



Матеріали XXIII Міжнародної науково-практичної конференції  
«Екологія. Людина. Суспільство» (м. Київ, Україна, 7 грудня 2023 р.)

Handbook of the XXIII International Science Conference  
«Ecology. Human. Society» (December 7, 2023 Kyiv, Ukraine)

ISSN (Online) 2710-3315  
<https://doi.org>

УДК 504.064:504.4.062.2

## ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ В ПРОЦЕСІ ЕКОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

Валерія ВЕМБЕР<sup>1</sup>, Олена ГЛУШКО<sup>1</sup>, Олена ЛАВРИНЕНКО<sup>2</sup>, Софія ІСНЮК<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний технічний університет України

"Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського"

пр. Берестейський, 37, 03056 Київ, Україна

e-mail: [vvember@gmail.com](mailto:vvember@gmail.com)

Інститут проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України

вул. Омеляна Пріцака, 3, 03142 Київ, Україна

e-mail: [alena.lavrynenko@gmail.com](mailto:alena.lavrynenko@gmail.com)

Забруднення поверхневих вод є однією з найнагальніших проблем сьогодення. Забруднення води може мати наслідки різного масштабу, включаючи підвищення токсичності води, поширення хвороб, втрату біорізноманіття, погіршення якості життя та руйнування екосистем. Найпоширенішими забрудниками води є різні галузі промисловості, сільськогосподарського сектору, міські стоки, викиди транспортних засобів, тощо. Сьогодні через діяльність людини водні екосистеми зазнають суттєвого тиску.

Ефективний екологічний моніторинг є важливим інструментом боротьби з цими проблемами, оскільки він дозволяє виявити джерело забруднення води, оцінити рівень забруднення та ефективність заходів щодо його зниження. [1]

Одна з проблем моніторингу полягає в тому, що дані про вміст токсикантів у воді не несуть інформації про їх токсичність для гідробіонтів та біодоступність, саме тому з середини 70-х років у науково-практичних дослідженнях найбільш актуальними стали пошуки експрес-методів аналізу токсичності різних вод і вмісту у них хімічних сполук, що потрапляють у навколишнє середовище.

Для інтегральної оцінки ступеня токсичності навколишнього природного середовища використовуються методи біоіндикації та біотестування [2].

Застосовуючи метод біоіндикації можна виявити ранній ступінь трансформації хімічного складу водного середовища, оскільки зміна видового складу відбувається навіть у разі слабого забруднення водойм, яке неможливо виявити за допомогою хімічних методів [3, 4].

Як об'єкти для біоіндикації застосовуються різноманітні організми – бактерії, водорості, вищі рослини, безхребетні тварини, ссавці. Для гарантованого виявлення присутності в природному середовищі токсичного агента невідомого хімічного складу, як правило, використовується набір об'єктів, що охоплюють різні таксономічні групи та різні ланки трофічних ланцюгів [5].

Основними перевагами методу біомоніторингу в порівнянні з традиційними інструментальними методами є його здатність реагувати на інтегральний рівень забруднення середовища та виявляти саме біодоступну частину ксенобіотиків в навколишньому середовищі, допомогати виявляти джерела забруднення та контролювати їхній вплив на воду.

Застосування біохімічних показників може значно полегшити розуміння стану довкілля, оцінки рівня забруднення та ідентифікації джерел забруднення поверхневих вод, а також допомогти в з'ясуванні наслідків забруднення для водних організмів та здоров'я людей [6].

Отже, пошук нових підходів до моніторингу поверхневих вод залишається нагальним та актуальним завданням сьогодення. Підбір тест-об'єктів та батарей тест-систем потребує подальшого вивчення та вдосконалення. Тест-об'єкти повинні бути представниками різних систематичних та екологічних груп, які мають різні адаптивні пристосування та чутливість до забруднення. Дотримання подібного підходу дозволить отримати репрезентативну інформацію про стан водних систем в цілому.

Раніше нами була запропонована тест-система, яка задовольняє наведеним вище умовам проведення екологічного моніторингу водних об'єктів. Вона складається з рослини-макрофіта – елодеї канадської (*Eloдея canadensis* Michx.), що відноситься до видів-гіматофітів, контакт яких з водним середовищем та розчиненими в ньому речовинами є більш повним, ніж у вищих рослин, які широко використовуються нині для біотестування (цибуля, крес-салат і т.д.) [7]. Крім того, елодея є видом-космополітом, область її існування охоплює величезні території, що є важливим фактором при обранні організму в якості біоіндикаторного виду.

В якості системного біомаркери на токсичний вплив гербіцидів нами було запропоновано використання ферментативної активності каталази [7]. Каталаза є одним з найпоширеніших ферментів у тканинах всіх аеробних та мікроаерофільних організмів. Вона відноситься до оксидоредуктаз і розкладає на воду та молекулярний кисень перекис водню, який є токсичним для клітини і утворюється в процесі окиснення органічних речовин [8]. Обрання даного тесту пов'язане з тим, що основною функцією каталази є запобігання нарощуванню окиснювального стресу в клітині, а отже вона може виступати в якості інтегрального показника, що чутливо реагує на токсичний вплив різноманітних хімічних речовин [8, 9]. Окрім того, система біохімічних перетворень є однією з найчутливіших ланок підтримання гомеостазу клітини.

**Метою даного дослідження** стало порівняння ефективності виявлення низьких концентрацій пестицидів різного типу у водному середовищі традиційними та біохімічними методами дослідження.

#### **Об'єкти та методи дослідження.**

Гербіциди, що використовувались у роботі, характеризуються різним механізмом дії.

Перший - гліфосат ( $C_3H_8NO_5P$ ) – відноситься до фосфорорганічних контактних гербіцидів та має яскраво виражену системну дію. В роботі використовувалися розчини калієвої солі гліфосату – найпоширенішого гербіциду у світі за об'ємами використання. Препарати гліфосату, проникаючи в усі вегетативні органи, накопичуються в меристематичних тканинах, в зонах активного росту, де порушують фізіолого-біохімічні процеси, що призводить до загибелі рослин. У воді препарат стійкий. Зменшення рівня гліфосату в водній системі відбувається, в основному, за рахунок адсорбції діючої речовини донними відкладеннями, впливу водної мікрофлори та ультрафіолетового випромінювання. ГДК для води водойм – 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

В якості гербіциду, що має відмінний механізм дії, було обрано клетодим ( $C_{17}H_{26}ClNO_3S$ ) – хлорорганічний гербіцид, який виступає інгібітором біосинтезу жирів. Після потрапляння на поверхню листа речовина абсорбується листовою поверхнею і переміщається по флоемі до меристемних регіонів. Препарат накопичується в тканинах, порушує біосинтез ліпідів, викликаючи загибель рослин. Нестабільно піддається розкладанню при підвищеній температурі, під дією УФ світла, при екстремальних значеннях рН. Піддається окисленню і розкладанню в аеробних умовах, період напіврозпаду 1-3 дні. Клетодим стійкий при відсутності сонячного світла у водних розчинах з рН 7-10. ГДК для води водойм – 0,002 мг/дм<sup>3</sup>.

В процесі тестування піддослідні рослини елодеї утримувалися в розчинах, виготовлених шляхом додавання до еталонної води гербіцидних препаратів. Умови утримання під час

процедури біотестування контрольних і піддослідних груп тест-організмів не відрізнялися за фізико-хімічними параметрами за винятком відсутності або наявності гербіциду. Час експозиції елодеї в розчинах гербіцидів становив від 1-єї доби (для визначення гострої токсичності) до 7-ми (хронічна токсичність) діб. Досліди проводили в 3-5-кратній повторюваності.

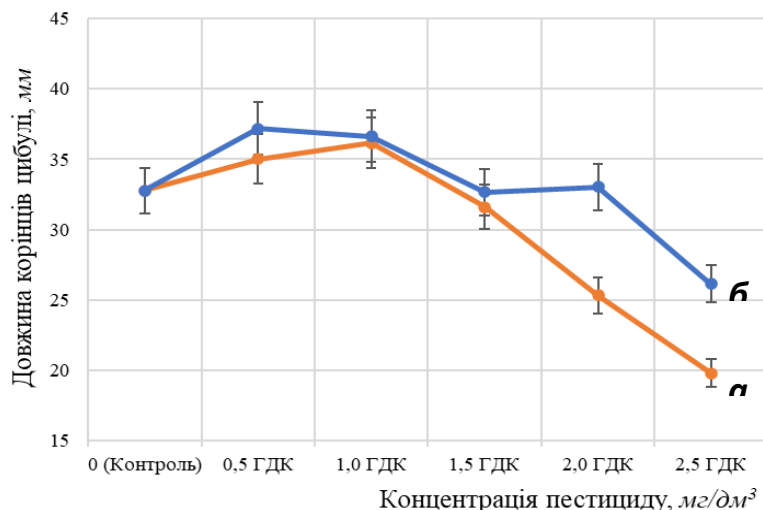
Для визначення каталазної активності використовували безклітинні екстракти елодеї канадської.

Ферментативну активність ендогенної каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за зниженням екстинкції розчину, що містив  $H_2O_2$  у якості субстрату, при додаванні до нього безклітинного екстракту за 1 хв. при температурі  $25 \pm 2^\circ C$  та довжині хвилі 240 нм [10]. Виміри проводили на двопробеновому спектрофотометрі СФ-26. Каталазну активність виражали у перетворених за 1 хв. мкмольх  $H_2O_2$ , віднесених до вмісту білку у реакційній суміші. Одержані дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft Excel.

Для дослідження впливу гербіцидів на ростові та біохімічні параметри рослин використовували наступні концентрації:

- для гліфосату:  $0,01 \text{ мг/дм}^3 - 0,5 \text{ ГДК}$ ,  $0,02 \text{ мг/дм}^3 - 1 \text{ ГДК}$ ,  $0,03 \text{ мг/дм}^3 - 1,5 \text{ ГДК}$ ,  $0,04 \text{ мг/дм}^3 - 2 \text{ ГДК}$ ,  $0,05 \text{ мг/дм}^3 - 2,5 \text{ ГДК}$ ;
- для клетодиму:  $0,001 \text{ мг/дм}^3 - 0,5 \text{ ГДК}$ ,  $0,002 \text{ мг/дм}^3 - 1 \text{ ГДК}$ ,  $0,003 \text{ мг/дм}^3 - 1,5 \text{ ГДК}$ ,  $0,004 \text{ мг/дм}^3 - 2 \text{ ГДК}$ ,  $0,005 \text{ мг/дм}^3 - 2,5 \text{ ГДК}$ .

**Експериментальна частина.** На першому етапі досліджень нами було визначено вплив обраних пестицидів на ростові параметри кореневої системи цибулі ріпчастої. Даний тест є традиційним при тестуванні води на токсичність. Як можна побачити (рис. 1 а), довжина корінців цибулі знаходиться в лінійній залежності від концентрації гліфосату в діапазоні від 1,0 до 2,5 ГДК, що дозволяє виявляти даний гербіцид в поверхневих водах у мінімальних концентраціях. Єдиним недоліком даного підходу є тривалий час, необхідний для пророщування цибулі (7 діб), а також висока трудоемність реєстрації експериментальних даних, яка не може бути автоматизована.



**Рис. 1.** Залежність довжини корінців цибулі від концентрації у воді гліфосату (а) та клетодиму (б)

Що стосується впливу клетодиму на даний показник (рис. 1 б), то мінімальна концентрація, яка призводить до статистично значимих змін в довжині корінців цибулі (порівняно з контролем) – 2,5 ГДК.

Особливо непоказовим щодо виявлення взаємозв'язку між дозою токсиканта та тест-реакцією виявився тест на біомасу корінців (рис. 2). Більше того, впродовж експерименту спостерігалось явище одночасного зменшення довжини корінців та збільшення їхньої маси. Це явище потребує подальшого дослідження та може бути пояснене збільшенням щільності меристематичних тканин коренів цибулі. Подібна реакція рослин на присутність в середовищі вирощування токсиканта може бути необхідною для потенційного захисту клітин, які знаходяться в стані активного поділу.

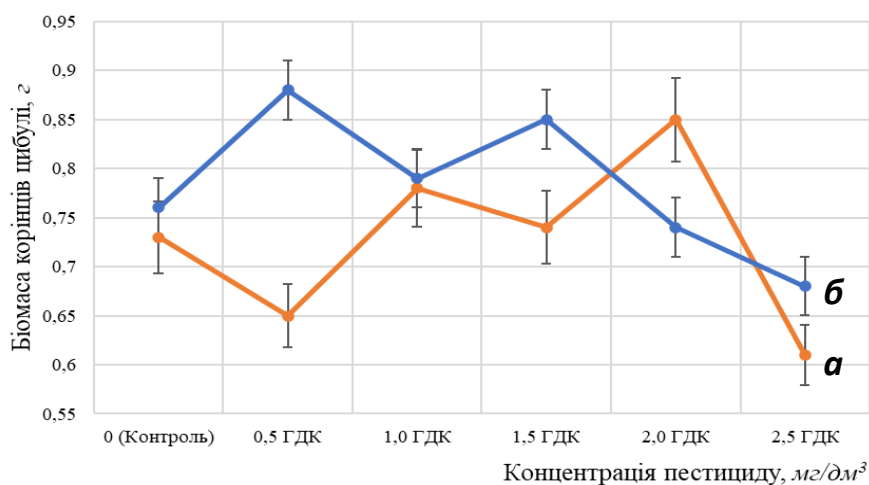


Рис. 2. Залежність біомаси корінців цибулі від концентрації у воді гліфосату (а) та клетодиму (б)

Таким чином, традиційно використовувані тест-реакції рослин не завжди можуть відображати потенційно небезпечне перевищення ГДК токсикантів у водному середовищі.

Однією з найбільш реактивних систем організму є система антиокислювальних ферментів, яка чутливо реагує на будь-які стресові впливи. Серед численних ланок, що входять до її складу, найбільш активним ферментом є каталаза, яка дозволяє розкласти перекис водню, що утворюється в клітинах в аеробних умовах. Тому подальші дослідження були проведені на повністю зануреній у водне середовище рослині - елодеї канадській. В якості тест-реакції використовували зміни каталазної активності елодеї, яка знаходилась у водному розчині пестицидів впродовж 1-4 діб (рис. 3-4).

Перевагою даного методу біотестування в порівнянні з реєстрацією морфологічних показників рослин, є наявність швидкої відповіді на присутність токсиканта в середовищі. Проте статистично значимі зміни каталазної активності елодеї канадської в присутності гліфосату (рис. 3) реєструвалась лише на рівні 2,5 ГДК. Зниження активності ферменту при даній концентрації становило майже 20 %.

Що стосується клетодиму, то статистично значиме зниження ферментативної активності в його присутності (рис. 3) реєструвалися вже на рівні 1,5 ГДК та коливалися на рівні 10-14 % по відношенню до контролю.

При підвищенні тривалості контакту рослин з пестицидами в їхніх організмах відбуваються численні морфологічні та біохімічні перебудови, які сприяють адаптації клітин до токсиканту. Тому важливим є визначення токсичності як в гострому, так і в хронічному експериментах.

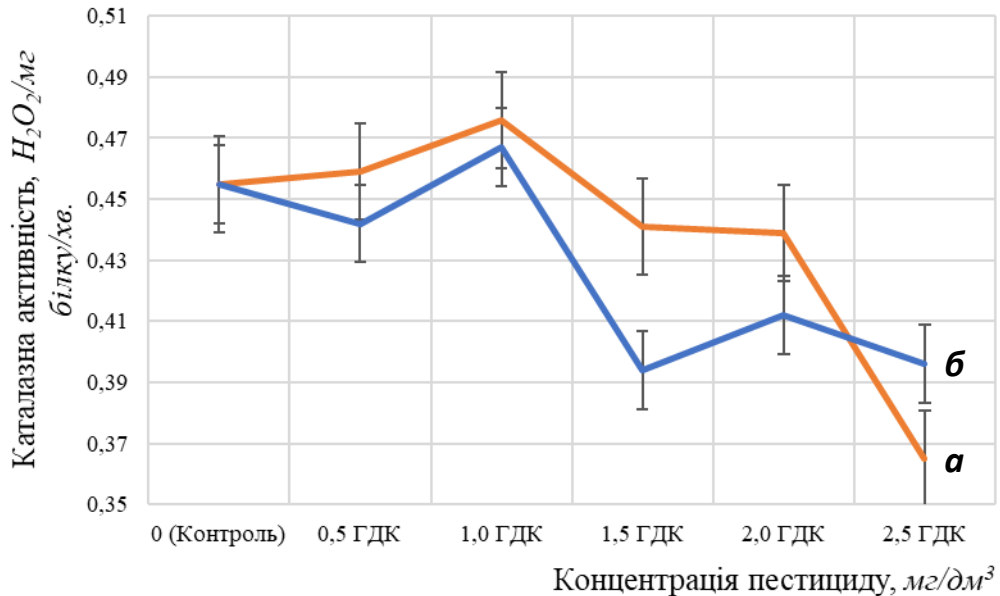


Рис. 3. Залежність каталазної активності елодеї канадської від концентрації у воді гліфосату (а) та клетодиму (б). Тривалість контакту з пестицидами – 1 доба

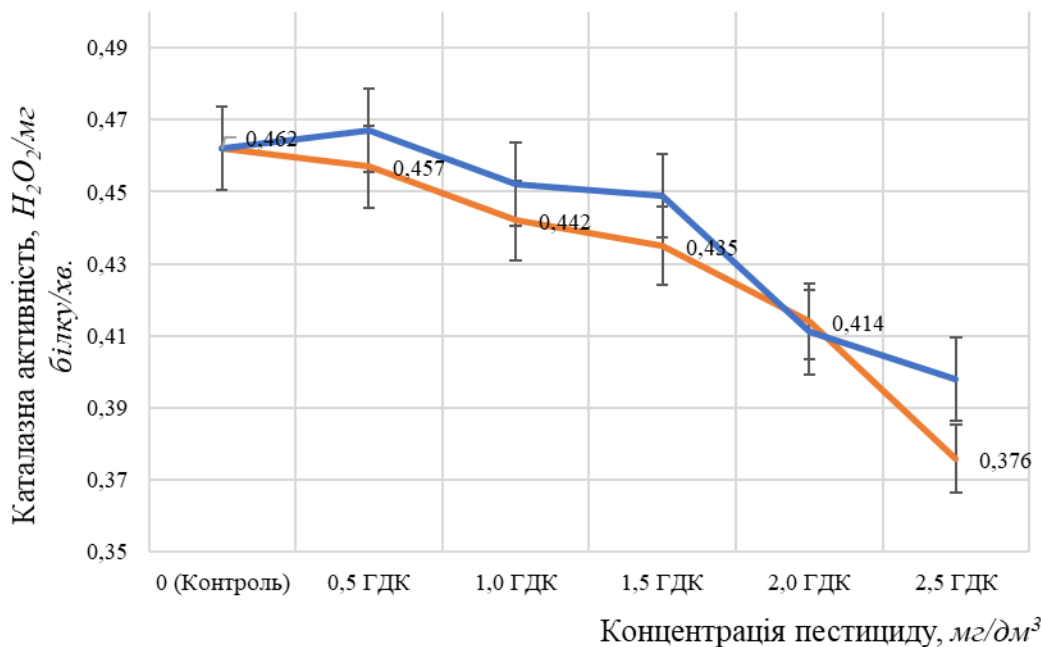


Рис. 4. Залежність каталазної активності елодеї канадської від концентрації у воді гліфосату (а) та клетодиму (б). Тривалість контакту з пестицидами – 4 доби

Можна констатувати, що у вивченому діапазоні концентрацій пестицидів, саме 4-денна експозиція призвела до отримання більш лінійного відгуку тест-системи на концентрацію пестицидів. Особливо помітно це на прикладі гліфосату: нами зареєстроване поступове зниження каталазної активності при збільшенні концентрації даного гербіциду в середовищі вирощування: до 19 % в порівнянні з контрольним значенням (рис. 4).

Зниження активності каталази в присутності клетомиду статистично достовірно відбулося на рівні 2 ГДК та склало біля 14 %.

Таким чином, біохімічні тест-реакції елодеї канадської продемонстрували набагато кращу кореляцію між концентрацією в середовищі її існування пестицидів та відповіддю рослини в порівнянні з морфологічними показниками.

### **Література:**

1. Лотоцька О. В., Бицюра Л. О. Моніторинг поверхневих водних ресурсів в Україні та його законодавча основа. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2021. № 2(88). С. 79–84.
2. Крайнюкова А. Н. Система інтегральної токсикологічної оцінки природних і стічних вод. Східно-європейський журнал передових технологій. 2009. №1(37). С. 30–34.
3. Багдай Т. В., Панас Н. Є., Антоняк Г. Л., Бубис О. Є. Біомоніторинг екологічного стану природних водойм. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2016. Т. 18, №1 (3). С. 190-194.
4. Zhou Q., Zhang J., Fu J., Shi J., Jiang G. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Anal. Chim. Acta. 2008. № 606. P. 135-150.
5. Дідух Я. П. Основи біоіндикації : монографія. Київ : Наук. думка НАН України, 2012. 344 с.
6. Вембер В. В., Шаблій О. В., Бассак А. О., Антоненко Д. І. Використання показника супероксиддисмутазної активності в системі екологічного моніторингу поверхневих вод // Вісник Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Серія «Хімічна інженерія, екологія та ресурсозбереження». 2022. № 1 (21). С. 80-87. DOI:10.20535/2617-9741.1.2022.254162
7. Вембер В. В., Дітяшова І. Г. Вплив гербіцидних препаратів на каталазну активність *Elodea canadensis* Michx. // Вісник Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут». Серія «Хімічна інженерія, екологія та ресурсозбереження». 2016. № 1 (15). С. 55-60.
8. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
9. Vasylykiv Olena Yu., Kubrak Olga I., Storey Kenneth B., Lushchak Volodymyr I. Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole / Olena Yu. Vasylykiv, Olga I. Kubrak, Kenneth B. Storey, Volodymyr I. Lushchak // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 101 (1). – P. 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.005>  
Ali A. Farman, Mahmoud Hussein Hadwan. Simple kinetic method for assessing catalase activity in biological samples, *MethodsX*, Volume 8, 2021, 101434, ISSN 2215-0161, <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101434>.