

# ТЕСТ-СИСТЕМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖИВЫХ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Тилова Л.Я.<sup>1</sup>, Хоменко К.А.<sup>2</sup>, Штокина Е.А.<sup>3</sup>, Кацнельсон Е.И.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Тилова Лобар Янабаевна - студент;

<sup>2</sup>Хоменко Ксения Александровна - студент;

<sup>3</sup>Штокина Ева Александровна - студент,

факультет химико-биологических и географических наук;

<sup>4</sup>Кацнельсон Екатерина Иосифовна - преподаватель,

кафедра химии и естественнонаучного образования,

Витебский государственный университет им. П.М. Машиерова,

г. Витебск, Республика Беларусь

**Аннотация:** в условиях возросшей антропогенной нагрузки на биосферу планеты водные экосистемы, являясь элементом природной системы и находясь в динамичном равновесии со всеми другими компонентами, подвергаются деградиционным процессам. Потоки веществ, попадая в воду в результате антропогенной деятельности, включаются в естественные циклы, нарушая нормальное функционирование водных экосистем. Среди различных биологических критериев оценки антропогенного влияния на водоёмы наиболее оперативными и перспективными являются биохимические показатели. Среди поллютантов, поступающих в окружающую среду в результате антропогенного загрязнения, важную роль играют тяжелые металлы. Исследования показывают, что в последние десятилетия их содержание во всех природных средах неуклонно нарастает. Тяжелые металлы могут оказывать токсическое действие на гидробионтов, изменяя их видовое разнообразие, численность и содержание ключевых биохимических показателей.

**Ключевые слова:** водные гидробионты, рыбы гуппи, легочные пресноводные гидробионты, тест-системы, токсичность, водные экосистемы.

Известно, что для оценки токсичности природных вод, промышленных сбросов, почвы, кормов и прочих объектов окружающей среды, а также новых химических веществ широко используются тесты на различных организмах. В качестве тест-объектов используются представители различных систематических групп: высшие и низшие растения, гидробионты, простейшие, крысы, клетки крови человека, клетки спермы быка и др. [1].

Учеными был проведен эксперимент, где в качестве тест-объекта для исследования острой токсичности различных загрязнителей окружающей среды были использованы рыбы гуппи (два подвида) и катушка роговая [1]. В качестве объекта исследования выступали соединения тяжелых металлов (сульфат кадмия (II) и сульфат меди (II)), представляющие собой наиболее типичные и широко распространенные загрязнители окружающей среды с ярко выраженной биологической активностью. Исследование токсичности сульфата меди (II) на двух подвидах гуппи не выявило межвидовой и внутривидовой чувствительности к данному веществу. У всех видов рыб в течение первых 15 минут нахождения в разбавлениях, соответствующих 2 и 3 классу опасности, наблюдалось резкое снижение активности. Через час пребывания у рыб появилась полная дезориентация в пространстве, движения стали резкими и хаотичными, дыхание – слабым. Исследование токсичности сульфата кадмия (II) выявило идентичную картину: яркие признаки сильной интоксикации появились спустя 25 минут после начала эксперимента. Движения были хаотичными, прерывистыми, движения жабр были очень слабыми, рыбы впадали в агонию. 50% смертность в разбавлении 1:1000, позволила отнести оба соединения ко 2 классу опасности, что соответствует расчетному классу опасности. Регистрация тест-откликов системы на воздействие модельных растворов солей тяжелых металлов в различных разведениях позволила охарактеризовать исследуемые соединения как обладающие ярко выраженными токсичными свойствами по отношению к рыбам. Но активность токсиканта может быть различной по отношению к разным животным организмам, поэтому в эксперимент были введены иные гидробионты, что позволило в полной мере оценить токсичность для животных организмов и прогнозировать опасность токсикантов в конкретной эколого-гигиенической ситуации при водно-миграционном пути распространения [1].

При проведении эксперимента по выживаемости моллюсков в водном растворе сульфатов меди и кадмия двухвалентных в разведении 1:100 (3 класс опасности), наблюдалась 100% смертность тестируемого объекта в течение двух часов. При этом зачастую происходило «выпадение ноги» у обоих видов моллюсков в растворах соли кадмия, что означало гибель особи [1]. Изменялась окраска раковины и ноги погибших моллюсков – они становились светлее и желтее. Спустя 8 часов моллюски переносились в стакан с чистой водой, однако ни один из них не прикрепился к стенке и не открыл крышечку раковины, из чего следовало, что все особи были мертвы. Исследование токсичности в разбавлении 1:1000 (2 класс опасности) не привело к достижению 100%-й смертности. 50% смертность была зарегистрирована через 12 часов спустя начала эксперимента. При этом выжившие моллюски после

перемещения в чистую воду проявляли активность, прикреплялись к стенке стакана и интересовались кормом в эксперименте на поведенческие реакции. Особи, помещенные в растворы, приготовленные в разбавлении 1:10000 (1 класс опасности) не проявляли признаков отравления в течение всего эксперимента. Все моллюски сохранили подвижность, интересовались кормом в эксперименте на поведенческие реакции [1]. Моллюски имеют интенсивный обмен веществ, поэтому попадание токсических веществ в воду быстро оказывает влияние на их метаболизм. При воздействии токсикантов на живые организмы они начинают меньше есть, медленнее ползать, нуждаться в большем количестве кислорода, поэтому поведение моллюсков подверженных действию поллютантов отличается от поведения улиток, которые не находились под воздействием отравляющих веществ. Полученные данные по смертности моллюсков и рыб позволяют отнести сульфаты кадмия (II) и меди (II) ко 2 классу опасности. Установлено, что лабораторные тест-системы с использованием гидробионтов пригодны для первичной оценки экологической опасности и биологической активности загрязнителей окружающей среды, а также для экспериментального определения класса опасности веществ [1].

Для моделирования загрязнения водоемов солями тяжелых металлов проводили токсикологические эксперименты с применением солей железа и меди. В экспериментах были использованы следующие соли тяжелых металлов: сульфат меди  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  в концентрации 0,01; 0,1 и 1 мг/л, сернокислое железо  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в концентрациях 0,3, 3 и 5 мг/л, сульфат цинка  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в концентрации 0,05; 0,5 и 5,0 мг/л и сульфат свинца  $\text{PbSO}_4$  в концентрации 0,005; 0,05 и 0,5 мг/л с учетом значений предельно-допустимых концентраций (ПДК), установленных для водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения [2]. Маточный раствор каждого из ТМ готовили путем растворения навески соли в дистиллированной воде. Рабочие растворы тяжелых металлов перед началом опыта и при обновлении токсической среды готовили путём добавления необходимого объема маточного раствора в отстоявшуюся в течение суток водопроводную воду. Продолжительность эксперимента 48 часов. Контролем служили особи, содержащиеся в отстоянной водопроводной воде [3].

Для исследования влияния солей тяжелых металлов на обмен углеводов у пресноводных легочных моллюсков, особи были помещены в воду, содержащую растворённый  $\text{FeSO}_4$ , т.к. железо является переносчиком кислорода в комплексе с гемоглобином у катушки роговой, другую опытную группу поместили в воду, содержащую растворённый  $\text{CuSO}_4$ , т.к. ион меди содержится у прудовиков в переносчике кислорода – гемоцианине [3].

В эксперименте на *Lymnaea stagnalis* при внесении особей в воду, содержащую  $\text{Fe}^{2+}$  в концентрациях 0,3, 3 и 5 мг/л была отмечена гибель животных в течение первых суток опыта 70%, на вторые сутки - 100% гибель. Сульфат железа (II) на первых этапах отравления действуют на моллюсков как локальный яд, вызывающий местные повреждения покровов тела [3].

У *Lymnaea stagnalis* под воздействием сульфата железа (II) наблюдаются дегенеративно-некротические изменения кожного эпителия, ослизнения. На поврежденных участках эпителиальные клетки набухают, отторгаются и слущиваются. При этом образуются небольшие (точечные), многочисленные кровотокающие язвы [3].

Данный результат свидетельствует о непереносимости прудовиками избытка ионов железа в воде и массовой гибели животных из-за менее приспособленной обменной системы, где главным переносчиком кислорода является медь-содержащий белок гемоцианин, имеющий третичную структуру. А *Planorbarius corneus* у которых роль переносчика кислорода выполняет железо-содержащий белок гемоглобин являются более эволюционно приспособленными к действию солей тяжелых металлов, что и подтверждается проведёнными опытами.

Сульфат железа (II) в концентрации 0,3 мг/л у *Planorbarius corneus* вызывает понижение содержания гликогена в гепатопанкреасе в 1,2 раза, 3,0 мг/л – 1,4 раза, 5,0 – 2,1 раза по сравнению с контрольной группой. При воздействии сульфата железа (II) в концентрациях 3,0 и 5,0 мг/л у катушек снизилось содержание гликогена в гепатопанкреасе в 1,2 раза и 1,7 раза соответственно по сравнению с группой  $\text{FeSO}_4$  0,3 мг/л. При воздействии сульфата железа (II) в концентрации 5,0 мг/л у катушек снизилось содержание гликогена в гепатопанкреасе в 1,5 раза по сравнению с группой  $\text{FeSO}_4$  3 мг/л [3].

При действии сульфата меди (II) в концентрации 1 мг/л у *Lymnaea stagnalis* наблюдается понижение содержания гликогена в гепатопанкреасе в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой. При действии сульфата меди (II) в концентрациях 0,1 и 1 мг/л у *Lymnaea stagnalis* наблюдается понижение содержания гликогена в гепатопанкреасе в 1,3 и 2 раза соответственно по сравнению с группой  $\text{CuSO}_4$  0,01 мг/л. При действии сульфата меди (II) в концентрации 1 мг/л у *Lymnaea stagnalis* наблюдается понижение содержания гликогена в гепатопанкреасе в 1,5 раза по сравнению с группой  $\text{CuSO}_4$  0,1 мг/л [3].

Сульфат меди (II) в концентрации 0,01 мг/л у *Planorbarius corneus* вызывает понижение содержания гликогена в гепатопанкреасе в 1,5 раза, 0,1 мг/л – 1,6 раза, 5,0 – 2,8 раза по сравнению с контрольной группой. При воздействии сульфата меди (II) в концентрациях 0,1 и 1,0 мг/л у катушек снизилось содержание гликогена в гепатопанкреасе в 1,1 раза и 1,9 раза соответственно по сравнению с группой

CuSO<sub>4</sub>, 0,01 мг/л. При воздействии сульфата меди (II) в концентрации 1,0 мг/л у катушек снизилось содержание гликогена в гепатопанкреасе в 1,7 раза по сравнению с группой CuSO<sub>4</sub>, 0,1 мг/л [3].

**Заключение.** В практике эколого-гигиенических исследований широко применяются экспресс-методы с использованием биологических систем различных уровней организации [1].

Моделирование водных систем, содержащих разные концентрации солей тяжелых металлов, позволяют определить концентрации ионов меди, железа цинка и свинца, которые вызывают нарушение процесса метаболизма в организме гидробионтов [1].

Сравнительный анализ чувствительности и экотоксикологической значимости токсических эффектов, полученных нами в экспериментах, позволяет сделать вывод о целесообразности применения теста по изучению токсичности солей тяжелых металлов на основе изменения показателей углеводного обмена *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus* и наряду с другими тест-системами использовать в практике лабораторного биотестирования отходов производства с целью оценки их степени опасности для окружающей среды [2].

#### *Список литературы*

1. *Амосова А.А.* Экспериментальная оценка тест-системы для исследования острой токсичности различных загрязнителей окружающей среды в лабораторных условиях / А.А. Амосова, Е.А. Амосов, А.С. Козулина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – №5-2. – С. 1042-1044.
2. Гигиенические нормативы 2.1.5.10-21-2003 // Сб. гигиенических нормативов по разделу коммунальной гигиены. Мн., 2004. С. 38-75.
3. *Балаева-Тихомирова О.М.* Действие солей тяжелых металлов на углеводный обмен тканей пресноводных моллюсков / О.М. Балаева-Тихомирова, Т.А. Толкачева, Е.И. Кацнельсон // Весн. Мазыр. дзярж. пед. ун-та імя І.П. Шамякіна, 2018. № 1 (51). С. 12-17.