

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

УДК 581.5.621.571

НОВИЙ ПІДХІД ДО БІОІНДИКАЦІЇ ТОКСИКАНТІВ У ДОВКІЛЛІ

Горецький О.С.¹, Злотін О.З.², Маркіна Т.Ю.², Дехтярьова О.О.³

Донецький національний університет¹

*Харківський національний педагогічний університет
імені Г.С. Сковороди²*

Харківський гуманітарно- педагогічний інститут³

Запропоновано новий підхід до біоіндикації токсикантів у довкіллі, який полягає у використанні рослини-поглинача (накопичувача) токсикантів з води, ґрунту, повітря (шовковиця біла) та універсального тест-об'єкту біоіндикації – гусениць шовковичного шовкопряда. Завдяки високій чутливості гусениць-«мурашів» до дії токсикантів доведена ефективність застосування нового підходу.

Ключові слова: біоіндикація, токсиканти, тест-об'єкт, шовковичний шовкопряд, *Morus alba* L.

New approach to bioindication of toxicants in environment. Goretsky O.S., Zlotin O.Z., Markina T.Ju., Dehtyaryova O.O. – New approach to bioindication of toxicants in environment is suggested. It consists in usage of plants for accumulation of toxicants from water, soil, air (*Morus alba* L.) and universal test-object of bioindication – neonated larvae of *Bombyx mori* L., which is very sensitive to toxicants. High effectiveness of new approach has been proved.

Key words: bioindication, toxicants, *Bombyx mori* L., *Morus alba* L.

ВСТУП

Останнім часом бурхливий розвиток людства призвів до небезпечного забруднення довкілля пестицидами, пластмасами, продуктами побутової хімії та харчовими домішками. Значно зросло забруднення довкілля викидами промислових та сільськогосподарських підприємств та автотранспорту (солі важких металів, хлоровані вуглеводи, чадний газ, оксиди азоту, цементний пил, азбест та інші.) [3; 11]. У східних індустріальних районах України техногенне забруд-

нення досягло такого небезпечного рівня, що ставить під загрозу здоров'я населення всього регіону [8]. Серед забруднювачів техногенного походження найбільшу небезпеку становлять токсиканти, особливо інсектициди та солі важких металів. Завдяки значній рухомості та високій біологічній активності вони активно включаються в кругообіг речовин і за ланцюгами живлення надходять в організм свійських тварин та людини, що викликає важкі розлади у функціонуванні організму (гострі або хронічні захворювання життєво важливих органів, поява злоякісних новоутворень, порушення роботи імунної системи та ін.) [3].

Визначення токсикантів у навколишньому середовищі потребує складного обладнання та дорогих реактивів, що робить цей процес витратним [1]. В останні роки зусилля багатьох наукових установ спрямовані на розробку методів біологічної індикації токсикантів у довкіллі. На нашу думку, безумовна перевага повинна бути віддана методам активної біоіндикації токсикантів із використанням певних тест-об'єктів [2; 4; 5; 8].

Тільки активна біоіндикація дає змогу швидко виявити присутність токсикантів у довкіллі і прийняти певні заходи щодо мінімізації їх шкідливого впливу на людину та навколишнє середовище. Але для забезпечення робіт з біоіндикації з використанням тест-об'єкту необхідно мати його у певній кількості та у певному фізіологічному стані в будь-який час. При цьому необхідно враховувати біологічні особливості тест-об'єкту. Так для біоіндикації стану води це повинен бути організм-гідробіонт, якого утримують у вигляді постійної культури, для визначення забруднення ґрунтів — представник педофауни (педофлори), який постійно культивується. Такі обставини значно ускладнюють процес біоіндикації забруднень токсикантами довкілля.

Нами вперше було запропоновано новий підхід до процесу біоіндикації токсикантів у довкіллі, який не має вище зазначених недоліків. Суть його полягає у тому, що у якості біоіндикатора наявності токсикантів у довкіллі використовують Шовковицю білу (*Morus alba* L.) як рослину — поглинача токсикантів, а тест-об'єктом слугують гусениці-«мураші» шовковичного шовкопряда (*Bombyx mori* L.).

Використання гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда не потребує підтримки культури, так як біоматеріал доступний протягом всього року, а гусениці-«мураші» здатні жити без їжі 3-4 доби (час достатній для визначення наявності токсиканту). Вони надзвичайно чутливі до дії токсикантів, що дає змогу визначення токсикантів з точністю, яка не поступається інструментальним методам. При

визначенні інсектицидів можливо отримати навіть більш достовірні результати у зв'язку з тим, що гусениці дозволяють визначати навіть токсичний ефект, в той час, як інструментальні методи – тільки певні сполуки. А з часом зазвичай у довкіллі знаходяться токсичні деривати, а не первинні токсичні сполуки.

У запропонованому нами підході присутність токсикантів визначають порівнюючи загибель гусениць-«мурашів» з контрольним варіантом (без токсикантів).

У зв'язку з вищевказаним метою нашого дослідження була експериментальна перевірка ефективності використання запропонованого підходу для біоіндикації стану довкілля.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для проведення біоіндикації забруднення води солями важких металів за допомогою гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда породи Б-Іполіпшена (Б-І пол) були відібрані проби води з джерел, що містили такі солі важких металів: кобальт, цинк, кадмій, мідь, а також зразок із вмістом суміші цих солей. У контролі використовували питну воду.

У колби наливали по 1 л води і вмішували по 3 пагони (35-40 см завдовжки) шовковиці з листям на 2 доби.

У подальшому гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда протягом трьох діб (1 раз на добу) годували листям шовковиці з відповідних варіантів. Після чого гусінь не годували і вмішували у холодильну камеру при +5 °С. Щоденно проводили облік загиблих гусениць, починаючи з першого дня годівлі. Повторність кожного варіанту – триразова, по 58 (25мг) гусениць у повторності.

Для біологічної оцінки забруднення ґрунтів солями важких металів були відібрані зразки піску з кар'єру (по три повторності на варіант), масою 1 кг кожний. Зразки вмішували у дерев'яні ящики, кожна повторність окремо. Вміст солей важких металів у зразках піску був у межах ГДК (фонове значення). Для нікелю – 2 мг/кг, кобальту – 2мг/кг, цинку – 4 мг/кг.

У подальшому ґрунт зволожували з розрахунку 400 мл розчину солей важких металів, що містив (відповідно до варіантів): нікель 4-8, кобальт 4-8, цинк 4-8, кадмій 4-8 мг/л. Контрольний варіант зволожували дистильованою водою. Однорічні саджанці шовковиці у травні відбирали на плантації і висаджували по чотири рослини в ящик. Після появи на них двох справжніх листків залишали по три рослини у ящику. Гусениць-«мурашів» годували листям один раз на

день, спостерігаючи за їх загибеллю. У дослідях було використано породу Б-1 пол. Усі повторності кожного варіанту налічували по 68 особин.

З метою визначення забруднення середовища інсектицидами лист з плантацій шовковиці, розташованих поряд з полем, яке обробляли проти комах (колорадського жука) розчином інсектициду Marshal (Маршал) 250ЕС у концентрації 0,01% по діючій речовині з можливим заносом інсектициду на шовковицю, давали гусеницям-«мурашам» шовковичного шовкопряда один раз і спостерігали за їх загибеллю. Паралельно брали три розчини препарату Marshal (Маршал) 250ЕС (0,01%, 0,001%, 0,0001%) і теж давали гусеницям-«мурашам» для визначення приблизної кількості інсектициду, що потрапив на лист шовковиці при обробці (один раз). Повторність досліду трикратна по 58 гусениць-мурашів у кожній. У контролі брали чистий лист шовковиці, обприсканий кип'яченою водою. Облік загибелі проводили до початку загибелі гусениць у контролі. Гусинь-«мурашів» утримували при +25°C і вологості повітря 75%. Досліди проводили протягом 2007-2009 років.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

До наших досліджень були відомі деякі способи визначення техногенного забруднення вод солями важких металів за допомогою хімічного аналізу [1; 9]. Найбільш поширеним серед методів біоіндикації є спосіб біотестування води з використанням у якості тест-об'єкту дафній (*Daphnia magna* Staus). Недоліком даного способу є той факт, що дафнії недостатньо стійкі до дії токсикантів різних груп, і токсичність вод оцінюється опосередковано. Крім того підтримання культури дафній досить працевитратне [6].

У якості прототипу в наших дослідженнях було використано спосіб оцінки забруднення вод солями важких металів, який заснований на оцінці виникаючих у воді, що тестується, змін поведінкових реакцій, спеціально виведених шляхом близькородинного схрещування в стандартних «екологічно чистих» умовах молюсків *Ampula Gigas*. [7]. Основним недоліком прототипу є необхідність постійної підтримки культури молюсків, що досить витратно, необхідність великої кількості тест-організмів при серійному проведенні робіт, багаторазових повторних вимірів і послідууючої складної і працевитратної статистичної обробки даних.

Метою нашого дослідження було підвищення точності визначення і технологічності проведення біоіндикації солей важких

металів, зменшення витрат на її проведення, а також підвищення репрезентативності результатів контролю. На нашу думку, запропонований нами спосіб відповідає поставленій меті.

У зв'язку з тим, що при оцінці якості води враховується принцип адитивності та спостерігається сумарна негативна дія речовин, що діють в одному напрямку [10], у дослідах були використані проби води з джерел, що містили солі важких металів: кобальт, цинк, кадмій, мідь, а також зразок з вмістом суміші цих солей. У контролі використовували питну воду. У табл.1 знаходяться середні результати спостережень, отримані за трьома серіями дослідів.

Таблиця 1

Вплив солей важких металів на динаміку гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда

Варіант	Концентрація солей важких металів, мг/л	Кількість гусениць, що загинули за днями, шт					
		годовля листям			перебування у холодильнику при +5 °С		
		1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й
Кобальт	19	0	0	0	1,33±0,33	1,33±0,88	17,33±0,88
Цинк	160	0	0	0	5,0±2,52	11,33±2,03	33,33±2,71
Кадмій	10	0	0	0	3,33±0,33	10,33±0,33	30,0±3,21
Мідь	10	0	0	0	1,33±0,33	3,67±1,45	25,0±3,60
Суміш чотирьох солей	19+160+10+ +10+ - Σ199	22,33 ± 2,1	34,33 ± 1,2	1,33 ± 1,0	1,67 ± 0,33	-	-
Контроль	0	0	0	0	0	4,33±1,7	9,33±2,0

Як показують отримані дані, в разі забруднення водних джерел сумішшю солей важких металів у концентраціях, що в 2,5-3 рази перевищують фонові спостерігається ефект адитивності: якщо при забрудненні окремими солями важких металів у перші 3 доби годування загинуть гусениць-«мурашів» не спостерігалась, то у суміші солей за три доби загинуло більш ніж 95% гусениць. У контролі загинуть гусениць не відмічали протягом чотирьох днів, у той час, як у варіанті суміші солей важких металів за цей час загинули всі гусениці.

У результаті проведених досліджень, де в якості сорбенту (поглинача солей важких металів з води) були використані пагони з листям шовковиці білої, а в якості тест-об'єкту – гусениці-«мураші» шовковичного шовкопряда встановлено (табл. 1) ефективність запропонованого методу визначення токсикантів у водних джерелах.

Дослідження ефективності використання вищезазначених об'єктів для проведення визначення наявності в ґрунті солей важ-

ких металів базувалось на раніше розробленому способі біоіндикації стану ґрунтів за допомогою аналізу атипового поліморфізму рослин-індикаторів, що виникає внаслідок структурно трансформованого ефекту пилкових зерен рослин, які відбуваються під впливом солей важких металів. Цей спосіб було взято у якості прототипу.

Поставлене нами завдання вирішувалось за рахунок використання в якості поглиначів солей важких металів з ґрунту саджанців шовковиці білої, а в якості тест-об'єкту — гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда. Спостереження за загибеллю гусениць під впливом солей важких металів наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Вплив вмісту солей важких металів (СВМ) у ґрунті на загибель гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда

Варіанти	Загибель гусениць за днями, шт./%				
	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й
Контроль — вміст СВМ у ґрунті 8 мг/кг	0	0	3/4,4±1,1	14/20,6±1,7	37/54,4±2,5
Вміст СВМ в ґрунті 16 мг/кг	1/1,5±0,3	3/4,4±0,8	28/42,2±1,8	68/100	-
Вміст СВМ в ґрунті 32 мг/кг	1/1,5±0,6	9/13,2±1,1	44/67,7±1,6	68/100	-

З наведених у табл. 2 даних видно, що годівля гусениць-«мурашів» листям однорічних саджанців шовковиці, що росли на ґрунтах, які містять СВМ у кількостях, що в 2-4 рази перевищують фонові значення, призводить до загибелі 100% гусениць на 4-й день, в той час, як загибель у контролі становить лише 20,6%.

Таким чином, однорічні саджанці шовковиці здатні активно поглинати солі важких металів з ґрунту і накопичувати їх в листах. При годівлі ними спостерігається загибель гусениць з першого дня годівлі, в той час, як в контролі перші загибелі гусениць з'явилися лише на 3-й день.

Виходячи з результатів лабораторних дослідів, ми з метою прискорення загибелі гусениць-«мурашів» провели дослід за вказаною схемою, але в якості еталону був взятий ґрунт із вмістом солей важких металів в концентраціях, що у 6 разів перевищує фонову ($4 \times 12 = 48$). Для порівняння було взято стічні води Харківського коксохімічного заводу, якими зволожували ґрунт, в контролі використовували дистильовану воду. Результати дослідів наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Вплив вмісту солей важких металів (СВМ) у ґрунті на загибель гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда

Варіанти дослідів	Кількість загиблих гусениць за днями, шт./%			
	1-й	2-й	3-й	4-й
Контроль — фоновий вміст СВМ 8 мг/кг	0	0	0	0
Ґрунт з солями важких металів 48 мг/кг	0	0	13/26±1,2	68/100
Ґрунт, зволожений стічною водою Харківського коксохімічного заводу	0	9/13±2,3	30/44±1,4	68/100

З наведених даних видно, що вміст СВМ у воді (відповідно і у ґрунті) у зразку з Харківського коксохімзаводу перевищує вміст еталонного зразка. Таким чином, запропонований спосіб біоіндикації є ефективним та технологічно простим у виконанні.

Визначення залишків інсектицидів у довкіллі за допомогою організмів-індикаторів (біоіндикація) має ряд переваг перед хімічними способами визначення і засноване на обліку загибелі або інших фізіологічних реакціях тест-об'єктів, що сигналізують про наявність, накопичення або зміну кількісного чи якісного складу забруднювачів у навколишньому середовищі [2; 8]. Серед переваг необхідно відмітити наступні:

1) висока чутливість методу не залежить від стану інсектициду у субстраті, в разі збереження дериватами (продуктами метаболізму організмів) токсичних властивостей;

2) відносно мала витратність.

Прототипом запропонованого нами способу біоіндикації забруднення середовища інсектицидами був спосіб, який полягав у використанні комах — гусениць шовковичного шовкопряда, яким згодовували лист шовковиці, що містив інсектициди. Спостереження поведінкою та загибеллю гусениць давали змогу робити певні висновки.

Недоліком цього методу є постійна необхідність мати культуру шовковичного шовкопряда, що потребує суттєвих витрат. Крім того відомо, що стійкість гусениць до дії інсектицидів зростає за віком, тому можливі випадки, коли визначити незначну кількість інсектицидів, використовуючи гусениць старших віків, неможливо [5].

Метою даної розробки було усунення відмічених недоліків. Досягається мета тим, що для біоіндикації забруднення середовища інсектицидами запропоновано використовувати гусениць-«мурашів» (гусениця в день виходу з яйця). Існуюча технологія виробництва та

затримки розвитку грені дає можливість отримувати гусениць-«мурашів» у будь-який час у необхідній кількості [10].

Результати досліду з біоіндикації забруднення листа шовковиці інсектицидами за допомогою гусениць-мурашів шовковичного шовкопряда наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Біоіндикація забруднення шовковиці інсектицидами Marshal (Маршал) 250ЕС за загибеллю гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда

Варіанти	Кількість загиблих гусениць, шт.			
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Контроль — чистий лист шовковиці, оброблений кип'яченою водою, разова годівля гусениць-«мурашів»	0	0	0	4,3 ± 1,7
Разова годівля гусениць-«мурашів» листям з плантацій, забруднених інсектицидом	58	-	-	-

З наведених даних видно, що за першу добу загинули всі гусениці, що свідчить про високу чутливість тест-об'єкту для біоіндикації інсектицидів. Загибель у контролі відмічена лише на четверту добу.

Для визначення ступеню забруднення листа шовковиці інсектицидом Marshal був проведений дослід з годівлі гусениць-«мурашів» листям шовковиці, яка була оброблена інсектицидом у трьох концентраціях. Результати дослідження наведені в табл. 5.

Таблиця 5

Загибель гусениць-«мурашів» при годівлі листям шовковиці, обробленим інсектицидом Marshal 250ЕС різної концентрації

Варіанти	Концентрація інсектициду, %	Кількість загиблих гусениць за днями, шт.			
		1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Контроль — чистий лист	0	0	0	0	4,3 ± 1,7
Лист, оброблений інсектицидом	0,01	58*	-	-	-
Лист, оброблений інсектицидом	0,001	58**	-	-	-
Лист, оброблений інсектицидом	0,0001	33 ± 4,1	25 ± 1,2	-	-

Примітка: * — гусениці загинули протягом 4-х годин; ** — гусениці загинули протягом доби.

З наведених у табл. 5 даних видно, що незважаючи на те, що гусінь загинула у всіх трьох концентраціях інсектициду, за часом

настання загибелі гусениць і картиною отруєння слід вважати, що швидше за все концентрація забруднення листя на плантації шовковиці становила 0,001%, так як у попередньому досліді (табл. 4) загибель гусениць тривала одну добу та картина загибелі була схожа.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень доведено високу ефективність запропонованого нового підходу до біоіндикації токсикантів у довкіллі шляхом використання рослини-поглинача (накопичувача) – шовковиці білої та універсального тест-об'єкту біоіндикації – гусениць-«мурашів» шовковичного шовкопряда.

1. Встановлено, що запропонований новий спосіб біоіндикації забруднення води солями важких металів відрізняється простотою виконання, високою точністю і може бути застосований протягом усього року, так як існуюча технологія отримання гусениць-«мурашів» розроблена, а пагони з листям шовковиці можна отримати і взимку, використовуючи тепличні рослини, або пагони з плантацій, що в лабораторії «виганяють» при +20 °С, вміщуючи у ємкості з водою.

2. Запропонована методика дозволяє проводити біоіндикацію солей важких металів у ґрунті протягом всього року, використовуючи однорічні саджанці шовковиці, що зберігаються у холодильній камері.

3. Дослід показав високу ефективність використання гусениць-«мурашів» для визначення залишків інсектицидів у весняно-літньо-осінній період для біоіндикації стану довкілля.

Література

1. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. — М.: Изд-во МГУ, 1970. — 487 с.
2. Використання шовковичного шовкопряда як біоіндикатора для визначення залишків інсектицидів у навколишньому середовищі. Методичні рекомендації / О.З. Злотін, В.О. Головка, О.Ю. Без'язична, Н.П. Чепурна / — Харків : РВП «Оригінал», 1996. — 13 с.
3. Екологія людини. Підручник /Микитюк О.М., Злотін О.З., Бровдій В.М. та ін.. вид 3-є. — Харків.: — 2004. — с.
4. Злотін О.З., Без'язична О.В. Новий тест-об'єкт для біологічної оцінки залишкових кількостей інсектицидів // Доповіді АН України. —1994. — №3. — С. 175-177.
5. Злотін О.З., Дехтярьова О.О. Біоіндикація стану забруднення вод токсикантами // Біологія та валеологія. Зб. наук. праць. — 2008, вип.10. — С. 175-179.

6. Патент 4632A UAMKI7 A01 G7/00 Спосіб біотестування забруднення середовища важкими металами. Декл. Патент на корисну модель — М.О. Цуркан, А.Л. Сафонов 320040705328; заявл. 30.07.04. Опубл. 17.01.05. — Бюл. №1. — С.6.
7. Патент РФ №2082137 G 01 №33/18. 20.06.1997.
8. Розробка способів біоіндикації екологічного стану Донбасу /Беспалова С.В., Горещкий О.С., Говта М.В. та ін. / Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона: Межвед. Сб. научн. Работ. — Донецк: Дон-НУ, 2007. — Вып. 7. — С. 17-24.
9. Справочник по гидрохимии. /Под ред. А.М. Никонорова. — Л: Гидрометиздат, 1989. — С. 49-55.
10. Шовківництво /Головко В.О., Злотін О.З., Браславський М.Ю. та ін./ Під ред. О.З.Злотіна, Ю.Д. Бойчука. — Харків: РВП «Оригінал», 1998. — 416 с.
11. Экология города. Учебник для ВУЗов./ Под ред. Ф.В. Стольберга. — Киев: Либра, 2000. — С. 79.

Новый подход к биоиндикации токсикантов в окружающей среде. Горещкий А.С., Злотин А.З., Маркина Т.Ю., Дехтярева Е.А. — Предложен новый подход к биоиндикации токсикантов в окружающей среде, базирующийся на использовании растения-поглотителя (накопителя) токсикантов из воды, почвы, воздуха (шелковицы белой) и универсального тест-объекта — гусениц тутового шелкопряда. Благодаря высокой чувствительности гусениц-«мурашей» к действию токсикантов доказана эффективность использования нового подхода.

Ключевые слова: биоиндикация, токсиканты, тест-объект, тутовый шелкопряд, *Morus alba* L.