

УДК 577.34:574.64:504.062

© 2017

*Е.О. Аристархова,**кандидат  
біологічних наук**Інститут  
агроєкології і природо-  
користування НААН***БІОТЕСТУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ  
ТОКСИЧНОСТІ ВОД ПОВЕРХНЕВИХ  
ДЖЕРЕЛ ВОДОПОСТАЧАННЯ ТА  
ПИТНОЇ ВОДИ НА РИБАХ DANIO RERIO****Мета.** Підвищити інформативність методу біотестування вод поверхневих джерел водопостачання та питної води завдяки використанню риб даніо (брахиданіо) *perio*.**Методи.** Біотестування за іммобілізацією риб гуппі ретикулята (*Poecilia reticulata* Peters) та даніо *perio* (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan) з 8-добовою експозицією особин.**Результати.** Під час біотестування за відсутності іммобілізації риб гуппі не виявлено токсичності дослідних вод, а за іммобілізації риб брахиданіо визначено низький рівень токсичності вод у межах 25–50%. **Висновки.** Оцінку хронічної токсичності вод поверхневих джерел водопостачання та питної води доцільно проводити методом біотестування на рибах брахиданіо, які виявилися чутливішими до низьких рівнів забруднень (у середньому на 26,3% у гострому досліді тривалістю 4 доби і на 36,6% у хронічному досліді тривалістю 8 діб), ніж традиційний тест-об'єкт риби гуппі.**Ключові слова:** біотестування, води джерел водопостачання, питна вода, гуппі ретикулята, даніо *perio*, іммобілізація, токсичність.

Оцінка якості вод поверхневих джерел водопостачання та питної води з використанням фізико-хімічного аналізу не дає повної інформації про комплексний вплив забруднювальних речовин на водні екосистеми. Тому використання біологічних методів для визначення токсичності цих вод є особливо актуальним [1, 2]. Тим більше, що токсичність поверхневих вод питного призначення доцільно оцінювати не тільки для людини, а й для популяцій риб та інших водних організмів [3–8], особливо тих, що беруть активну участь у процесах формування якості води.

З огляду на нагальну потребу у проведенні контролю за станом вод з наявних методів біомоніторингу доцільно як обов'язковий метод використати біологічне тестування. Це дає змогу завдяки високій чутливості оперативного виявляти наслідки

забруднень поверхневих джерел водопостачання та питної води й водночас є значно простішим і дешевшим у виконанні, має обмеження у часі навіть за визначення хронічної токсичності вод і не потребує висококваліфікованої праці, як фізичні та хімічні методи досліджень [9–11].

У літературних джерелах протягом останнього десятиліття багато уваги приділяли доцільності використання наборів з кількох високочутливих організмів, що належать до різних рівнів біологічної організації, за допомогою яких можна проводити оцінку стану водного середовища [9–13]. Обов'язковими представниками таких тест-наборів мають стати хребетні тварини [10, 11], зокрема риби. Проте не всі види риб однаково поводять себе в умовах одного і того самого типу забруднення вод. До того ж, одні види здатні

активніше реагувати на органічні сполуки, інші — на важкі метали, синтетичні поверхнево-активні речовини або наноматеріали та ін. [2, 12, 13]. Для виявлення істот, які можуть дати точнішу інформацію про рівень загальної токсичності вод, необхідною умовою є проведення порівняльного аналізу двох і більше видів риб, найчутливіші з яких мають перспективу бути використаними у біотестуванні малозабруднених вод.

Враховуючи ці особливості та наявні у літературі дані про істотне зростання ефективності біотестування за використання високочутливих організмів [10, 11], вважаємо за необхідне порівняти 2 види уніфікованих риб гуппі ретикулята (*Poecilia reticulata* Peters) та даніо (брахиданіо) реріо (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan), які застосовуються у міжнародних і національних стандартах з визначення токсичності води [10–13]. Уперше для оцінки токсичної дії вод за допомогою риб застосовано запропоновану нами шкалу рівнів токсичності, апробовану на дафніях [4], яка повністю узгоджується з ДСанПіН 2.2.4-171-10.

**Мета досліджень** — підвищення інформативності методу біотестування вод поверхневих джерел водопостачання та питної води завдяки використанню риб даніо реріо.

**Матеріали та методи досліджень.** Для реалізації мети досліджень проведено порівняльний аналіз біотестування токсичності води, проби якої було відібрано у підготовлений посуд з водосховищ р. Тетерів, резервуарів чистої води (РЧВ) та водопровідної мережі на КП «Житомирводоканал» у квітні 2016 р. [4]. Після відбору проб води їх переливали в акваріуми (10 дм<sup>3</sup>) і формували контрольну та дослідні групи за такою схемою: контрольна група — проби відстояної (24 год) водопровідної води; дослідні групи: Д-1 — проби води з водосховища Денишівське; Д-2 — з водозабору Відсічне; Д-3 — з РЧВ 5 000 м<sup>3</sup>; Д-4 — РЧВ 20 000 м<sup>3</sup>.

Тест-об'єкти: самки риб гуппі ретикулята (*P. reticulata*) та брахиданіо реріо (*D. rerio*) — аналоги за віком (3 тижні) та розміром (4,5±0,5 см). Утримання: в акваріумах на 10 дм<sup>3</sup> води, концентрація кисню у якій не менше 4 мг/дм<sup>3</sup>, температура становить (20±2,5)°С, щільність посадки — 1 особина/дм<sup>3</sup>; в умовах природної освітленості та заміни води відповідної якості кожні 2 доби. Годівля:

з 5- до 8-ї доби сухим тваринним кормом (дафнії, циклопи) двічі на добу та живим рослинним кормом (водорості, листя водних рослин) постійно. Тест-реакція: іммобілізація ( $I_M$ ), зокрема смертність особин. Експонування: на гостру летальну токсичність (acute lethal toxicity) — упродовж 4-х діб і короткотривалу хронічну токсичність (short-term chronic toxicity) — упродовж 8-ми діб. Біотестування: щодня робили підрахунок активних та іммобілізованих (у т.ч. загиблих) особин з 1- до 8-ї доби.

Досліди проводили у 3-разовій повторності, використовуючи стандартні методики та власні розробки [4–5, 10, 12, 13]. Отримані дані порівнювали з контролем. Для кожної дослідної проби води розраховували індекс токсичності (%) за ДСанПіН 2.2.4-171-10 [5], використовуючи 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.

Індекс токсичності вод не повинен перевищувати 50% незалежно від тест-об'єктів, які використовують у дослідженнях.

**Результати досліджень.** Під час біотестування токсичності вод найважливішим є вибір тест-об'єктів. Це мають бути уніфіковані організми, за участю яких розроблено стандартні досліди з адекватною реакцією на певні рівні забруднення тестованого середовища. Найчастіше для цього використовують інфузорій, дафній, церіодафній, гуппі, цибулю звичайну, салат посівний та ін. [5–8]. Протягом тривалого часу зазначені тест-об'єкти застосовували для визначення токсичності природних і стічних вод, а розробка ДСанПіНу 2.2.4-171-10 сприяла їх використанню у тестуванні вод поверхневих джерел водопостачання та питної води [5]. Однак для біотестування якості цих вод, які є значно чистішими за інші види, традиційні організми виявилися недостатньо інформативними. Тому актуальності набуває пошук уніфікованих організмів, за допомогою яких з вищою ефективністю (порівняно із загальноприйнятими тест-об'єктами) можна виявити низькі рівні забруднення вод.

Як тест-організми на чутливість до токсичних компонентів вод випробовували 2 види

**Порівняльний аналіз біотестування на рибах гуппі та брахиданію вод з водосховищ р. Тетерів і РЧВ на КП «Житомирводоканал» (n=30)**

Дослідні групи та показники	Токсичність за іммобілізацією тест-об'єктів (Т, %):			
	гуппі ретикулята	рівень токсичності	данію реріо	рівень токсичності
<i>Гостра токсичність</i>				
Д-1 (водосховище Денишівське)	Відсутня	ДРТ	31,5	НРТ
Д-2 (водозабір Відсічне)	»	»	25,8	ДРТ
Д-3 (РЧВ 5 000 м <sup>3</sup> )	»	»	24,1	»
Д-4 (РЧВ 20 000 м <sup>3</sup> )	»	»	23,9	НРТ
Тривалість експозиції, діб	4	–	4	–
<i>Хронічна токсичність</i>				
Д-1 (водосховище Денишівське)	Відсутня	ДРТ	42,8	НРТ
Д-2 (водозабір Відсічне)	»	»	38,0	»
Д-3 (РЧВ 5 000 м <sup>3</sup> )	»	»	32,5	»
Д-4 (РЧВ 20 000 м <sup>3</sup> )	»	»	33,3	»
Тривалість експозиції, діб	8	–	8	–

Примітка: Т — індекс токсичності води (щодо контролю); ДРТ — допустимий рівень токсичності; НРТ — низький рівень токсичності.

акваріумних риб гуппі ретикулята та брахиданію реріо за тест-реакцією іммобілізації особин, перевагою якої порівняно з багатьма іншими реакціями риб є простота її визначення за підрахунку кількості активних та іммобілізованих особин. Відомо, що найпопулярнішими у біотестуванні як уніфіковані хребетні тваринні форми є гуппі. У природі вони трапляються у тропічних водоймах, де відіграють велику екологічну роль, знешкоджуючи личинок москітів і комарів. Це дрібні риби з яскраво вираженим статевим диморфізмом. Самці досягають у довжину 3–4 см і забарвлені у яскраві кольори (сірувато-коричневі з яскравими червоними, блакитними, зеленими та чорними крапками). Самки більші за самців (завдовжки 5–6 см), мають жовто-зелене забарвлення. Данію (або брахиданію) не так часто використовують у біотестуванні вод, як гуппі, хоча має набагато кращі перспективи. У природних умовах живе у тропічних водоймах з повільною течією води. Довжина тіла дорослих риб — близько 4,5 см, тіло циліндричної форми з 7–9-ма темно-синіми горизонтальними смужками.

Здійснено порівняльний аналіз екологічної ефективності біотестування на гуппі та брахиданію проб води, відібраних у водосховищах р. Тетерів і РЧВ на КП

«Житомирводоканал» (таблиця).

Отримані дані свідчать про те, що запропонований для проведення оцінки води тест-організм брахиданію реріо за реакцією іммобілізації особин є чутливішим до визначення токсичності вод, ніж гуппі ретикулята. За даними біотестування, нами розроблено шкалу рівнів токсичності води, яку можна використовувати для визначення її гострої або хронічної токсичної дії [4]: допустимий рівень токсичності — 1–25%; низький — 26–50; середній — 51–75; високий рівень токсичності — 76–100%.

У 90-х роках минулого століття було розроблено стандартну методику визначення гострої летальної токсичності речовин і природних вод на данію реріо [13]. Цей вид риб має бути чутливим і до хронічної токсичної дії компонентів вод поверхневих джерел водопостачання та питної води. Тому важливо порівняти чутливість до хронічної токсичності вод данію реріо з таким поширеним у водній токсикології видом риб, як гуппі ретикулята.

У проведеному експерименті за тест-реакцією іммобілізації гуппі в усіх видах досліджуваних вод виявлено лише допустимий рівень токсичності. Однак є очевидним, що води поверхневих джерел водопостачання та питна вода не можуть мати однаково токсичність. Це доведено нами за

використання чутливішого виду риби — даніо реріо. Так, за визначення гострої та хронічної дії вод було виявлено не тільки допустимі рівні їх токсичності (ДРТ), що фактично свідчать про відсутність небезпечного впливу на організми, а й низькі рівні (НРТ) у межах індексу токсичності 26–50%. Найвище значення індексу токсичності виявлено за визначення хронічної дії води у водосховищі Денишівське р. Тетерів, дещо нижче — у водозаборі Відсічне. За визначення гострої дії вод у цих групах також виявлено вищі рівні

токсичності порівняно із рівнями токсичності питної води. І хоча межа 50% щодо небезпечності води не була перевищена, біотестування на брахиданіо реріо виявилось у середньому на 26,3% (у гострому досліді) і на 36,6% (у хронічному досліді) ефективнішим, ніж тестування на гуппі ретикулята.

Отже, за однакових умов біотестування на рибах гуппі і брахиданіо, останні виявили значно вищу чутливість до токсичних компонентів вод джерел водопостачання та питної води в умовах КП «Житомирводоканал».

## Висновки

Оцінку хронічної токсичності вод поверхневих джерел водопостачання та питної води запропоновано проводити методом біотестування на рибах даніо реріо, які виявилися чутливішими

до низьких рівнів забруднень (у середньому на 26,3% у гострому досліді тривалістю 4 доби і на 36,6% у хронічному досліді тривалістю 8 діб), ніж традиційний тест-об'єкт риби гуппі.

## 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-Nahal, 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. 8–23.
4. *Аристархова Е.О.* Експрес-оцінка потенційної небезпеки води методом біотестування на *Daphnia magna* S.//Вісник аграрної науки. — 2017. — № 2. — С. 50–54.
5. *ДСанПіН 2.2.4-171-10* «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною»/№ 452/17747. — МОЗ України. Державні стандартні 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. *Jakob U.* Oxidative Stress and Redox Regulation/U. Jakob, D. Reichmann. — Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer, 2013. — P. 59–126.
9. *Скок С.В.* Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування/С.В. Скок//Агроєкологіч. журн. — 2015. — № 2. — С. 26–30.
10. *Комплексна оцінка токсичності водних зразків за допомогою рослинних і тваринних тест-організмів*/М.С. Осмалений, А.М. Головков, А.В. Нанієва, М.Р. Верголяс//Фактори експериментальної еволюції організмів. — 2015. — Т. 16. — С. 74–77.
11. *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.
12. *КНД 211.1.4.057–97*. Методика визначення гострої летальної токсичності води на рибах *Poecilia reticulata* Peters. — К., 1997. — 27 с.
13. *ISO 7346-1:1996 Water quality. Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]*. — Part 1: Static method, 1996. — № 6. — 11 p.

Надійшла 7.04.2017.