

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

**Odessa National University Herald**

•

**Вестник Одесского  
национального университета**

•

**ВІСНИК  
ОДЕСЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ**

**ТОМ 7. Випуск 1**

*Біологія*

**2002**

УДК 631.453+593.1.

**Петросян А. Г.**<sup>1</sup>, канд. біол. наук, ст. наук. сп., **Дятлов С.Є.**<sup>2</sup>, канд. біол. наук, докторант, **Тарасенко А. О.**<sup>2</sup>, студ., **Дятлова О. С.**<sup>2</sup>, студ.

<sup>1</sup> Одеський філіал Інституту біології південних морів НАН України, відділ проблем якості водного середовища, вул. Пушкінська, 37, Одеса, 65011, Україна.

<sup>2</sup> Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, каф. гідробіології та загальної екології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

## **БІОТЕСТУВАННЯ ЯК МЕТОД ЕКСПРЕС-ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ҐРУНТІВ**

На прикладі модельного полігону, що забруднений внаслідок руйнування сховищ з залишками пестицидів та добрив, проведена оцінка інтегральної токсичності водорозчинних фракцій ґрунтів з використанням інфузорій, ракоподібних, рослин. Встановлено, що ерозійні процеси сприяли розповсюдженню токсичних речовин з поверхневим стоком від високих та розташованих поблизу від джерела забруднення ділянок до ділянок, що знаходяться на великій відстані. Обґрунтовано рекомендації щодо необхідності рекультивації та виведення з сільськогосподарського виробництва ґрунтів з гостротоксичними властивостями.

**Ключові слова:** біотестування, тест-об'єкт, ґрунти, токсичність, забруднення.

Біологічний контроль на стадії вияву і картографування забруднених ґрунтів, ранжирування аномальних та фонових ділянок виконується за допомогою біотестів значно швидше, а обходиться значно дешевше, ніж при використанні хіміко-аналітичних методів. При цьому оцінка біологічної шкідливості, що отримана за допомогою біотестів, значно надійніша, ніж оцінка на підставі хімічних аналізів. Доповнюючи один одного, біотести й аналітичні методи дозволяють значно підвищити ефективність екологічного моніторингу ґрунтів за рахунок зниження вартості комплексного хімічного аналізу і збільшення його оперативності.

Метою роботи була розробка методології оцінки токсичності ґрунтів з використанням комплексу методів біотестування на найпростіших, ракоподібних та рослинах. Дослідження токсичності ґрунтів на експериментальному полігоні дало можливість провести картографування території за ступенем її небезпеки для тест-об'єктів.

### **Матеріал і методи**

Полігон, на якому були виконані дослідження, знаходиться поблизу с. Затишшя Фрунзенського району Одеської області і являє собою ділянку з розташованими на ній зруйнованими сховищами пестицидів та добрив. Поруч зі сховищами знаходиться розораний схил з активно вираженими

ерозійними процесами. Токсичні речовини (протруйники, гербіциди, фунгіциди й ін.), марку яких неможливо встановити, зберігаються в проржавілих бочках, паперових мішках і розсипом. У переліку речовин, що знаходяться у сховищі, наведені пестициди різних класів, у тому числі і хлорорганічні. У сховищі добрив, мабуть, знаходилися азотні, фосфорні добрива і вапняні матеріали. Зразки ґрунтів із території складів і прилеглих схилів були відібрані 4.09.2001 р. згідно з сіткою станцій (ст.), що наведена на рис. 1.

“Техногенна пустеля” зі слідами горіння нафтопродуктів сусідила з ділянками, покритими соляною кіркою, а також болотистими ділянками з пофарбованою в жовтогарячий колір водою. На площі, що охоплює верхню терасу (ст. 3-4) до початку розораного поля (ст. 12-13), відзначена осередкова відсутність родючого шару, йде процес формування численних ярів глибиною від 0,2 до 0,5 м. Від ст. 12-13 вниз під кутом більш 25° знаходиться зоране поле. На нижній межі поля знаходиться глибокий яр (більш 3 м глибиною). У нього впадають два “молодих” яри, що беруть початок від сховищ. Дно яру (ст. 15) заболочено і має ділянки з щільною основою, сформовану засоленими ґрунтами і залишками нафтових вуглеводнів.

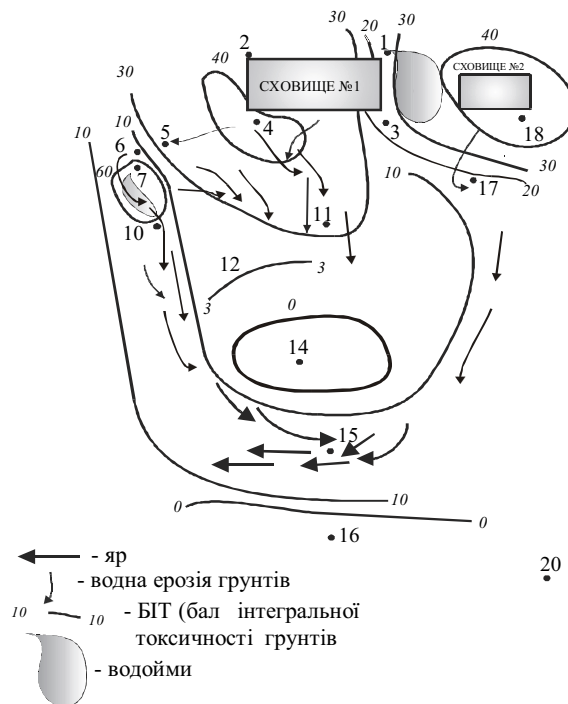


Рис. 1. Сітка станцій на полігоні та токсикометричні показники ґрунтів для *Parametium caudatum* Ehrb.

Для визначення гостроти токсичності ґрунтових зразків використовували чисту лабораторну культуру *Parametium caudatum* Ehrb. у фазі експонентного росту і добових ювенисів гілястовусих ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lill. з генетично однорідної лабораторної культури. Для визначення фітотоксичності ґрунтів використовували елітні насіння вівса *Avena sativa* L. сорту Чернігівський-24.

Для експозиції інфузорій і ракоподібних використовували планшети, для пророщення насіння — чашки Петрі, які були вистелені фільтрувальним папером; в них вносили водні екстракти зразків ґрунтів, що були приготовані відповідно до методик [1, 2]. По тест-

реакціях інфузорій і ракоподібних оцінювали гостру токсичність ґрунтів. Показниками загибелі інфузорій у гострому експерименті (24 год.) були наступні ознаки: припинення руху війок, розрив пелікули, сферична деформація та лізис клітини. Для ракоподібних показником гострої токсичності в 48-годинному експерименті була загибель більш ніж 50 % тест-об'єктів. Енергія проростання насіння і довжина первинного кореня були показниками за дослідження фітотоксичності ґрунтів.

Для порівняння рівня токсичності у різних точках полігону використовували тривалість виживання тест-об'єктів у пробі (LT, хв). За наявності у тест-об'єктів ознак гострої токсичності виконували серію розбавлень проби контрольним середовищем до досягнення нею придатних для життєдіяльності тест-об'єкта властивостей. На підставі необхідної кратності розбавлення проб розраховували бал інтегральної токсичності (БІТ), що дозволяє ранжувати ґрунти за рівнем останньої [3].

### **Результати досліджень**

Площадці, розташованій під зруйнованими сховищами, властива надзвичайно висока токсичність ґрунтів (БІТ для найбільш чутливих тест-об'єктів наведено на рис. 1). При біотестуванні екстрактів ґрунту загибель інфузорій спостерігалася через 5 - 20 хв, ракоподібних — через 13 -40 хв після внесення тварин у середовище, що тестувалося. Максимально висока для зазначеної площадки токсичність ґрунту відзначена на ст. 4, що розташована на краю стрімчастого схилу. У шарі, що знаходився під родючим ґрунтом на глибині 20 см, показники токсичності проб із ст. 1 - 4 практично не відрізнялися від таких у поверхневому шарі. Показники схожості насіння і довжина первинного кореня на 4-у добу експозиції для ст. 1, 3 і 4 були мінімальними в порівнянні з іншими станціями полігону (табл. 1).

Нижче горизонтальної площадки під сховищами розташований схил з активно вираженими ерозійними процесами, викликаними дощовими потоками (ст. 5-7, 9-13, 17, 18). На цій території присутні всі ознаки спустошення — покритий гаром і соляною кіркою ґрунт, що не був захищений рослинним покривом, формуються дрібні русла струмочків, що переходять у глибокі вимоїни. Ст. 5 розташована на дні яру, що формується, ст. 6 — на ділянці, що не порушена ерозією, але в безпосередній близькості від яру, а ст. 7 — на дні заболоченої ділянки, що приймає стікаючі по яру з верхньої площадки дощові потоки. Токсикометричні показники, що характеризують ст. 5 і 6, свідчать про значно більш високу токсичність зразків, відібраних із дна яру. В екстрактах ґрунту зразка зі ст. 5 загибель найбільш чутливих тест-об'єктів — інфузорій — була відзначена через 10 хв., а в екстракті ґрунту ст. 6 — через 45 хв. Інтегральний показник токсичності (БІТ) для цих станцій складав відповідно 30 і 10. Ґрунт на ст. 7, де спостерігалася злиття потоків води з тераси, характеризувався найбільш вираженими токсичними властивостями в порівнянні з усіма станціями досліджу-

Таблиця 1

**Токсикометричні показники впливу екстрактів ґрунтів на тест-об'єкти**

Станції добору проб	<i>Paramecium caudatum</i>		<i>Ceriodaphnia affinis</i>		Енергія пророс- тання насіння , %	Довжина первинного кореня, %	
	ЛТ, хв	БІТ	ЛТ, хв	БІТ		на 4 добу	на 8 добу
1	10	20	40	10	0	0	34,6
1 (20 см)*	15	20	40	10	0	0	27,2
2	5	30	30	10	50	20,4	34,0
2 (20 см)*	5	30	30	10		0	54,0
3	15	20	40	20	0	0	0
3 (20 см)*	20	20	60	10	25	0	11,14
4	5	40	13	30	0	0	10,8
4 (20 см)*	5	40	13	30	45	30,5	88,0
5	10	30	15	20	65	30,0	32,4
6	45	10	55	5	2	0	7,6
7	1	60	5	30	1	50,4	67,0
9	60	5	180	4	95	60,2	92,3
10**	1440	3	1800	2	55	40,5	100,0
10 (яр)	5	40	10	40	40	20,6	28,0
11	10	30	10	20	30	10,0	28,24
12	720	3	1440	0	85	50,67	91,7
14	720	1	1800	1	80	100,0	100,0
15**	720	1	1400	1	0	0	14,0
15 (яр)	10	10	60	10	0	0	0
16	1440	0	> 2880	0	100	80,8	110,0
17	20	10	60	20	0	0	9,22
18	3	40	5	40	0	0	0
20	> 1440	0	> 2880	0	100	50,8	84,3

Примітка: \* — глибина залягання зразка — 20 см, \*\* — під рослинами.

ваного полігону, включаючи площадку безпосередньо під сховищами, що свідчить про формування токсичних потоків води і концентрування токсичних речовин у поверхневому шарі заболоченого ґрунту яру. Загибель інфузорій і ракоподібних у екстрактах цього зразка була відзначена практично миттєво, через 1 - 5 хв (БІТ = 30 - 60). Аналогічні токсикометричні характеристики були виявлені на ст. 18, яка розташована поруч зі сховищем добрив.

Ґрунтам на великій терасі в районі ст. 9 - 11 властиві значні коливання токсикометричних показників. Істотне підвищення токсичних властивостей ґрунтів, як і на схилі, виявилось у ярах, що формуються. Так, проба, що

була відібрана на дні вибалка (ст. 10), була надто токсична і за токсикометричними показниками не відрізнялася від проб, відібраних на площадці під сховищами. Тест-об'єкти гинули в екстракті ґрунту протягом 5 - 10 хв, а енергія проростання насіння складала 40 % у порівнянні з контролем. Проба (ст.10\*\*), відібрана в безпосередній близькості від русла яру під рослинами, не виявляла гостротоксичних властивостей і тест-об'єкти у цьому досліді виживали протягом 24 - 30 годин. Таким чином, спостерігався мозаїчний розподіл ґрунтів з токсичними та менш токсичними властивостями на значному віддаленні від джерела забруднення. Цей розподіл пов'язаний з ярами, що формуються, та заболоченими ділянками полігону.

На нещодавно розораному полі (ст. 12, 14) показники інтегральної токсичності значно нижчі, ніж на прилеглих неораних ділянках. Інфузорії і ракоподібні виживали в водних екстрактах ґрунтів 12 і більше годин, а БІТ складав 0 - 3. Слід зазначити, що після оранки поля, яке має кут нахилу близько 25 °, знову необоротно активуються ерозійні процеси, що неминуче спричиняє значне підвищення токсичності родючого шару ґрунтів у зв'язку з проникненням забруднених дощових потоків.

Дно глибокого яру, що розташований в нижній частині полігону, було представлене змитим з поля родючим шаром землі з ознаками засолення і залишками нафтопродуктів. У цьому випадку дві проби, відібрані в безпосередній близькості одна від одної, одна — на дні яру (ст. 15), а інша — поруч з ним (ст. 15\*\*), значно відрізнялися токсикометричними характеристиками. БІТ для проби з дна яру складав 10, а для проби, що була відібрана поза впливом дощових потоків, — 1. Ерозійні процеси сприяли розповсюдженню токсичних речовин з поверхневим стоком з більш високих та близьких до джерела забруднення ділянок поля на значні відстані.

На станціях 16 і 20, розташованих у зв'язку з особливостями рельєфу місцевості поза ерозійними ділянками і вище яру, за токсикометричними показниками відхилень від контролю не спостерігалось. Таким чином, можна припустити, що поверхневий родючий шар ґрунтів на зазначених станціях не визнає тиску з боку зруйнованих сховищ пестицидів та добрив.

Крім ґрунтів, на полігоні були досліджені декілька невисихаючих вододій і заболочених ділянок (див. рис. 1), сформованих дощовими водами, у яких загальна мінералізація складала 13,2 - 34,5 г/л. Для інфузорій і ракоподібних зазначені проби виявилися гостротоксичними, бо вони викликали загибель тварин через кілька секунд після переносу їх у середовище, що тестувалося. Фітотоксичність мінералізованих вод також висока: схожість насіння та розвиток кореневої системи у цих варіантах експерименту не спостерігалися.

Дослідження, що були проведені, дали змогу виробити методичний підхід та визначити пріоритети щодо вибору тест-об'єктів для оцінки токсичності ґрунтів на великих полігонах з мозаїчним характером розподілу забруднення. Показано, що найбільш чутливими тест-об'єктами виявилися інфузорії та ракоподібні, виживаність яких у токсичному середовищі була мінімальною, а на найбільш забруднених ділянках полігону не перевищу-

вала 1 - 5 хв. Ці тест-об'єкти дають можливість протягом декількох хвилин виявити найбільш токсичні проби ґрунтів, які потребують ретельного хімічного аналізу. У ряді випадків інфузорії були більш чутливі до специфічного забруднення полігону, ніж загальноприйнятий тест-об'єкт *C. affinis*. Тести на фітотоксичність ґрунтів з використанням проростків вівса мають тривалість 4 - 8 діб; вони менш чутливі і більш тривалі. Тести на рослинах можна використовувати на менш забруднених полігонах, але тестувати в цих випадках слід вже не екстракти, а власне проби ґрунтів. При цьому морфометричні, фізіологічні, біохімічні, цитологічні та інші показники можуть дати цікавий та статистично достовірний матеріал. Однак такі дослідження не можуть бути віднесені до експресного біотестування, яке не повинно перевищувати 48 год.

У мету даних досліджень не входив хімічний аналіз і на його основі оцінка токсичності ґрунтових вод. Однак можна припустити, що всмоктувана у ґрунт чи стікаюча у вигляді поверхневого стоку вода володіє токсичними та фітотоксичними властивостями. Отже, є підстави вважати, що ґрунтові води, які формуються в районі зруйнованих сховищ, можуть мати токсичні властивості і являти реальну загрозу для водоносних артезіанських шарів та криничних вод на значному віддаленні від досліджуваного полігону.

На підставі проведених досліджень можна узагальнити, що токсикометричні показники, що властиві ґрунтам на ділянці під зруйнованими сховищами, на схилі і на розораному полі, є небезпечними для живих організмів. Такі ґрунти повинні підлягати рекультивациі і виводитись із сільськогосподарського виробництва [4]. Можна припустити, що основний шлях поширення забруднюючих речовин на дослідженому полігоні пов'язаний з водною ерозією та поверхневим стоком дощових вод.

## Література

1. Пристер Б. С., Карабань Р. Т., Дятлов С. Е., Панченко Н. Н. Биотестирование почв в зоне промышленного предприятия // Основы биологического контроля загрязнения окружающей среды / Тр. Ин-та прикладной геофизики. — 1988. — Вып. 72. — С. 98-108.
2. Daniels S., Munavar M., Mayfield C. An improved elutriation technique for the bioassessment of sediment contaminants // Hydrobiologia. — 1989. — V. 188-189. — P. 619-631.
3. Брагинський Л. П. Теоретичні передумови (загальні концепції токсикологічної гідроекології) // Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень: Теорія, методи, практика використання. — Львів: Світ, 1995. — С. 7-39.
4. Методические указания по оценке степени опасности загрязнения почвы химическими веществами (Утверждено зам. Главного государственного санитарного врача СССР 13.03.1987. № 4266-87). — М., 1987. — 13 с.

<b>Муравйова О. О.</b> Цитогенетичний аналіз хромосом у пацієнтів з порушенням репродуктивної функції .....	100
<b>Січняк О. Л., Файт В. І., Нагуляк О. І.</b> Ефекти алоплазм на морозостійкість паростків м'якої пшениці .....	105
<b>ГІДРОБІОЛОГІЯ</b>	
<b>Рачинська О. В.</b> Порівняльна характеристика діатомових водоростей мікрофітобентосу твердих субстратів узбережжя Одеської затоки та суміжної акваторії	113
<b>Скріпник І. О.</b> Цитологічні аспекти періодичного впливу міді на діатомові водорості	121
<b>Терентьев А. С.</b> Биоценоз <i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819 ( <i>Bivalvia, Mytilidae</i> ) в Керченском предпроливье Черного моря .....	127
<b>ЕКОЛОГІЯ</b>	
<b>Петросян А. Г., Дятлов С.Є., Тарасенко А. О., Дятлова О. С.</b> Біотестування як метод експрес-оцінки токсичності ґрунтів .....	139
<b>Стойловский В. П.</b> Водно-болотные угодья Придунавья и их роль в сохранении биологического разнообразия .....	146
<b>Якуба І. П.</b> Міграція марганцю на зрошуваних полях півдня Одещини .....	152
<b>ЗООЛОГІЯ</b>	
<b>Крутоголова Т. Ф., Фурман О. К.</b> Кліщі ( <i>Acarina: Gamasida, Oribatei</i> ) у ґрунті під рослинним покривом різного типу .....	163
<b>Крутоголова Т. Ф., Ярошенко Н. О.</b> Вплив штамів <i>Bacillus thuringiensis</i> на личинок деяких родів комарів .....	173
<b>Чайковська К. О.</b> Внутрішньогрупова мінливість яєць малого ( <i>Sterna albifrons</i> Pall.) та річкового ( <i>Sterna hirundo</i> L.) крячків в Азово-Чорноморському регіоні України .....	178
<b>МІКРОБІОЛОГІЯ</b>	
<b>Васильєва Н. Ю., Панченко М. М., Іваниця В. О., Васильєва Т. В.</b> Мікробіологічна біоіндикація і біотестування водою Чорнобильської зони .....	187
<b>Джуртубаєва Л. О.</b> Стійкість до ксенобіотиків представників роду <i>Flavobacterium</i> .....	196
<b>Іваниця В. А., Бухтияров А. Е., Захария А. Н.</b> Аккумуляция кадмия морскими бактериями .....	200