосіб визначення токсичності ДВ, що істотно спрощує техніку, скорочує термін та розширює можливості біотестування порівняно з іншими методами, які застосовуються для оцінювання небезпечності ДВ. Так, визначення тест-ознаки довжини кореневого пучка більш придатне для розрахунку індексу токсичності ДВ, ніж традиційне вимірювання довжини всіх корінців кожної цибулини. За відсутності гострої токсичності ДВ за тестування на цибулі такий підхід дає змогу порівняно швидко (на 8-му добу) виявляти їхню короткотривалу хронічну токсичну дію. До того ж висока чутливість дафній до шкідливих складових ДВ дає можливість протягом першої доби досліджень виявляти їхню гостру токсичність, а на 8-му так само, як і на цибулі, — короткотривалу хронічну токсичність.

Отже, для оцінювання гострої та короткотривалої хронічної токсичності донних відкладів водосховищ запропоновано використовувати тест-реакцію іммобілізації дафній на 1-шу і 8-му добу біотестування та тест-реакцію інгібування росту кореневого пучка цибулі на 8-му добу. У подальших дослідженнях кореневу систему цибулі доцільно використати також для виявлення цито- та генотоксичності ДВ, адже до їхнього складу можуть входити мутагени та канцерогени.

ВИСНОВКИ

Для визначення токсичності донних відкладів (ДВ) водосховища Денишівського та річки Тетерів використано тест-об'єкти дафнія magna (*D. magna*) і цибуля звичайна (*A. cepa*). На підставі реакцій організмів (іммобілізації дафній та інгібування росту кореневого пучка цибулі) розраховано індекси токсичності водних витяжок ДВ, за значеннями яких продемонстровано вищу чутливість дафній порівняно з цибулею до токсичних компонентів

ДВ, що була особливо відчутною на 1-шу добу досліджень. Тому виявлення гострої токсичної дії ДВ запропоновано проводити виключно на дафніях. Хронічна токсична дія ДВ може бути визначена за значно меншої різниці в чутливості дафній і цибулі на 8-му та 15-ту добу, проте її доцільно виявляти за показником короткотривалої хронічної токсичності на 8-му добу досліджень, що суттєво скоротить термін та працемісткість тестування порівняно з довготривалими хронічними біотестами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Линник П.Н. Донные отложения водоёмов как потенциальный источник / П.Н. Линник // Гидробиологический журнал. — 1999. — Т. 35. — № 2. — С. 97–108.
2. Измайлова Н.Л. Биотестирование и биоиндикация состояния водных объектов: учеб.-методич. пособие к лабораторным работам по прохождению учебной (ознакомительной) практики / Н.Л. Измайлова, О.А. Ляшенко, И.В. Антонов / СПбГТУРП. — СПб., 2014. — 52 с.
3. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. — М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. — 118 с.
4. Water quality. Determination of long-term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*): ISO 10706: 2000. — 26 p.
5. Zooplankton (*Cladocera*) species turnover and long-term decline of *Daphnia* in two high mountain lakes in the Austrian Alps / L. Nevalainen, M. Ketola, J.B. Korosi et al. // Hydrobiologia. — 2014. — Vol. 722 (1). — P. 75–91.
6. Цитофізіологічна експрес-оцінка токсичності води (Біотестування): СТП 17-08 (Методика) / Затв. комунальним підприємством «Житомирводо-канал». — [Чинний від 10.09.2008 р.]. — Житомир, 2008. — 15 с.
7. Lampert W. Limnoecology / W. Lampert, U. Sommer / Oxford University Press: Oxford, New York, 2007. — 324 p.
8. Bottom-up control of whitefish populations in ultra-oligotrophic Lake Brienz / R. Müller, M. Breitenstein, M. Bia et al. // Aquatic Sciences. — 2007. — Vol. 69. — P. 271–288.