



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34783 (13) A

(51) 6 G01N33/18, A01K61/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ МОРСЬКОЇ ВОДИ

(21) 99073833

(22) 06.07.1999

(24) 15.03.2001

(46) 15.03.2001, Бюл. № 2, 2001 р.

(72) Оскольська Ольга Іллівна, Тимофеев Віталій  
Анатолійович, Бондаренко Людмила Василівна(73) ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРІВ НАН  
УКРАЇНИ

(57) Спосіб визначення токсичності морської води з використанням, наприклад, середземноморської мідії *Mytilus galloprovincialis*, який складається в дослідженні м'якунів, побудованні калібровочної

прямої і порівнянні з нею даних з різних районів дослідження, який відрізняється тим, що у м'якунів *Mytilus galloprovincialis* досліджують морфологічні показники, а саме площу і об'єм зяберних пелюсток, розраховують показник приведеної питомої поверхні  $So$ , будують контрольний графік залежності приведеної питомої поверхні  $So$  від довжини черепашки  $L$  для умовно чистого району і порівнюють дані  $So$  і  $N$ , отримані для м'якунів із районів дослідження, причому  $So$  для відносно чистих районів дослідження розташовуються на рівні або нижче контрольної прямої, а для забруднених районів - вище.

Припускаємий винахід відноситься до біологічних способів визначення токсичності водних середовищ і може бути використан в санітарній гідробіології та водній токсикології.

Відомий спосіб визначення токсичності води (див. А.С. N 1405745, МКВ А01К 61/00, G01N 33/18, СССР), за яким в ролі тест-об'єкту використовується червона водорість роду *Callithamnion*, а о ступені токсичності досліджуємої проби судять по інтенсивності виходу фітобілінових пігментів з водоростей. Недоліки цього способу в тому, що досліди по визначенню ступеню токсичності проводилися в лабораторних умовах, тому отримані дані можуть суттєво відрізнятися від таких в природному середовищі. Крім того, за цим способом вивчається токсичність лише окремих хімічних сполук: пірокатехіну і фенолу з різною концентрацією без урахування комплексу речовин, здатних впливати на ступень токсичності води. Інтенсивність флуоресценції пігментів вимірювали на протязі 12 годин, тобто експеримент був короткочасним і реакція водоростей при більш довготривалій експозиції невідома.

Відомий спосіб визначення токсичності води (див. А.С. № 1328756, МКВ G01N 33/18, А01К 61/00, СССР). За цим методом гідробіонтів поступово адаптують до умов утримання в чистому середовищі, роблять калібровочні криві залежності концентрації еталонного токсиканта від часу появи екстремумів показників гідробіонтів і відносної величини цих екстремумів. Досліджуєме водне середовище нагрівають і аерірують до отримання

значень температури і концентрації кисню в ній, відповідних до тих, в яких раніше адаптувались гідробіонти. Потім замінюють чисте водне середовище в посудині з гідробіонтами на досліджуєме водне середовище, реєструють зміни в часу величин показників у гідробіонтів в цьому середовищі, фіксують час появи екстремумів показників або їхню відносну величину. Після цього на калібровочних кривих визначають концентрацію еталонного токсиканту, яка відповідає часу появи екстремумів показників гідробіонтів, занурених в досліджуєме водне середовище, або відносної величини цих екстремумів. На роль гідробіонтів беруть риб, м'якунів, річкових раків, вищі водні рослини.

Недоліки цього способу є в тому, що в ньому надаються результати, отримані при короткочасній дії досліджуємого водного середовища на гідробіонтів. Невелика кількість токсиканту при короткочасній дії може стимулювати адаптивні реакції, але ж при довгочасній дії така ж кількість токсиканту може пригнічувати розвиток або призводити до летального ісходу. Відповідність організмів на раптовий вплив хімічних речовин високої концентрації, як правило, суттєво відрізняються від тих, що діють постійно, що звичайно спостерігаються в природі. Наданий метод досить трудомісний, вимагає певного часу, матеріалів і сил, тому його не можна використовувати як експрес-метод.

В основу винаходу. Способу визначення токсичності морської води, поставлена задача шляхом дослідження морфологічних показників м'якунів *Mytilus galloprovincialis* та побудування конт-

(19) UA (11) 34783 (13) A

рольної лінії регресії приведеної питомою поверхні зябр м'якунів різних розмірних груп і співставлення з неї даних  $So$  і  $N$ , отриманих для м'якунів із районів дослідження, забезпечити простоту і надійність способу визначення токсичності морського середовища.

В багатьох біотопах мідії є домінуючими видами зообентоса. Завдяки високій плодючості, вони є провідним компонентом донних угруповань, виконуючим функцію біофільтра, що сприяє якості підтримання якості морського середовища за рахунок трансформації і деструкції органічних і мінеральних сполук, які потрапляють в водну товщу. Виділяючи компоненти забруднення з води, більшість двостулкових м'якунів мають різку стійкість до дії токсикантів, що дозволяє їхнє використання при біомоніторингу стану середовища.

В наданому способі індикаторною морфологічною структурою, реагуючої на антропогенне навантаження, обрані зябра, так як вони перші вступають в безпосередній контакт із забрудниками. При цьому токсиканти впливають як на структуру тканин, розчиняючи і пошкоджуючи їх, так й на функції, які вони виконують, зокрема, затримують газообмін. Для виділення критеріїв життєвих форм використан універсальний безрозмірний позамасштабний показник приведеної питомої поверхні  $So$ , який дорівнює відношенню корня квадратного з поверхні зябра до корня кубічного з їхнього об'єму. Використання ступінцевих показників вихідних параметрів дозволяє значно знизити можливу помилку при розрахунках. Коефіцієнт може бути використан для об'єктів будь-якої форми. Мінімальне значення  $So$  має кулька, але ж з збільшенням ступеню розсіченості об'єкту цей показник зростає.

Поставлена задача досягається тим, що в способі визначення токсичності морської води при дослідженні середземноморської мідії *Mytilus galloprovincialis* побудованні калібровочної прямої і порівнянні з нею даних з різних районів досліджень, у м'якунів *Mytilus galloprovincialis* досліджують морфологічні показники, а саме, площу і об'єм зяберних пелюсток, розраховують показник приведеної питомої поверхні  $So$ , будують контрольний графік залежності питомої поверхні  $So$  від довжини черепашки  $L$  для умовно чистого району і порівнюють дані  $So$  і  $N$  - кількість зяберних філоментів, отримані для м'якунів з районів дослідження, причому  $So$  для відносно чистих районів дослідження розташовуються на рівні або нижче контрольної прямої, а для забруднених районів - вище.

Спосіб реалізується наступним чином. Об'єкт дослідження - *Mytilus galloprovincialis* різних розмірних груп. М'якунів відбирають в різних за екологічними умовами акваторіях Криму. Визначають  $So$  адсотрофних структур. В випадку з м'якунами цей показник несе не тільки морфологічне, але й фізіологічне навантаження, так як від того, як організований об'єм зябра, в більшості залежить характер обміну речовин. Для визначення  $So$  у живих м'якунів виділяють зябра і розташовують під бінокляром. Виміри роблять за допомогою бінокулярної лінійки. Площу і об'єм зяберних пелюсток визначають за стандартними формулами. Далі будують і співставляють з контрольною лінією дані  $So$  і  $N$ , отримані для м'якунів з районів досліджен-

ня. Якщо значення  $So$  у досліджуваних м'якунів буде лежати вище побудованої нами контрольної прямої 1 (див. фіг. ), тоді можна припустити можливість довготривалого забруднення району; якщо на рівні або нижче - район збору проб досить чистий. В табл. 1 наводяться дані про екологічний стан досліджуваних районів.

Приклад реалізації способу.

Досліджували морфологічні показники м'якунів, зібраних з районів бухти Ласпи, причальної стінки Камишовського порту в бухті Камишова, бухти Севастопольської (район ГРЕС), кутової частини бухти Южної, пляжа бухти Карадазької (район Біостанції) і скельного зтвору Золотих воріт (узбережжя Карадагу). Збір здійснювали в 1994-1997 роках на скельних ґрунтах з глибини 2-3 метра. В зв'язку з тим, що води бухти Ласпи вважаються умовно чистими, м'якуни з цієї бухти можуть бути контролем. Отримані в цьому районі дані полегли в основу побудовання базової прямої розвитку зяберної поверхні мідій в широкому розмірному діапазоні, відносно якої оцінювали показник м'якунів з інших акваторій. Дані досліджень надані в таблиці 2 і 3.

Зниження значень маси тіла до маси ступок і довжини м'якунів до їхньої висоти свідчить про порушення ростових процесів. Спостерігаємо збільшення числа зяберних філоментів, площі  $So$  зябр м'якунів по мірі зростання антропогенного навантаження обумовлював ріст об'ємних показників з порушенням пропорцій черепашки.

В табл. 2 і 3 надан критерій Ст'юдента ( $t_s$ ), розрахований для вибірок контрольної групи (б. Ласпі) і кожного з районів дослідження. Встановлено, що з усіх обраних нами морфологічних показників  $So$  і  $N$  характеризуються більшою достовірністю відмін у м'якунів контрольного і порівнюваного з ним району (табл. 2). З фізіологічних показників це -  $C_n$ ,  $C_k$  і АТФ-аза. Зниження  $C_n$  більш, ніж у 2 рази, АТФ-азної активності у 4,5 рази і  $C_k$  у 7,6 разів говорить про граничні навантаження на роботу фізіологічного апарату у мідій з бухти Южної. При порівнянні цих показників для мідій з районів досліджень з контрольними в усіх випадках отримані достовірні відмінності, тоді як інші показники не дали таких вагомих відмін. Цей факт підтверджує слушність вибору і використання  $N$  і  $So$  для біоіндикації морського середовища.

На фіг. надан графік розвитку зяберної поверхні мідій різних розмірних груп із різних за екологічним станом акваторій Криму: 1 - бухта Ласпі, 2 - Золоті ворота (Карадаг), 3 - пляж Біостанції (Карадаг), 4 - бухта Камишова (порт), 5 - бухта Севастопольська (р-н ГРЕС), 6 - бухта Южна (кутова). Бачимо, що, якщо значення  $So$  у досліджуваних м'якунів будуть лежати вище побудованої нами прямої 1 (умовно чиста бухта Ласпі), то можна припустити можливість довгострокового забруднення району, якщо на рівні або нижче - район збору проб достатньо чистий. З збільшенням забруднення району прямі розвитку зяберної поверхні розташовуються не тільки значно вище контрольної прямої 1, зростає і кут їхнього нахилу, але достовірність відмін встановлена по цьому параметру для лінії регресії 2 і 6. Можна припустити, що в цих бухтах кількість важких металів збільшена. За розташуванням ліній регресії: на фіг. бачимо, що ба-

зова пряма займає нижню позицію, тоді як всі інші займають більш високий рівень.

Із прикладу бачимо, що:

- мінімальної величини досягає відношення довжини черепашки до її висоти в найбільш забрудненій Южній бухті, а максимальної - в контрольній бухті Ласпі. Відмінності достовірні в найбільш забруднених бухтах відносно контрольної;

- морфометричні показники зябр мідій - приведена питома поверхня  $S_0$  і число зяберних філоментів  $N$  - зростають по мірі збільшення ступеню забруднення морських акваторій і досягають максимуму в бухті Южній. Значення  $S_0$  змінюються в межах від 2,5 (Ласпі) до 4,3 (Южна); значення  $N$  від 31 до 46 відносно;

- порівняння показників  $S_0$  і  $N$  для мідій районів досліджень з контрольними в усіх випадках

достовірні і можуть бути використані для визначення токсичності морської води;

- при збільшенні забрудненості району дослідження лінія регресії розвитку зяберної поверхні розташовується вище контрольної (Ласпі), досягаючи максимального рівня у м'якунів бухти Южної. Якщо рівень розташування регресії співпадає з контрольної або нижче її - район збору проб відносно чистий

Запропонований спосіб визначення токсичності морської води відносно простий і надійний. Він не потребує великих матеріальних витрат для порівняльної оцінки забрудненості водних акваторій. Спосіб може бути успішно використаний не тільки для біоіндикації, а й при виконанні довгострокових прогнозів стану морських екосистем.

Таблиця 1

Вміст органічної речовини, хлороформових бітумоїдів, масова частка вуглецю та азоту, їх співвідношення в донних відкладеннях

	Орг. реч., %	Хлорофор. бітумоїд, г/100 г	Вуглець, г/100 г	С орг., %	N заг., %	C/N
Бухта Ласпі	0,87	0,01	—	0,82	0,13	6,3
Золоті ворота (Карадаг)	1,32	0,06	—	1,19	0,19	6,2
Пляж Біостанції (Карадаг)	1,60	0,06	—	0,88	0,10	8,8
Бухта Камишова (порт)	3,80	0,42	0,17	2,09	0,08	26,12
Бухта Севастопольська (р-н ГРЕС)	7,46	1,90	1,49	4,10	0,23	17,83
Бухта Южна (кутова)	9,59	4,06	4,56	5,27	0,31	17,00

Таблиця 2

Деякі морфологічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* з різних за екологічним станом чорноморських бухт:

відношення довжини м'якуна до його висоти ( $L/h$ ),

площа зяберної поверхні ( $S$ ),

кількість зяберних філоментів ( $N$ ) при виборці  $n=10$ ,

$t_s$ -критерій Ст'юдента розрахунковий,  $t$  табличний при  $P=0,95$  дорівнює 2,26,

показник приведеної питомої поверхні  $S_0$

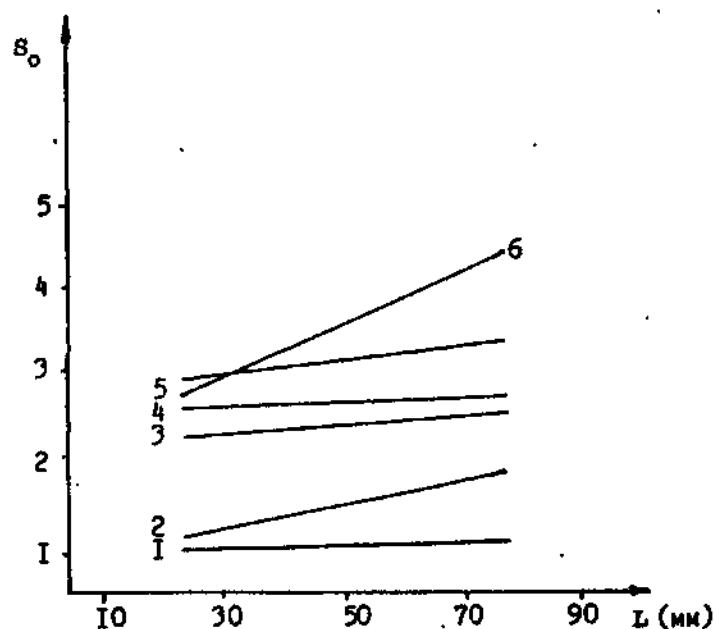
	$L/h$ M±mM	$t_s$	$S$ M±mM	$t_s$	$S_0$ M±mM	$t_s$	$N$ M±mM	$t_s$
Бухта Ласпі	2,7±0,10	0,56	0,25±0,01	0,00	2,5±0,16	3,51	31±1,79	3,25
Золоті ворота (Карадаг)	0,12±0,15		0,25±0,02		3,4±0,20		40±2,11	
Бухта Ласпі	2,7±0,10	1,12	0,25±0,01	1,67	2,5±0,16	4,73	31±1,79	4,92
Пляж Біостанції (Карадаг)	2,5±0,15		0,28±0,02		3,8±0,22		44±1,94	
Бухта Ласпі	2,7±0,10	2,50	0,25±0,01	2,63	2,5±0,16	6,64	31±1,79	6,01
Бухта Камишова (порт)	2,2±0,18		0,30±0,02		4,1±0,18		45±1,49	
Бухта Ласпі	2,7±0,10	2,38	0,25±0,01	3,00	2,5±0,16	5,25	31±1,79	5,27
Бухта Севастопольська (р-н ГРЕС)	2,2±0,19		0,30±0,02		4,1±0,26		46±2,21	
Бухта Ласпі	2,7±0,10	2,50	0,25±0,01	2,22	2,5±0,16	3,06	31±1,79	4,94
Бухта Южна (кутова частина)	2,1±0,07		0,31±0,03		4,3±0,57		46±2,45	

Таблиця 3

Деякі фізіологічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* з різних за екологічним станом чорноморських бухт:

відношення сухої маси тіла до маси ступок ( $mT/mC$ ),  
 концентрація каротиноїдів ( $Ck$ ),  
 концентрація ліпідів ( $Cл$ ),  
 АТФ-азна активність зябра (АТФ-аза) при виборці  $n=10$ ,  
 $t_s$  - критерій Ст'юдента расчетний,  
 $t$  - табличний при  $P=0,95$  дорівнює 2,26

	$mT/mC$ М+мМ	$t_s$	$Ck$ М+мМ	$t_s$	$Ck$ М+мМ	$t_s$	АТФаза М+мМ	$t_s$
Бухта Ласпі Золоті ворота (Карадаг)	0,11+0,10 0,12+0,01	0,10	0,12+0,01 0,12+0,01	0,00	6,2+0,18 6,0+0,21	0,70	0,58+0,12 0,51+0,02	0,59
Бухта Ласпі Пляж Біостанції (Карадаг)	0,11+0,10 0,11+0,01	0,00	0,12+0,01 0,10+0,01	0,02	6,2+0,18 5,4+0,37	1,8	0,58+0,12 0,50+0,02	0,65
Бухта Ласпі Бухта Камішова (порт)	0,11+0,10 0,08+0,01	0,30	0,12+0,01 0,07+0,01	0,05	6,2+0,18 1,1+0,16	21,2	0,58+0,12 0,21+0,03	2,9
Бухта Ласпі Бухта Севастопо- льська (р-н ГРЕС)	0,11+0,10 0,07+0,01	0,40	0,12+0,01 0,05+0,01	0,07	6,2+0,18 0,8+0,18	21,6	0,58+0,12 0,12+0,02	3,8
Бухта Ласпі Бухта Южна (кутова частина)	0,11+0,10 0,07+0,01	0,40	0,12+0,01 0,05+0,01	0,07	6,2+0,18 0,8+0,18	21,6	0,58+0,12 0,12+0,03	3,7



Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 - 72 - 89 (03122) 2 - 57 - 03