

УДК 577.34:574.64:504.062

© 2018

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ВОД ПОВЕРХНЕВИХ ДЖЕРЕЛ ВОДОПОСТАЧАННЯ НА ALLIUM SERA L. З ВИКОРИСТАННЯМ ЦИФРО-ФОТО-ХРОМ-АНАЛІЗУ

Е.О. Аристархова

кандидат біологічних наук

Житомирський національний агроекологічний університет

Старий бульвар, 7, м. Житомир, 10008, Україна; e-mail: ella.aryst@gmail.com

Надійшла 08.06.2018

Мета. Обґрунтувати доцільність використання коефіцієнта хлорофілу (КХ), визначеного у листках цибулі звичайної (*A. сера*) за допомогою цифро-фото-хром-аналізу (ЦФХА), для біотестування токсичності вод поверхневих джерел водопостачання. **Методи.** Застосовано методи біологічного тестування (*Allium*-тест), технологію ЦФХА за КХ, кореляційний та регресійний аналізи. **Результати.** Модифікація *Allium*-тесту завдяки визначенню КХ у листках цибулин замість вимірювання довжини їх корінців для оцінювання якості вод була цілком виправданою і підтвердила наявність вірогідного прямолінійного зв'язку між цими показниками, а також розрахованими на їх основі значеннями індексів токсичності, вищих за 50%. **Висновки.** У проведених дослідженнях підтверджено можливість біотестування вод поверхневих джерел водопостачання з використанням КХ, визначеного на 8-му добу за технологією ЦФХА у листках цибулі звичайної (*A. сера*), який виявився в умовах КП «Житомирводоканал» чутливішим (індекс токсичності у групі Д1 – 55,96, Д2 – 53,18%) до забруднень у короткотривалому хронічному досліді порівняно із показником довжини кореневого пучка (54,72 та 52,07% відповідно). Незважаючи на те, що застосування ЦФХА потребує значних матеріальних витрат, використана технологія є інформативнішою (у середньому на 4,12%) та менш трудомісткою (у середньому на 44,86%), ніж вимірювання корінців у кожній цибулині з тривалою обробкою отриманих даних. **Визначати КХ у листках цибулі можна не лише для оцінювання якості води в умовах водоканалів та очисних станцій, а й для оптимізації водопідготовки з використанням знезаражувачів та інших реагентів.**

Ключові слова: біотестування, *Allium*-тест, індекс токсичності, довжина кореневого пучка, коефіцієнт хлорофілу, хронічна токсична дія.

<https://doi.org/10.31073/agroviznyk201807-10>

Забруднення вод поверхневих джерел водопостачання щороку стає все небезпечнішим через кліматичні зміни, що призводять до підвищення концентрації токсичних речовин у воді зі зростанням середньорічної температури, а також з прогресуючим

збільшенням антропогенного навантаження на водойми, особливо несанкціонованими стоками [1]. Ці проблеми якості вод, що за своїм призначенням мають бути достатньо чистими, виникають в Україні на фоні застарілих нормативних показників, які

допускають некомфортні умови існування багатьох видів гідробіонтів і не відповідають нормативам ЄС [1, 2]. Тому поряд із аналітичними методами визначення стану призначених для водопідготовки вод актуальності набуває використання біологічного тестування, методу біомоніторингу, який дає змогу досить швидко та ефективно встановлювати рівні водної токсичності щодо біоти [3–7].

Як свідчить проведений багатьма дослідниками аналіз показників, що використовуються у біомоніторингових дослідженнях, на особливу увагу щодо визначення якості поверхневих вод заслуговують біохімічні реакції організмів, які вважаються одними з найчутливіших до дії забруднювачів [7–9]. За біотестування загальної токсичності вод на рослинних організмах найпоширенішою біохімічною тест-реакцією є інтенсивність накопичення хлорофілу або його вміст у хлоропластах. Для такого біотестування застосовують нижчі (фітопланктон) і вищі (ряску) водяні рослини. До того ж техніка проведення біотестування за вмістом хлорофілу може бути удосконалена завдяки його визначенню у листках вищих наземних рослин, на яких традиційно проводиться тестування вод різного походження [8, 9]. Як тест-об'єкти вони значно зручніші та дешевші, ніж водяні рослини, не потребують витрат на культивування та ін. Ці переваги має цибуля звичайна *Allium sepa* L., цибулини якої можна за відповідного температурного, вологісного та світлового режимів зберігати для лабораторних досліджень упродовж року.

Для застосування тест-реакції на накопичення хлорофілу у листках цибулі за виявлення токсичності води потрібно модифікувати загальновідомий *Allium*-тест [10], отримавши для біотестування не тільки сформовану кореневу систему, а й пророщене листя цибулин. Тобто провести дослід, у якому буде виявлено різницю між накопиченням хлорофілу в листках цибулин, що містилися під час експозиції у забрудненій та чистій водах. Крім того, вміст хлорофілу можна визначати, застосовуючи альтернативний підхід — з використанням цифро-фото-хром-аналізу за коефіцієнтом хлорофілу (КХ) (C^* , %) [9], що забезпечить

зменшення трудомісткості та часу проведення експерименту порівняно з аналітичними методами.

Мета досліджень — обґрунтування доцільності використання КХ, визначеного у листках цибулі звичайної (*A. sepa*) за допомогою цифро-фото-хром-аналізу (ЦФХА), для біотестування токсичності вод поверхневих джерел водопостачання.

Матеріали і методи досліджень. Експериментальні дані щодо токсичності вод поверхневих джерел водопостачання м. Житомира отримували за методиками біотестування на цибулі звичайній [3–5, 8–10]. Використані у дослідженні цибулини були аналогами за розміром ($d=3\pm 0,5$ см). Для визначення якості вод сформували 3 групи — контрольну та 2 дослідні ($n=20$). Проби води відбирали у вересні 2014 р. у кількості 1 dm^3 на групу один раз на добу за загальноприйнятими методиками [3]. Цибулини занурювали кореневою частиною у пробірки з водою на 8 діб. Показники росту цибулі звичайної оцінювали вимірюванням довжини кореневого пучка та відростлого листя, а накопичення хлорофілу листям цибулі визначали за допомогою ЦФХА [9], завершивши дослідження. Тестування проб води у 3-разовій повторюваності здійснювали із щоденною заміною використаної води на воду відповідної якості.

Дослідження проводили за такою схемою:

- *контрольна група* — проби дехлорованої (24 год) водопровідної води;
- *дослідна група Д1*: проби води — з водосховища Денишівського;
- *дослідна група Д2*: проби води — з водозабору Відсічне.

Біотестування — за КХ (C^* , %) у листках цибулі на 8-му добу досліджень.

Тест-об'єкти: цибулини цибулі звичайної (*A. sepa*).

Індекс токсичності вод, який не має перевищувати 50%, розраховували за результатами тестування, використовуючи загальноприйнятну формулу [6].

Результати досліджень. Для характеристики вмісту хлорофілу у хлоропластах клітин особливе значення має КХ, показник, який використовують для визначення ступеня поглинання рослинною поверхнею синьої та червоної складових спектра

світла. Визначення КХ за допомогою ЦФХА дає змогу уникнути помилок суб'єктивного сприйняття кольору людським оком за нерівномірного освітлення та швидко провести оцінювання як окремих частин рослин (листка, стебла, щитка та ін.), так і рослинного угруповання на певній території або акваторії [9].

Виявлення різниці у забарвленні рослин за технологією ЦФХА можна використати для порівняння забруднених і чистих вод на цибулі звичайній (*A. сера*). Так, у водах поверхневих джерел водопостачання м. Житомира деякі забруднювальні речовини були в концентраціях, що гальмували фотосинтетичні процеси у листках цибулі, внаслідок чого у дослідних групах спостерігалися нижчі значення КХ, ніж на контролі (рисунок).

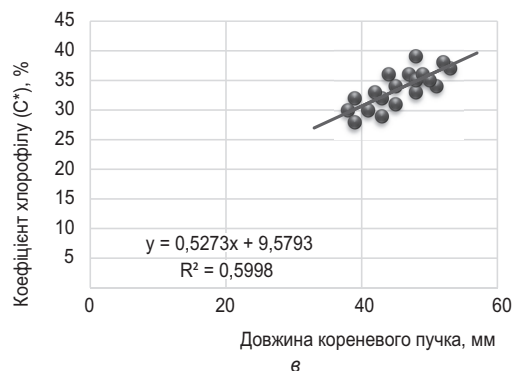
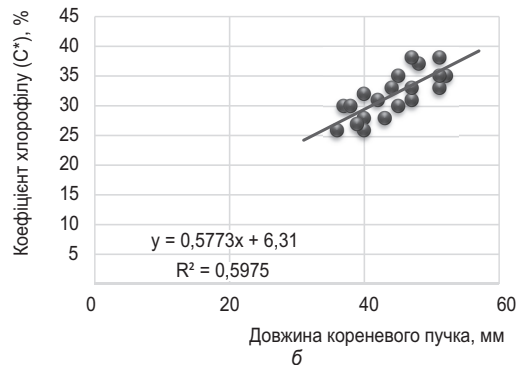
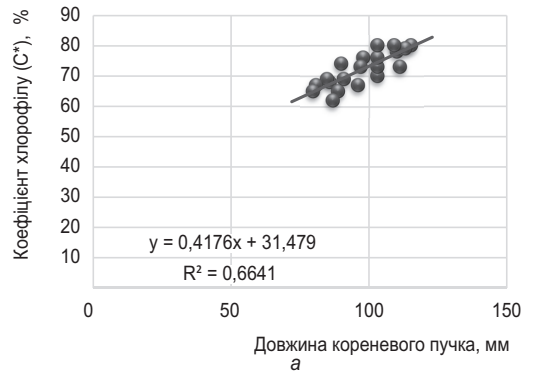
Для визначення доцільності застосування КХ замість тест-реакції росту корінців, яка фіксується у цибулі звичайної за біотестування якості води, було проведено регресійний та кореляційний аналізи, у яких виявлено пряму лінійну регресію та високу вірогідну кореляцію між цими показниками. Тобто було встановлено, що значення КХ у листках цибулі істотно залежить від довжини її кореневого пучка (найбільшу силу впливу виявлено нами на контролі — 66,41, у дослідних групах Д1 — 59,75 і Д2 — 59,98%).

Отже, відповідно до одержаних даних, чим швидше росла коренева система цибулин, тим більшою мірою синтезувався хлорофіл у відрослих листках із моменту їх з'явлення і до завершення досліджень на 8-му добу. Крім того, індекси токсичності дослідних вод, визначені за КХ, хоч і незначно, однак були вищими, ніж індекси, встановлені за показником довжини кореневого пучка (таблиця).

Отримані дані свідчать на користь застосування у біологічному тестуванні токсичності вод КХ, визначеного у листках цибулі, який є показником, чутливішим до дії забруднювальних речовин, ніж довжина корінців. Проведення ЦФХА потребує дещо більших матеріальних витрат, оскільки ціна програмного забезпечення становить понад 60 тис. грн і має тенденцію до зростання на відміну від вимірювання за допомогою лінійки корінців цибулі. Проте використана технологія порівняно з наявною є більш

інформативною та менш трудомісткою, не потребує тривалі обробки отриманих даних, а витрати на неї є одноразовими.

Отже, модифікація *Allium*-тесту завдяки визначенню КХ замість вимірювання довжини корінців для оцінювання якості мало



Залежність між довжиною кореневого пучка цибулі та коефіцієнтом хлорофілу у її листках на 8-му добу досліджень за біотестування проб води: а — контроль; б — із водосховища Денишівського; в — із водозбору Відсічне р. Тетерів

Показники токсичності вод поверхневих джерел водопостачання м. Житомира, тривалість їх визначення та кореляційний зв'язок довжини кореневого пучка цибулі з КХ у її листках (n=20)

Показники	Дослідні групи		
	К (відстояна водопровідна вода)	Д1 (водосховище Денишівське)	Д2 (водозабір Відсічне)
ІТ _{ДКП} , %	—	54,72	52,07
ТВП, год	6,0	6,0	5,8
ІТ _{КХ} , %	—	55,96	53,18
ТВП, год	3,1	3,5	3,2
Коефіцієнт кореляції (r)	0,8149±0,1366**	0,7730±0,2470*	0,7745±0,2327*

Примітки: ІТ — індекс токсичності; ТВП — тривалість визначення показника; ДКП — довжина кореневого пучка цибулі; КХ — коефіцієнт хлорофілу у листках цибулі; вірогідність кореляційного зв'язку: * P≤0,01; ** P≤0,001.

забруднених вод є цілком виправданого і підтверджується наявністю вірогідного прямолінійного зв'язку між цими показниками,

а також розрахованими на їх основі значеннями індексів токсичності дослідних вод, що виявилися більшими за 50%.

Висновки

У проведених дослідженнях підтверджено можливість біотестування вод поверхневих джерел водопостачання з використанням КХ, визначеного на 8-му добу за технологією ЦФХА у листках цибулі звичайної (*A. сера*), який виявився в умовах КП «Житомирводоканал» чутливішим (індекс токсичності у групі Д1 — 55,96, Д2 — 53,18%) до забруднень у короткотривалому хронічному досліді порівняно із показником довжини кореневого пучка (54,72 та 52,07% відповідно). Незважаючи на те,

що застосування ЦФХА потребує значних матеріальних витрат, використана технологія є більш інформативною (у середньому на 4,12%) та менш трудомісткою (у середньому на 44,86%), ніж вимірювання корінців у кожній цибулині з тривалою обробкою отриманих даних. Визначення КХ у листках цибулі може бути застосовано не тільки для оцінювання якості води в умовах водоканалів та очисних станцій, а й для оптимізації водопідготовки з використанням знезаражувачів та інших реагентів.

Аристархова Э.А.

Житомирский национальный агроэкологический университет, Старый бульвар, 7, г. Житомир, 10008, Украина; e-mail: ella.aryst@gmail.com

Определение токсичности вод поверхностных источников водоснабжения на *Allium* сера L. с использованием цифро-фото-хром-анализа

Цель. Обосновать целесообразность использования коэффициента хлорофилла (КХ), определенного в листьях лука обыкновенного (*A. сера*) с помощью цифро-фото-хром-анализа (ЦФХА), для биотестирования токсичности вод поверхностных источников водоснабжения.

Методы. Использованы методы биологического тестирования (*Allium*-тест), технология ЦФХА по КХ, корреляционный и регрессионный анализы. **Результаты.** Модификация *Allium*-теста

за счет определения КХ в листьях лукович вместо измерения длины их корешков для оценивания качества вод была целиком оправдана и подтвердила наличие достоверной прямой линейной связи между этими показателями, а также рассчитанными на их основе значениями индексов токсичности, более высоких, чем 50%. **Выводы.** В проведенных исследованиях подтверждена возможность биотестирования поверхностных источников водоснабжения с использованием КХ, определенного на 8-е сутки по технологии ЦФХА в листьях лука обыкновенного (*A. сера*), который оказался в условиях КП «Житомирводоканал» более чувствительным (индекс токсичности в группе Д1 — 55,96, Д2 — 53,18%) к загрязнениям в кратковременном хроническом опыте по сравнению с показателем длины кореневого пучка (54,72 и 52,07%

соответственно). Несмотря на то, что использование ЦФХА требует значительных материальных затрат, предложенная технология является более информативной (в среднем на 4,12%) и менее трудоемкой (в среднем на 44,86%), чем измерение корешков у каждой луковицы со значительно более длительной обработкой полученных данных. Определять КХ в листьях лука можно не только для оценивания качества воды в условиях водоканалов и очистных станций, но и для оптимизации водоподготовки с применением обеззараживателей и других реагентов.

Ключевые слова: биотестирование, *Allium test*, индекс токсичности, длина корневого пучка, коэффициент хлорофилла, хроническое токсическое действие.

<https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201807-10>

Aristarhova E.

Zhytomyr national agroecological university, Staryi buleward, 7, Zhytomyr, 10008, Ukraine; e-mail: ella.aryst@gmail.com

Toxicity assessment of waters of surface sources of water service on *Allium cepa* L. with the use of digital-photo-chromium-analysis

The purpose. To justify expediency of use of factor of chlorophyll pigment (FCP), determined in onion leaves (*A. cepa*) by means of digital-photo-chromium-analysis (DPCA), for biotesting toxicity of waters of surface sources of water service. **Methods.** Biological testing (*Allium-test*), technique of DPCA by FCP, correlation and regression

analysis. **Results.** Modification of *Allium-test* due to determination of FCP in leaves of bulbs instead of measurement of length of their little roots for assessment of quality of waters has been entirely justified and has confirmed presence of reliable rectilinear link between these indexes, and also the values of indexes of toxicity calculated on their basis (higher, than 50%). **Conclusions.** In the researches the opportunity is confirmed of biotesting surface sources of water service with the use of FCP, determined on the 8th day using DPCA technique in leaves of onion (*A. cepa*) which has appeared in conditions of CE «Zhytomyrvodokanal» more sensitive (index of toxicity in group D1 — 55,96, D2 — 53,18%) to pollution in short-term chronic experiment in comparison to index of length of rooted bunch (54,72 and 52,07% accordingly). In spite of the fact that use of DPCA demands significant material inputs, the offered technique is more informative (on the average on 4,12%) and less labor-consuming (on the average on 44,86%) than measurement of little roots at each bulb with much longer processing the gained data. To determine FCP in leaves of onion it is possible not only for assessment of quality of water in conditions of water canals and sewage disposal plants, but also for optimization of water treatment with application of disinfectants and other reagents.

Key words: biotesting, *Allium-test*, index of toxicity, length of rooted bunch, factor of chlorophyll pigment, chronic toxic effect.

<https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201807-10>

Бібліографія

1. Стецюк Л.М. Використання методів біоіндикації та біотестування для оцінки стану водних екосистем. Вісник Національного університету водного господарства та природокористування. Вип. 2 (62). Сільськогосподарські науки, 2013. С. 175–181.
2. Аристархова Е.О. Оптимізація *Allium-test* для експрес-оцінки токсичності вод поверхневих джерел водопостачання. Агроєкологічний журнал. 2017. № 3. С. 50–54.
3. Пат. 10804 А Україна, МПК G 01 N 33/18; G 01 N 21/76. Спосіб комплексного визначення генетичної безпечності питної води. В.В. Гончарук; заявник та патентовласник В.В. Гончарук; заявл. 5.11.2015, опубл. 11.04.2016. Бюл. № 7.
4. Arkhipchuk V.V., Garanko N.N., Stoika Yu.A. Mercury, metolachlor, and 4-nitroquinoline-N-oxide cytotoxicity for *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and *Hydra attenuata* cells. 10th International Symposium on Toxicity Assessment Quebec City, Quebec, Canada, 26–31 August, 2001: book of abstracts. Quebec, Canada, 2001. P. 24.
5. Arkhipchuk V.V., Malinovskaya M.V., Garanko N.N. Cytogenetic study of organic and inorganic toxic substances on *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and

Hydra attenuata cells. *Environmental Toxicology and Water Quality*. 2000. V. 15, № 4. P. 338–344.

6. Скок С.В. Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування. Агроєкологічний журнал. 2015. № 2. С. 26–30.

7. Осмалений М.С., Головков А.М., Нанієва А.В., Верголяс М.Р. Комплексна оцінка токсичності водних зразків за допомогою рослинних і тваринних тест-організмів. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015. Т. 16. С. 74–77.

8. Валиев Р.Ш., Ольшанская Л.Н., Иванченко Л.С. Оценка содержания хлорофиллов в листьях рясковых и на основе анализа фотоизображений для контроля качества воды. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. Биология*. № 1 (17). 2017. С. 59–70. doi: 10/21685/2307-9150-2017-1-7.

9. Nowick W. To the optimum plant treatment with phytohormones, defines by DPCA (Digital–Photo–Chrom–Analyse). *Acta Biochimica Polonica*. 2007. V. 54, № 1. P. 31.

10. Fiskesjo G. The *Allium test* — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Res*. 1988. V. 197. P. 243–260.