

Изобретение относится к биологическому мониторингу пресных вод, а именно, - к биологическому способу экспресс-оценки радиоактивного загрязнения дна водоемов, которое может быть использовано в области водной радиэкологии, санитарно-биологических исследований водоемов, экологическом мониторинге и картировании радиоактивного загрязнения водоемов.

Прототипом является способ определения токсичности природных и сточных вод по изменению скорости движения цитоплазмы в клетках валлиснерии спиральной (*Vallisneria spiralis*) под влиянием испытуемых водных сред (Заявка СССР №4827230/13 от 21.05.90 с датой положительного решения от 16.08.91), где о степени токсического влияния вод судят по изменению величины скорости движения цитоплазмы в клетках тест-организма, подвергнутого воздействию токсиканта, по отношению к таковой у контрольных растений, не подвергшихся токсическому воздействию.

Общими признаками с заявляемым изобретением является использование в качестве тест-функции изменение величины скорости движения цитоплазмы в клетках водного растения, сравнение исследуемой пробы воды с контролем. Но при такой последовательности операций невозможно определить радиоактивное загрязнение дна водоемов.

Задачей, на решение которой направлено изобретение, является создание способа определения радиоактивного загрязнения дна водоемов и водотоков при помощи биологической тест-функции водного растения - скорости движения цитоплазмы в его клетках, путем тестирования двух проб воды, отобранных в поверхностном и придонном слоях водного столба, что позволяет расширить диапазон определяемых загрязнителей и наряду с химическими токсикантами регистрировать наличие повреждающего фактора физической природы, а именно радиоактивности.

Решение задачи достигается следующим образом. Тестируемой водой воздействуют на водное растение, а затем оценивают его тест-функцию, при этом пробы воды отбирают из поверхностного и придонного слоев водного столба, в них помещают листья водного растения и определяют изменение величины функционального показателя - скорости движения цитоплазмы, полученные данные сравнивают с характеристикой контроля, а затем сопоставляют их между собой по формуле $K_r = V_s/V_b$, где V_s - скорость движения цитоплазмы в клетках растений, проэкспонированных на исследуемой воде из поверхностного слоя водного столба, V_b - скорость движения цитоплазмы в клетках растений, проэкспонированных на исследуемой воде, отобранной в придонном слое водного столба, K_r - коэффициент реверсии, величина которого меньше единицы свидетельствует о наличии радиоактивного загрязнения, а равная или превышающая единицу - о его отсутствии.

В качестве водного растения используют валлиснерию спиральную (*Vallisneria spiralis*).

Причинно-следственная связь между существенными признаками заявляемого изобретения и достигаемым техническим результатом заключается в том, что ионизирующее излучение (R , γ , β) при небольших экспозициях (в течение 1-3 часов) снижает вязкость цитоплазмы, вследствие чего сильно увеличивается скорость ее движения. Поскольку ионизирующее излучение загрязненного дна охватывает небольшой слой придонной воды и не доходит до поверхностного слоя водной толщи, то различия характеристик этих слоев воды по биотесту с существенным преобладанием величины скорости движения цитоплазмы у растений под влиянием придонных вод над таковой под влиянием поверхностных вод свидетельствует о радиоактивном загрязнении дна водоема.

Обнаружение реверсии получаемых характеристик поверхностных и придонных вод имеет исключительно важное значение, так как при проведении тотального мониторинга пресноводных водоемов и водотоков на токсичность их вод (заявка, служащая прототипом) это явление свидетельствует одновременно и о радиоактивном загрязнении, которое при его обнаружении по необходимости может быть измерено инструментально. Экспресс-оценка и оперативное выявление очагов радиоактивного загрязнения в водоемах особенно актуально в связи с произошедшей аварией на Чернобыльской АЭС. При помощи этого способа в силу его простоты, дешевизны можно констатировать не только наличие радиоактивного загрязнения, но и районировать его, а также проследить за ареалом его распространения.

Функциональным показателем физиологического состояния тест-организма, в качестве которого используют валлиснерию спиральную, является изменение скорости движения цитоплазмы у растений, подвергшихся воздействию тестируемых вод по отношению к таковой у растений, экспонировавшихся на чистой воде. Для определения радиоактивного загрязнения тестируют поверхностные и придонные воды, а затем по соотношению полученных характеристик судят о наличии или отсутствии радиоактивного загрязнения.

В чистых водоемах, не имеющих радиоактивного или другого вида загрязнений, в силу различий насыщения кислородом разных горизонтов водной толщи, скорость движения цитоплазмы у тест-организма под влиянием поверхностных вод всегда немного выше, чем в контроле ($\approx 110-120\%$), а под влиянием придонных вод - несколько ниже ($\approx 90-95\%$), то есть соотношение величин функционального показателя всегда больше единицы. При возникновении реверсии этих показателей, когда придонная вода резко стимулирует движение цитоплазмы и соотношение двух характеристик становится меньше единицы - констатируют радиоактивное загрязнение дна водоема.

В качестве тест-организма можно использовать и другие водные растения, например элодею или корневые волоски водокраса и др., для которых характерны крупные клетки и ротационное движение цитоплазмы. Однако, при проведении массовых определений наиболее удобна валлиснерия, так как она легко культивируется в аквариумах и у нее для тестирования используется до 80% биомассы, в то время как у элодеи и водокраса для этих целей пригодны лишь 1-2% биомассы, а иногда и десятые доли процента.

Способ осуществляется следующим образом. При помощи батометра отбирают пробы поверхностной и придонной воды и наливают ее в соответственно маркированные химические стаканчики. В каждый химический стакан наливают приблизительно 100-150 мл воды и помещают туда 1-2 листа валлиснерии. Листья экспонируют в течение 1-1,5 часов при температуре 20-25°C. Контролем служат растения, экспонируемые в чистой аквариумной воде, в которой выращивали валлиснерию. По истечении экспозиции

лист валлиснерии вынимают из стакана и готовят препарат для просмотра под микроскопом. Для этого из медиальной части листа высекают три кусочка листовой пластинки и помещают их на предметное стекло в каплю воды, в которой экспонировались листья, накрывают покровным стеклом и просматривают на световом микроскопе (объектив 40, окуляр 7). Маркером при измерении скорости движения бесцветной прозрачной цитоплазмы служат увлекаемые ею крупные яркоокрашенные внутриклеточные структуры - хлоропласты. Наблюдения ведут в прозенхимных клетках листа вблизи центрального сосудисто-волокнистого пучка. Эти клетки удобны для проведения наблюдений, так как в оптической проекции они имеют сильно вытянутые боковые стороны и короткие основания. Благодаря ротационному движению цитоплазмы хлоропласты перемещаются вдоль длинной оси клетки с определенной постоянной скоростью, которая легко измеряется при помощи окулярмикрометра и секундомера. Скорость движения рассчитывается по формуле $V = l/t$, где V - скорость движения цитоплазмы, количество делений/сек; l - количество делений окулярмикрометра; t - время, сек.

Повторность опытов трехкратная. В каждом препарате проводят по 20-30 измерений. Полученный материал обрабатывают статистически при помощи формул, общепринятых в практике вариационной статистики. Затем полученные величины скорости движения цитоплазмы у растений в опытных образцах воды выражают в процентах по отношению к таковой у контрольных и рассчитывают коэффициент реверсии (K_r по формуле $K_r = V_s/V_b$, где K_r - коэффициент реверсии исследуемых характеристик; V_s - скорость движения цитоплазмы в клетках тест-организма под влиянием поверхностных вод, % к контролю; V_b - скорость движения цитоплазмы в клетках тест-организма под влиянием придонных вод, % к контролю).

При этом, если K_r - равен или больше единицы - радиоактивное загрязнение отсутствует, если K_r меньше единицы - радиоактивное загрязнение есть.

Пример. На научно-исследовательском судне "Академик Вернадский В.И." отбирали пробы воды в различных точках каскада днепровских водохранилищ. Особое внимание было уделено Киевскому водохранилищу, его наиболее загрязненным и относительно чистым участкам акватории. Пробы поверхностных и придонных вод исследовали предлагаемым способом (сущность метода описана выше). Для подтверждения наличия радиоактивного загрязнения в местах проводимых исследований помимо отбора проб воды для тестирования отбирали пробы донных отложений. В них определяли содержание цезия-137 общепринятыми физико-химическими методами - ферроцианидным методом с последующим измерением конечного продукта Cs_3 , Sb_2 , I_3 на установке малого фона УМФ 1500 М с торцовым счетчиком СБТ-13.

**Определение радиоактивного загрязнения Киевского водохранилища
при помощи биотеста**

Точка отбора проб	Слой воды	М (время прохождения хлоропластом 1 деления окулярмикрометра) сек	M±m (скорость движения цитоплазмы)		Оценка радиоактивного загрязнения по биотесту, K _r	Концентрация ¹³⁷ Cs в донных осадках, Ки/кг
			дел./сек	% к контролю		
Валлиснерия спиральная						
Контроль	—	2,1	1,43±0,009	100	—	—
Устье Припяти (буй 210)	пов.	2,1	1,43±0,013	100	0,67	1,14·10 ⁻⁷
	прид.	1,4	2,14±0,019	150		
Вход в Домонтовский залив	пов.	2,1	1,43±0,016	100	0,71	6,04·10 ⁻⁸
	прид.	2,0	2,0±0,015	140		
Домонтовский залив	пов.	1,8	1,66±0,031	116	0,72	5,66·10 ⁻⁸
	прид.	1,3	2,31±0,014	161		
Комарин	пов.	2,0	1,50±0,014	105	1,15	8,0·10 ⁻¹⁰
	прид.	2,9	1,03±0,017	96		
Элодея канадская						
Контроль	—	2,3	1,30±0,035	100	—	—
Устье Припяти (буй 210)	пов.	2,3	1,30±0,083	100	0,74	1,14·10 ⁻⁷
	дно	1,7	1,76±0,097	135		
Домонтовский залив	пов.	2,1	1,43±0,111	110	0,86	5,66·10 ⁻⁸
	дно	1,8	1,67±0,035	128		
Комарин	пов.	2,2	1,36±0,048	105	1,19	8,0·10 ⁻¹⁰
	дно	2,6	1,15±0,069	88		

П р и м е ч а н и е. До аварии в донных наносах Киевского водохранилища содержание ¹³⁷Cs — 1–3 · 10⁻¹⁰ Ки/кг.