

УДК 577.34:574.64:504.062

© 2017

*Е.О. Аристархова,**кандидат  
біологічних наук**Інститут агроекології  
і природокористування  
НААН***ЕКСПРЕС-ОЦІНКА  
ПОТЕНЦІЙНОЇ НЕБЕЗПЕКИ  
ВОДИ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ  
НА *DAPHNIA MAGNA S.***

**Мета.** Підвищення інформативності біотестування вод поверхневих джерел водопостачання та питної води на ракоподібних *Daphnia magna S.* за рахунок використання тест-ознаки частоти серцевих скорочень (ЧСС). **Методи.** Біотестування з визначення іммобілізації *D. magna* впродовж 48-годинної експозиції та ЧСС — за умов 3-годинної експозиції особин. **Результати.** Під час біотестування за відсутності іммобілізації *D. magna* не виявлено токсичності вод, а за ознакою ЧСС визначено їх низький рівень токсичності (26,2 – 35,4%). **Висновки.** Експрес-оцінку токсичності вод поверхневих джерел водопостачання та питної води доцільно проводити на *D. magna*, застосовуючи тест-ознаку ЧСС після 3-годинної експозиції особин. Високу ефективність запропонованого способу доведено в умовах КП «Житомирводоканал»: використання тест-ознаки ЧСС порівняно зі стандартним показником (іммобілізація *D. magna*) сприяло підвищенню чутливості біотестування на 28,33% та зменшенню його тривалості на 73,11%.

**Ключові слова:** біотестування вод, *Daphnia magna S.*, іммобілізація, ЧСС, рівень токсичності.

Забруднення природних і питних вод нині є однією з глобальних проблем суспільства. Тому пріоритет потрібно надавати заходам, спрямованим на підвищення ефективності контролю, здатного своєчасно виявляти основні негативні впливи та відтворювати реальний стан щодо безпеки використання природної і вживання питної води споживачами [1–3]. Зі здійсненням такого контролю доцільно посилити роль біологічного тестування — методу, який має ряд переваг порівняно з іншими: є доступним і простим у виконанні, не потребує складного обладнання, належить до найдієвіших та найшвидших способів визначення сукупної дії токсичних речовин, що містяться у воді [4, 5]. За тест-об'єкти можуть

бути взяті істоти практично всіх таксономічних груп від бактерій до ссавців. Проте в наявних дослідженнях перевага завжди надається уніфікованим організмам, за участю яких розроблено стандартні досліди. Серед них найчастіше використовують інфузорії, дафнії, церіодафнії, гуппі, цибулю звичайну, салат посівний тощо [5–8]. Упродовж тривалого часу зазначені тест-об'єкти застосовували для визначення токсичності природних і стічних вод, а з розробкою ДСанПіНу 2.2.4-171-10 їх було використано і для питної води [5]. Однак для біотестування якості води з джерел водопостачання та питної води, що є значно чистішими порівняно з іншими видами, традиційні тест-ознаки організмів

(імобілізація дафній і церіодафній) виявилися недостатньо інформативними. У зв'язку з цим актуальності набуває пошук тест-ознак уніфікованих істот, за допомогою яких можна з високою ефективністю виявити різні рівні забруднення вод — від найнижчих до сублетальних.

#### Аналіз останніх досліджень і публікацій.

У літературних джерелах протягом останнього десятиліття багато уваги було приділено доцільності використання високочутливих організмів, за допомогою яких можна більш ефективно порівняно з традиційними способами проводити експрес-оцінку стану водного середовища. Слід зазначити, що стандартизовані методи біотестування мають ряд недоліків, які не дають змоги з високою інформативністю оцінювати токсичність вод [3–5, 7–9], особливо малозабруднених:

- недостатня чутливість організмів до низьких концентрацій забруднювальних речовин у воді та низьких рівнів загальної токсичності вод;

- застосування як основної тест-ознаки показника імобілізації організмів (фактично загибелі істот);

- проведення досліджень упродовж тривалого часу в кілька етапів.

З урахуванням зазначених особливостей та наявних у літературі даних про істотне підвищення ефективності біотестування за рахунок використання чутливіших тест-ознак організмів [5, 9] вважаємо за потрібне застосувати таку функцію тест-об'єктів, яка була б прижиттєвою, більш чутливою до забруднення води порівняно із загальноприйнятими і дала б можливість за короткий термін часу визначати рівень токсичності води.

За стандартом підприємства СТП 17-08, затвердженим на КП «Житомирводоканал» [8], як тест-організм використано *D. magna*, що є уніфікованим і розрахованим на визначення імобілізації особин протягом 24 та 48 год [5–8]. На основі цього запропоновано, не замінюючи тест-об'єкт, оптимізувати процес біотестування та створити оригінальну шкалу щодо рівнів токсичності вод, яка узгоджується з ДСанПіН 2.2.4-171-10 [5].

**Мета досліджень** — підвищення інформативності біотестування вод поверхневих джерел водопостачання та питної води на ракоподібних *D. magna* за рахунок використання тест-ознаки частоти серцевих скорочень.

**Матеріали та методи досліджень.** Проведено порівняльний аналіз базового (БС) та

запропонованого (ЗС) способів біотестування токсичності води, проби якої було відібрано в підготовлений посуд з водосховищ р. Тетерів, резервуарів чистої води (РЧВ) та водопровідної мережі на КП «Житомирводоканал» у квітні 2016 р. 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 водозбору Відсічне;

дослідна група Д-3 — проби води з РЧВ 5 000 м<sup>3</sup>;

дослідна група Д-4 — проби води з РЧВ 20 000 м<sup>3</sup>.

Тест-об'єкт — 24-годинна молодь дафній (аналоги за віком і розміром).

Тест-ознаки — імобілізація ( $I_m$ ) та частота серцевих скорочень (ЧСС).

Експонування — БС — 48 год (n=10) та ЗС — 3 год (n=15).

Біотестування — БС — підрахунок активних та імобілізованих особин, ЗС — мікроскопіювання особин *in vivo* з визначенням частоти серцевих скорочень (ЧСС).

Досліди проводили в 3-разовій повторності за температури води +20°C ± 2°C та в інших ідентичних умовах. За БС підрахунок особин дафній здійснювали у воді, яку тестували. За ЗС кожен особину піпеткою виймали з проб протестованої води, розміщували на предметному склі в краплі тієї самої води і після визначення ЧСС упродовж 30 с і перерахунку цих даних на 1 хв розраховували середню арифметичну. Отримані дані порівнювали з контролем. Для кожної дослідної проби води розраховували індекс токсичності (%) за ДСанПіН 2.2.4-171-10 [5], використовуючи таку формулу:

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

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

Оскільки забруднювальні речовини можуть спричиняти уповільнення і пришвидшення ЧСС, доцільно різницю тест-реакції в дафній між контролем і дослідом визначати за модулем.

**Результати досліджень.** Порівняльний аналіз екологічної ефективності способів

**Порівняльний аналіз способів біотестування на *Daphnia magna* S. проб води з водосховищ р. Тетерів та резервуарів чистої води на КП «Житомирводоканал»**

Дослідні групи та показники	Ефективність біотестування за тест-ознаками:			
	$I_M$ (Т, %)	рівень токсичності	ЧСС (Т, %)	рівень токсичності
Д-1 (водосховище Денишівське)	Відсутня	ДРТ	35,4	НРТ
Д-2 (водозабір Відсічне)	Відсутня	ДРТ	27,6	НРТ
Д-3 (РЧВ 5 000)	Відсутня	ДРТ	24,1	ДРТ
Д-4 (РЧВ 20 000)	Відсутня	ДРТ	26,2	НРТ
Тривалість експозиції, год	48	–	3	–
Підготовка до тестів і визначення тест-ознак, год	0,5	–	0,75	–
Кількість дослідних об'єктів (n)	10	–	15	–
Примітки. $I_M$ — іммобілізація (стан нерухомості) дафній; ЧСС — частота серцевих скорочень у особин; Т — індекс токсичності води (щодо контролю); рівні токсичності води: ДРТ — допустимий, НРТ — низький.				

біотестування проб води, відібраних у водосховищах р. Тетерів та резервуарах чистої води на КП «Житомирводоканал», наведено в таблиці.

Отримані дані свідчать про те, що запропонована для проведення експрес-оцінки води на *D. magna* тест-ознака ЧСС є чутливішою до визначення токсичності води, ніж іммобілізація особин. До того ж за допомогою ЧСС можна значно швидше виявити наявність забруднень у воді порівняно з традиційною тест-ознакою  $I_M$ . За даними біотестування розроблено зручнішу, ніж у стандарті [5], шкалу рівнів токсичності води, яка повністю узгоджується з ДСанПіН 2.2.4-171-10. За її створення було враховано, що індекс токсичності води не має перевищувати 50% незалежно від тест-об'єктів, які використовують у дослідженнях [5, 7]: 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 не дасть змоги відокремити фактичну відсутність токсичності (1–25%) від її низького рівня та визначити найнебезпечнішу токсичність, яка може бути настільки високою, що на відміну від середнього рівня призведе до загибелі особин (76–100%).

У проведених дослідженнях за тест-ознакою іммобілізації дафній, а власне за відсутністю нерухомих особин в усіх видах досліджуваних вод було виявлено найнижчий рівень токсичності. Однак цілком зрозуміло, що токсична дія вод поверхневих джерел

водопостачання та питної води не може бути абсолютно однаковою. Тому вирішено було використати таку тест-ознаку дафній, яка дала б змогу здійснювати детальніший розподіл вод за індексом токсичності. Порівняння чутливості показника іммобілізації з чутливістю фізіологічних параметрів 24-годинних особин (зміна кольору, порушення процесу дихання, особливості рухової активності, ЧСС) до відносно малих кількостей забруднювальних речовин, що містяться у водах питного користування і питній воді, підготовленій на КП «Житомирводоканал», дало змогу зупинитися на тест-ознаці ЧСС, визначення якої є ефективнішим порівняно з іншими фізіологічними критеріями. Показник іммобілізації особин, що вважається стандартним у методах сучасного біотестування якості вод, навіть попри простоту виконання (підррахунком кількості активних і нерухомих дафній), програє ЧСС за рядом позицій. Зокрема, використання іммобілізації пов'язано з тривалим періодом експозиції (48 год) і з'ясуванням стану особин у кілька етапів (через кожні 6 год). Саме ці особливості способу ускладнюють процес оперативного отримання результатів біотестування. Із застосуванням ЧСС зазначена проблема частково відпадає, оскільки тривалість експозиції становить лише 3 год. І хоча техніка визначення ЧСС у дафній дещо складніша порівняно із спостереженнями за іммобілізацією особин і потребує більших витрат часу безпосередньо на тестування кожної дафнії (0,5 хв/особину), вона цілком компенсується значно меншою загальною тривалістю досліджень і вищою вірогідністю

отриманих результатів. Це дає можливість збільшити кількість особин на контролі та в дослідних групах.

У літературі є відомості про те, що тест-ознаку ЧСС дафній успішно використовують для виявлення у воді пестицидних забруднень [10]. Проте за нашими даними, цей фізіологічний параметр може бути використаний і для визначення загальної токсичності води. Процес дихання в нижчих ракоподібних, як і в інших тваринних форм, тісно пов'язаний із функціонуванням їх серцево-судинної системи, зокрема зі скороченням серця. Тому істотні впливи на дихальну систему призведуть до зміни ЧСС. При цьому серед забруднювальних речовин є такі, що можуть посилювати і послаблювати роботу серця. З часом реакція на вплив забруднювачів також може змінюватися. У будь-якому разі за наявності та відсутності шкідливих речовин у воді серцева діяльність дафній має різнитися. Якщо ця різниця перевищуватиме 50%, рівень забруднення води слід визнати істотним.

Оскільки практично всі токсиканти належать до біологічно активних речовин, їх перебування у воді супроводжується процесом окиснення, а відтак у забрудненій воді поступово зменшується вміст розчиненого кисню. Це спричиняє посилення фізіологічного механізму компенсації дефіциту кисню в нижчих ракоподібних і сприяє підвищенню в них ЧСС [11]. Тому дихальну і серцево-судинну системи дафній за подібних умов можна вважати одними з найчутливіших складових організму, які одними з перших у досить короткий термін реагуватимуть на забруднені води. Для проведення експрес-оцінки така тест-ознака, навіть з урахуванням необхідності підрахунку ЧСС під мікроскопом, є інформативнішою, ніж загальноприйнятий показник. Особливо велике значення матиме ЧСС за потреби швидкого визначення стану водного середовища в разі залпових забруднень і погіршення якості питної води внаслідок утворення

в ній у процесі підготовки (через хлорування) небезпечних сполук в умовах водоканалів.

Біотестуванням за тест-ознакою ЧСС дафній у водах водосховищ р. Тетерів та РЧВ 20 000 Житомирського водоканалу було виявлено низький рівень токсичності. І тільки в РЧВ 5 000 токсичність води не перевищувала допустимий рівень, тобто величина індексу токсичності (24,1%) лише наближалася до 25%. Загалом визначені індекси токсичності досліджуваних вод за ЧСС дафній були фактично на 24,1–35,4% вищими порівняно з індексами, отриманими під час біотестування за іммобілізацією особин. Це означає, що за допомогою тест-ознаки ЧСС вдалося істотно підвищити чутливість біотестування на дафніях, навіть за умов, коли межа 50% щодо небезпечності води не була перевищена. Запропонований спосіб виявився відносно визначення токсичності вод у середньому на 28,33% більш інформативним, а за витратами часу — на 73,11% менш тривалим, ніж базовий варіант. До того ж збільшення кількості дафній у кожній групі з 10 до 15 особин дасть змогу певною мірою підвищити вірогідність біотестування вод (за 3-ма повторностями — 45 особин на кожну групу).

Хоча визначення тест-ознаки ЧСС дафній, запропоноване для проведення експрес-оцінки потенційної небезпеки вод поверхневих джерел водопостачання та питної води, за технікою виконання є складнішим порівняно зі звичайним спостереженням за іммобілізацією особин, воно цілком компенсується підвищеною інформативністю, значно меншою тривалістю досліджень та вищою вірогідністю отриманих результатів.

Отже, запропонований спосіб біотестування за ЧСС дафній порівняно зі стандартним є більш чутливим, швидким і точним у визначенні, дає змогу адекватно оцінювати впливи антропогенних факторів на води різної якості за наявності в них не лише високих, а й низьких рівнів забруднення.

## **Висновки**

*Експрес-оцінку потенційної небезпеки вод поверхневих джерел водопостачання та питної води доцільно здійснювати за допомогою запропонованого нами способу біотестування за тест-ознакою ЧСС дафній. В умовах КП «Житомирводоканал» цей спосіб*

*порівняно із загальноприйнятим виявився в середньому на 28,33% більш інформативним, на 73,11% менш тривалим і дав можливість підвищити вірогідність отриманих даних завдяки високій чутливості до низьких рівнів забруднення вод та збільшенню кількості тест-об'єктів.*

## Бібліографія

1. *River watch*. Manual for public environmental monitoring. — SPb.: Friends of the Baltics//Coalition Clean Baltics, 2015. — 32 p.
2. *Nanostructured zinc oxide-cotton fibers: synthesis, characterization and applications*/I.M. El-Nahhal, S.M. Zourab, F.S. Kodeh et al.//J. of Materials Science: materials in Electronics. — 2013. — P. 3970–3975.
3. *Malik A. Environmental Deterioration and Human Health: Natural and anthropogenic determinants*/ A. Malik, E. Grohmann, R. Akhtar. — Dordrecht Heidelberg, London, New York: Springer, 2014. — P. 3–400.
4. *Söderbaum P. Perspectives for water management within the context of sustainable development*/ P. Söderbaum, C. Tortajada//Water International. — 2011. — V. 36, № 7. — P. 812–827.
5. *ДСанПіН 2.2.4-171-10 «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною»/ № 452/17747. — МОЗ України. Державні санітарні норми та правила/[чинний від 1.07.2010 р.]. — 50 с.*
6. *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. — V. 722 (1). — P. 75–91.
7. *ISO 10706: 2000 Water quality. Determination of long term toxicity of substances to Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)*. — 26 p.
8. *Цитофізіологічна експрес-оцінка токсичності води (Біотестування): СТП 17-08. Методика. — Затв. Комунальним підприємством «Житомирводоканал» [дійсний від 10.09.2008 р.]. — Житомир, 2008. — 15 с.*
9. *Lampert W. Limnecology*/W. Lampert, U. Sommer// Oxford University Press: Oxford, New York, 2007. — 324 p.
10. *Кулагина К.В. Исследование зависимости частоты сердечных сокращений Daphnia magna от концентрации пестицидов*//Фундаментальные исследования. — 2011. — № 3. — С. 191–197.
11. *Jakob U. Oxidative Stress and Redox Regulation*/U. Jakob, D. Reichmann. — Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer, 2013. — P. 59–126.

Надійшла 3.10.2016.