

## ОПТИМІЗАЦІЯ ALLIUM-ТЕСТУ ДЛЯ ЕКСПРЕС-ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ВОД ПОВЕРХНЕВИХ ДЖЕРЕЛ ВОДОПОСТАЧАННЯ

Е.О. Аристархова

*Інститут агроекології і природокористування НААН*

*Для експрес-оцінки токсичності вод поверхневих джерел водопостачання м. Житомира використано Allium-тест, що був удосконалений у наших попередніх дослідженнях завдяки скороченню терміну експозиції рослин та зниженню працемісткості їх тестування. В експерименті застосовано температурну стимуляцію цибулин та біотестування вод за стандартними і власними методиками. Встановлено, що здійснена перед тестуванням стимуляція ростових процесів рослин сприяла підвищенню інформативності біотесту (зокрема зменшенню на 66,67% тривалості експозиції цибулин), а також надала змогу знизити його працемісткість (завдяки спрощеному визначенню тест-реакцій цибулі). Оцінку токсичності вод поверхневих джерел водопостачання на цибулі звичайній запропоновано проводити після 14-добової температурної стимуляції цибулин ( $20 \pm 2, 5^{\circ}\text{C}$ ) за допомогою тест-реакцій коренеутворення (за кількістю рослин із добре сформованим кореневим пучком) з експозицією 1 доба.*

**Ключові слова:** *поверхневі джерела водопостачання, Allium-тест, температурна стимуляція, коренеутворення, індекс токсичності, гостра токсична дія.*

Для визначення якості вод поверхневих джерел водопостачання поряд з загально-прийнятими методами досліджень в останні десятиліття дедалі ширше впроваджуються біологічні методи, серед яких біотестування займає особливе місце, оскільки є одним з найбільш простих і зручних методів, що дає змогу виявляти загальну токсичність вод і до того ж не потребує застосування дорогих приладів та висококваліфікованих кадрів для їх обслуговування [1–4].

Майже в усіх методиках з тестування, особливо розрахованих на використання організмів різних рівнів біологічної організації, застосовується Allium-тест (біотест на цибулі) [5–8]. А подекуди тестування на цибулі може розглядатись навіть як альтернатива іншим видам тест-об'єктів [9, 10]. Єдиною проблемою реалізації тесту є тривалий термін експонування — 3–5 діб, що в умовах швидкого підвищення токсичності водного середовища внаслідок небезпечних скидів не дає можливості використовувати його для проведення експрес-оцінки вод. До того ж біотестування на цибулі, якщо вимірюється кожен корінець, потребує

багато ручної праці, що повинна бути включена за експрес-оцінки вод. Тому слід скоротити терміни експонування цибулин та спростити техніку проведення біотесту.

У наших попередніх дослідженнях за визначення якості питної води Allium-тест було удосконалено у спосіб проведення температурної стимуляції цибулин упродовж 14-ти діб та визначення довжини кореневого пучка замість довжини корінців (близько 20 од. у кожній цибуліні). Тому необхідно з'ясувати, наскільки ефективним може бути використання біотесту за модифікованою нами методикою щодо вод поверхневих джерел водопостачання.

Мета досліджень — визначити можливість використання Allium-тесту після температурної стимуляції цибулин для експрес-оцінки вод поверхневих джерел водопостачання.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для визначення у жовтні 2014 р. гострої токсичності вод поверхневих джерел водопостачання м. Житомира, проби яких були відібрані з водосховищ р. Тетерів обсягом  $1 \text{ дм}^3$  на групу за загальноприйнятими ме-

тодиками [9, 10], використовували біотест на цибулі звичайній сорту Штутгартен Різен. Зауважимо, що методику було удосконалено у наших попередніх дослідженнях з визначення якості питної води. Тестування вод, призначених для водопостачання, проводили у хімічних ємностях ( $0,5 \text{ дм}^3$ ) за щоденної заміни використаної води на воду відповідної якості.

Запропонована нами методика біотестування передбачала попереднє пророщування листків цибулі. Для цього однакові за розміром цибулини ( $n=200$ ) витримували у сухому приміщенні у прозорих хімічних ємностях ( $0,5 \text{ дм}^3$ ) за температурної стимуляції ( $20 \pm 2,5^\circ\text{C}$ ) і природної освітленості до відростання листків упродовж 14-ти діб. З них відбирали цибулини-аналоги (з довжиною листків  $3 \pm 0,5 \text{ см}$ ) для формування контрольної та дослідних груп ( $n=20$ ). Контрольну групу піддавали дії дехлорованої водопровідної води, а дослідні групи — дії вод з водосховищ р. Тетерів. Перед проведенням біотесту зрізали поодинокі сухі корінці, що були на деяких цибулинах, а також відросле листя.

**Дослідження проводили за такою схемою:**

- *Контрольна група* — проби дехлорованої (24 год) водопровідної води.
- *Дослідна група Д1* — проби води з водосховища «Денишівське».
- *Дослідна група Д2* — проби води з водозабору «Відсічне».

*Біотестування* — за кількістю цибулин із сформованим кореневим пучком (не менше 10 мм) на першу добу.

*Тест-об'єкт* — цибуля звичайна (*A. sera*).

Індекс токсичності вод, що не має перевищувати 50%, розраховували за результатами біотестування, порівнюючи отримані у дослідних групах дані з контролем за використання загальноприйнятої формули [7, 10].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Експрес-оцінка гострої токсичності води на рослинних тест-об'єктах є проблематичнішою порівняно з тваринними. Існує лише

невелика кількість тестів, здебільшого на водних рослинах, що дають змогу визначати токсичну дію води впродовж декількох годин (біотести на елодеї, валіснерії, рясці, водоростях тощо). На вищих наземних рослинах тестування зводиться переважно до виявлення інгібування росту їх кореневої системи за негативного впливу на неї неякісних вод з експозицією 3–5 і більше діб. Так, тестування на цибулі звичайній саме впродовж 5 діб вважається найефективнішим [4]. А для виявлення гострого ефекту дії вод у більш ранні терміни необхідно пришвидшити активізацію процесів росту та розвитку рослин. За нашими даними це можливо зробити за допомогою температурної стимуляції ( $20 \pm 2,5^\circ\text{C}$ ) цибулин упродовж 14-ти діб. За цей період у рослин проростає листя, а їх коренева система перебуває у стані анабіозу. Було отримано рослини з різною довжиною листків, серед яких відібрали цибулини, що були аналогами не тільки за розміром, але й за енергією росту листя. До того ж з самого початку тестування активне листоутворення цибулин сприяло із перенесенням їх у проби води, відібрані з водосховищ, швидшому формуванню кореневої системи (табл.). Тому на відміну від класичного Allium-тесту, термін біотестування токсичності вод на цибулі значно скоротився.

Наведені дані свідчать, що температурна стимуляція росту листків цибулі, яка була проведена безпосередньо перед біотестуванням, сприяла швидшому формуванню корневих пучків, ніж за стандартного біотесту (на 66,67%). Для зниження працемісткості тестування тест-реакцію коренеутворення фіксували за значно простішими для визначення показниками: кількістю цибулин з нормально сформованою кореневою системою та кількістю цибулин з недорозвиненим або відсутнім кореневим пучком. У класичному Allium-тесті передбачено вимірювання довжини кожного корінця, що потребує тривалішого часу, ніж звичайний підрахунок цибулин з трьома видами особливостей розвитку кореневого пучка. За допомогою вказаних показників у дослідних групах була ви-

**Біотестування токсичності вод поверхневих джерел водопостачання за визначенням коренеутворення цибулі звичайної (*A. сера*)**

Доба дослідю/ Індекс токсичності води (Т)	Кількість цибулин (n = 20):					
	контрольна група (К)		дослідні групи			
			Д1		Д2	
	од.	%	од.	%	од.	%
<i>1-ша доба</i>	18	90	7	35	8	40
T <sub>1</sub>			61,11		55,00	
Цибулини: з недорозвиненим корене- вим пучком	–		7	35	7	35
з відсутнім кореневим пучком	–	–	6	30	5	25
<i>2-га доба</i>	20	100	9	45	10	50
T <sub>2</sub>			55,00		50,00	
Цибулини: з недорозвиненим корене- вим пучком	–	–	5	25	6	30
з відсутнім кореневим пучком	–	–	6	30	4	20

явлена токсична дія вод на процеси формування кореневої системи цибулі, що проявлялась інгібуванням росту корінців, унаслідок чого у майже половини рослин вони або взагалі не з'явились, або відросли лише частково. Після першої доби тестування індекси токсичності перевищували 50%, тобто вказували на чітко виражений небезпечний вплив дослідних вод на рослини. На другу добу токсичність вод дещо зменшилась (на 6,11% – у групі Д1 і на 5% – у групі Д2), проте продовжувала залишатись істотною. Кількість цибулин з відсутнім кореневим пучком фактично не змінилась – лише на 5% у групі Д2, а кількість цибулин з недорозвиненим кореневим пучком стала меншою на 10% – у групі Д1 і на 5% – у групі Д2. У дослідних групах частка порушень формування кореневого пучка цибулі становила 25–35%, не були виявлені – у 20–30%. У контрольній групі будь-яких порушень у рості та розвитку кореневої системи рослин не спо-

стерігалось. Отже, токсичні компоненти вод джерел водопостачання м. Житомира майже однаково негативно впливали як на проростання корінців, так і на особливості росту та розвитку кореневого пучка.

Простіші за технікою фіксації тест-реакції цибулі звичайної, що були використані нами за удосконалення Allium-тесту з виявлення токсичності питної води, надали змогу визначити також токсичність вод поверхневих джерел водопостачання – водосховища «Денишівське» та водозабору «Відсічне». І хоча характер токсичності вод досліджуваних джерел водопостачання значно різнився (найбільш небезпечні токсиканти у питній воді – сполуки хлору, особливо хлороформ, алюмінію, а у водах водосховищ – важкі метали, СПАР, нафтопродукти, органічні речовини), коренева система цибулі у всіх варіантах дослідю демонструвала загальну токсичну дію забруднювальних речовин. До того ж тест-реакція коренеутворення, за якою підраховували

цибулини, що різнилися за особливостями формування кореневого пучка, виявилась придатнішою для визначення індексу токсичності вод, ніж загальноприйняте вимірювання довжини усіх корінців кожної цибулини. Це має забезпечити здійснення експрес-оцінки якості вод на цибулі звичайній, яка у традиційному Allium-тесті (3-добове тестування) була неможливою.

Отже, експрес-оцінку токсичності вод поверхневих джерел допоставлення на цибулі звичайній запропоновано проводити після 14-добової температурної стимуляції рослин ( $20 \pm 2,5^\circ\text{C}$ ) за тест-реакцією коренеутворення з експозицією — 1 доба. У подальших дослідженнях кореневу систему цибулі слід використати також для виявлення цито- та генотоксичності цих вод.

## ВИСНОВКИ

Температурна стимуляція цибулин упродовж 14-ти діб за підготовки до проведення біотесту на цибулі сприяла росту листків рослин на тлі відсутності проростання корінців. З початком тестування і введенням цибулин у водні проби, відібрані з водосховищ р. Тетерів, активізувалися і процеси коренеутворення, які, до того ж, після закінчення першої доби за значеннями індексів токсичності, визначеними за тест-реакцією коренеутворення (кількістю цибулин із сформованим кореневим пучком), продемонстрували чітко виражену гостру токсичну дію дослідних вод. Тобто експрес-оцінка токсичності вод поверхневих джерел водопостачання м. Житомира на цибулі звичайній є можливою за умов попередньої стимуляції ростових процесів цибулин.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Стецюк Л.М.* Використання методів біоіндикації та біотестування для оцінки стану водних екосистем / Л.М. Стецюк // Вісник Національного університету водного господарства та природокористування. — 2013. — Вип. 2 (62). — С. 175–181. — (Серія «Сільськогосподарські науки»).
2. 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.
3. *Аристархова Е.О.* Особливості визначення токсичності питної води / Е.О. Аристархова // Агро-екологічний журнал. — 2016. — № 3. — С. 50–55.
4. *Arkhipchuk V.V.* Mercury, metolachlor, and 4-nitroquinoline-N-oxide cytotoxicity for *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and *Hydra attenuata* cells / V.V. Arkhipchuk, N.N. Garanko, Yu.A. Stoika // 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.* A novel nucleolar biomarker in plant and animal cells for assessment of substance cytotoxicity / V.V. Arkhipchuk, N.N. Garanko // Environmental Toxicology. — 2002. — Vol. 17, No. 3. — P. 187–194.
6. *Arkhipchuk V.V.* Cytogenetic study of organic and inorganic toxic substances on *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and *Hydra attenuata* cells / V.V. Arkhipchuk, M.V. Malinovskaya, N.N. Garanko // Environmental Toxicology and Water Quality. — 2000. — Vol. 15, No. 4. — P. 338–344.
7. *Скок С.В.* Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування / С.В. Скок // Агро-екологічний журнал. — 2015. — № 2. — С. 26–30.
8. 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.
9. *Fiskesjo G.* The Allium test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions // Mutation Res. — 1988. — Vol. 197. — P. 243–260.
10. Die Bestimmung des oekotoxikologischen Wasserpotentials mit *Allium cepa* L. / Е.О. Aristarchowa, А.С. Kozuba, І.В. Danilova, Т.Р. Kolodjuk // 2nd International scientific conference Science progress in European countries new concepts and modern solutions Education (Stuttgart, Germany October 14–15<sup>th</sup>, 2013). — Stuttgart, 2013. — S. 34–35.

## REFERENCES

1. Stetsiuk, L.M. (2013). Vykorystannia metodiv bioindyatsii ta biotestuvannia dla otsinky stanu vodnykh system [Application of bioindication and biotesting methods for evaluation of water systems state]. *Visnyk Nationalnoho universytetu vodnoho hospodarstva ta pryrodokorystuvannia — Bulletin of the National University of Water Management and Nature Management*, 2 (62), 175–181 [in Ukrainian].
2. Honcharuk, V.V. (2016). Sposib kompleksnogo vyznachennia henetychnoi bezpechnosti pytnoi vody

- [Metod of comprehensive determination of drinking water genetical safety]. *Ukrainian patent no. 10804, MIIK G 01 N 33/18; G 01 N 21/76. 11.04.2016. Bul. 7* [in Ukrainian].
3. Arystarkhova, E.O. (2016). Osoblyvosti vysnashennia toksyshnosti pytnoi vody [Features of the determination of drinking water toxicity]. *Agroecologichnyi zhurnal – Agroecological Journal*, 3, 50–55 [in Ukrainian].
  4. Arkhipchuk, V.V., Garanko, N.N., & Stoika, Yu.A. (2001). Mercury, metolachlor, and 4-nitroquinoline-N-oxide cytotoxicity for *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and *Hydra attenuata* cells '01: *10th International Symposium on Toxicity Assessment Quebec City, Quebec, Canada (26–31 august 2001)*. (pp. 24). Quebec, Canada [in English].
  5. Arkhipchuk, V.V., & Garanko, N.N. (2002). A novel nucleolar biomarker in plant and animal cells for assessment of substance cytotoxicity. *Environmental Toxicology*, 17, 3, 187–194 [in English].
  6. Arkhipchuk, V.V., Malinovskaya, M.V., & Garanko, N.N. (2000). Cytogenetic study of organic and inorganic toxic substances on *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and *Hydra attenuata* cells. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 15, 4, 338–344 [in English].
  7. Skok, S.V. (2015). Otsiniuvannia yakosti pytnoi vody m. Khersona metodom biotestuvannia [Evaluation potable water quality Kherson sity by the method biological testing]. *Ahroekolohichnyi zhurnal – Agroecological journal*, 2, 26–30 [in Ukrainian].
  8. Osmalenyi, M.S., Holovkov, A.M., Nanijeva, A.V., & Vergolias, M.R. (2015). Kompleksna otsinka toksychnosti vodnykh srazkiv za dopomogoju roslynnykh I tvarynnykh test-orhanizmiv [Comprehensive evaluation of toxicity of water samples using plant and animal test-organisms]. *Faktohy eksperymentalnoi evolutsii orhanizmiv – Factors of organisms experimental evolution*, 16, 74–77 [in Ukrainian].
  9. Fiskesjo, G. (1988). The *Allium* test – an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal irons. *Mutation Res.*, 197, 243–260 [in English].
  10. Aristarchova, E.O., Kozuba, A.S., Danilova, I.W., & Kolodjuk, T.P. (2013). Die Bestimmung des oekotoxikologischen Wasserpotentials mit *Allium cepa* L. [Determination of water ecotoxicological potential using *Allium cepa* L.] '13: *2nd International scientific conference Science progress in European countries new concepts and modern solutions Education*. (pp. 34–35). Stuttgart (Germany), 34–35 [in Germany].
-