

УДК 579.6.69:633.64

**Васильєва Н. Ю.**, інж., **Панченко М. М.**, канд. біол. наук, доц.,**Іваниця В. О.**, д-р біол. наук, проф., зав. кафедрою,**Васильєва Т. В.**, канд. біол. наук

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра мікробіології і вірусології,

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65025, Україна

## МІКРОБІОЛОГІЧНА БІОІНДИКАЦІЯ І БІОТЕСТУВАННЯ ВОДОЙМ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ ЗОНИ

В роботі наведено результати біологічного контролю з використанням засобів біоіндикації і біотестування водних об'єктів 30-кілометрової зони ЧАЕС. Проведено дослідження кількості, спектру домінуючих груп хемоорганотрофних бактерій, їх видового різноманіття. Вивчена резистентність бактерій водних біоценозів 30-кілометрової зони ЧАЕС до солей важких металів. Проведена оцінка генотоксичних ефектів водних об'єктів за допомогою тест-системи *Salmonella typhimurium* TA 100.

**Ключові слова:** біотестування, біоіндикація, хемоорганотрофи, резистентність, Чорнобильська зона

Іонізуюче випромінювання є важливим екологічним чинником, і надалі у зв'язку з розвитком атомної енергетики його вплив на екологію буде зростати. Найбільш суттєвими джерелами надходження радіонуклідів у навколишнє середовище є ядерні вибухи та аварії на атомних електростанціях. Для нашої країни особливої актуальності проблема впливу радіації на живі організми набула після чорнобильської катастрофи [1, 2].

Екологічні дослідження з оцінкою стану водних і ґрунтових мікробіоценозів у районах, забруднених радіоактивними відходами, дуже нечисленні. Вивчення водної і ґрунтової мікробіоти в таких регіонах, як правило, обмежується дослідженнями однієї окремо взятої фізіологічної групи або окремих представників мікробіоти. До таких досліджень належать праці Н. Н. Жданової, В. Н. Романовської, Т. Н. Назиної та співавторів [3 - 5], присвячені вивченню впливу радіації як на окремі групи, так і на мікробні популяції в природних і експериментальних умовах.

Екологічний підхід, який включає визначення чисельності, співвідношення основних еколого-трофічних груп водних і ґрунтових мікроорганізмів, вивчення фізіолого-біохімічних властивостей культур бактерій є найбільш інформативним, тому що він дає можливість оцінити стан і відповідні реакції домінуючих груп бактерій, які живуть в умовах підвищеного радіаційного фону, і отримати інформацію про загальний стан таких екосистем.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було проведення біоіндикації і біотестування деяких водних об'єктів 30-кілометрової зони ЧАЕС з використанням мікробіологічних засобів.

## Матеріали і методи

Об'єктами біотестування були поверхневі і ґрунтові води, розташовані в 30-кілометровій зоні ЧАЕС. Джерелами забору води слугували: струмок-фільтратор (К-31), ставок-охолоджувач (К-42), а також свердловини пунктів тимчасової локалізації радіоактивних відходів (К-1, К-16, К-13, К-44, К-516).

Об'єктами біоіндикації слугували культури гетеротрофних бактерій, отримані з перерахованих вище водних джерел.

Дослідження провадили в жовтні 1995 року. Усього було вивчено 8 водних об'єктів; вміст радіонуклідів у досліджуваних природних водах знаходився в межах  $3,6 \times 10^{-8}$  -  $1,7 \times 10^{-11}$  Кі/л.

*Біоіндикація природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС.* Об'єктами-моніторами при проведенні біоіндикації були гетеротрофні мікроорганізми, які мешкають у водних джерелах, що вивчалися. За показники використовували чисельність і співвідношення домінуючих груп водних бактерій, їх видову різноманітність, а також стійкість ізольованих та ідентифікованих культур бактерій до важких металів [6-7].

У ході досліджень визначена резистентність бактерій до  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ,  $\text{CsNO}_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{CdCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{NiNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  у широкому концентраційному діапазоні: 4,0 - 1024,0 мкг/мл. При виборі концентрацій солей токсичних металів керувалися даними літератури про природну чутливість різних представників водних біоценозів, а також гранично-допустимими концентраціями металів [8, 9]. Мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) вважали граничну концентрацію важкого металу, за якої не реєстрували пригнічення росту досліджуваних культур бактерій. Як показник, що характеризує стійкість культур до тестуючих металів, використовували "модальне значення МІК" (мода МІК) — доля (у відсотках) культур бактерій, що виростили в умовах МІК важкого металу, у відношенні до контролю (кількість культур, що виростили у відсутність речовини, яка тестується).

*Біотестування токсичності і мутагенності природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС.* Для оцінки генотоксичних показників (токсичність і мутагенна активність) використовували модифікований тест Еймса; тест-об'єктом слугував мутантний штаб *Salmonella typhimurium* TA 100 [10-12].

Статистичне опрацювання було проведене з використанням комп'ютерної програми; графічне оформлення — за допомогою програм Microsoft Word 7.0 і Microsoft Excell 7.0 [13].

## Результати досліджень та їх обговорення

Дослідами встановлено, що виражені генотоксичні властивості в бактеріальній тест-системі *Salmonella typhimurium* TA 100 мали тільки води із свердловини Яновського затону К-44, які індукували вихід  $\text{His}^+$ -ревертантів *Salmonella typhimurium* TA 100 з частотою, що приблизно у 50 разів перевищує спонтанний рівень. На фоні значної мутагенної активності ці води мали також сильну токсичну дію: кількість нежиттєздатних клітин саль-

монели в досліді складала 99,7 %. Води з інших досліджених об'єктів не мали негативних біологічних ефектів в тест-системі *Salmonella typhimurium* ТА 100. Це, однак, не означає, що досліджуваним водам не властива мутагенна активність як така; більш вірогідно, що у цих випадках спричинені радіонуклідами мутації у бактерій мають іншу природу і не виявляються за допомогою тест-системи Еймса. На це вказують також дані В. А. Шевченко [14] про пігментні та інші мутації, що виникають у нехромосомних структурах клітини.

Порівняльний аналіз результатів біоіндикації дав можливість встановити (табл. 1), що чисельність алохтонних, автохтонних і спороутворюючих бактерій у свердловинах К-1, К-16, К-13, К-49 і струмку-фільтраторі К-31 знаходилася в межах допустимих норм, встановлених для ґрунтових вод, і була значно меншою кількості сапрофітної мікрофлори в ґрунтових водах Південного регіону України [15, 16]. Відповідно до еколого-санітарної класифікації досліджені природні води належать до різних категорій чистоти [15]. До дуже чистих ( $\beta$ -олігосапробних) належать ґрунтові води із свердловин К-1 і К-49; до досить чистих або  $\beta$ -мезосапробних — поверхневі води із струмка К-31, а також ґрунтові води свердловин К-16 і К-13. Брудними ( $\beta$ -полісапробними), як свідчать отримані результати, були ґрунтові води зі свердловин К-516 і К-44. Поверхневі води ставка-охолоджувача (К-42) є гранично-брудними ( $\alpha$ -полісапробними).

Ізольовані з природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС хемоорганотрофні бактерії належать до різних груп (рис. 1). Раніше було встановлено [16], що у ґрунтових водах Південного регіону України (полігон "Балай") превалює алохтонна мікробіота, у першу чергу грамнегативні палички та грампозитивні спороутворюючі бактерії. Таксономічний склад мікробіоти досліджуваних водойм 30-кілометрової зони ЧАЕС був представлений в основному грампозитивною мікробіотою — коками та аспорогенними паличками

Таблиця 1

**Чисельність основних груп хемоорганотрофних бактерій, ізольованих із природних водоймищ 30-кілометрової зони ЧАЭС**

Джерела забору води	Фізіологічні групи мікроорганізмів		
	автохтонні	алохтонні	спороутворюючі
К-1	0,4 ± 0,08 *	0,1 ± 0,03	0,06 ± 0,03
К-13	1,3 ± 0,3	0,8 ± 0,2	1,7 ± 0,4
К-16	0,3 ± 0,1	2,5 ± 0,9	0,1 ± 0,02
К-31	0,9 ± 0,1	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,5
К-42	145,5 ± 96,1	147,5 ± 10,9	164,5 ± 19,7
К-44	20,0 ± 7,1	2,5 ± 0,9	5,3 ± 1,7
К-49	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,02
К-516	63,3 ± 1,9	4,5 ± 1,0	4,1 ± 1,1

Примітка: \* — КУО/мл ( $\times 10^5$ )  $\pm \Delta_{95}$

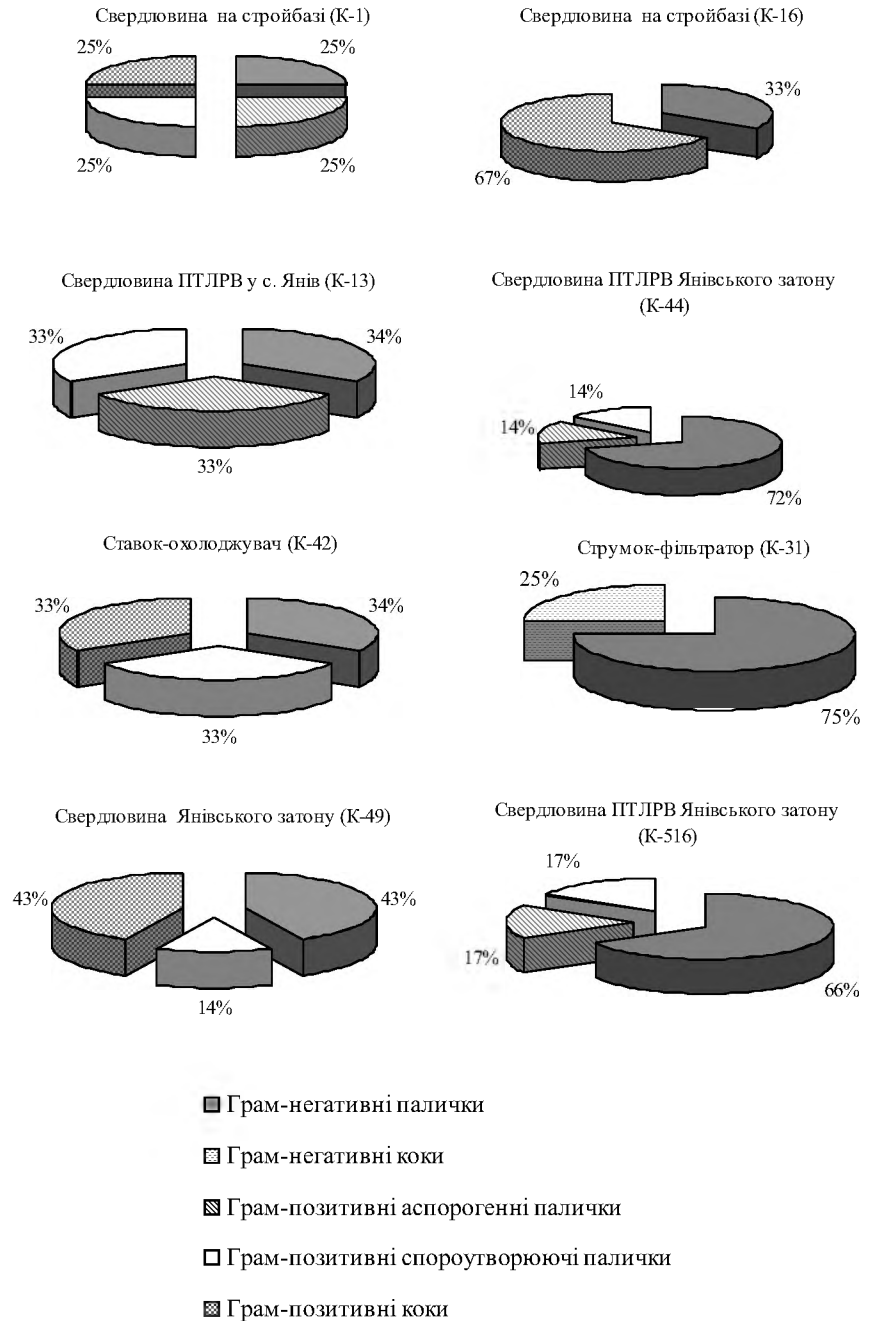


Рис. 1. Чисельність і співвідношення основних груп хемоорганотрофних бактерій у водоймах 30-кілометрової зони ЧАЕС

**Значення МІК і моди МІК хемоорганотрофних бактерій, ізольованих із природних водоймищ  
30-кілометрової зони ЧАЕС**

Метали	Показники	Джерела забору води						
		К-44	К-49	К-1	К-516	К-16	К-31	К-42
1	2	3	4	5	6	7	8	9
CoCl <sub>2</sub>	Мік, мкг/мл	64,0	64,0	4,0	32,0	64,0	64,0	32,0
	Мода мік, %	60,0	66,6	60,0	50,0	71,4	50,0	40,0
CdCl <sub>2</sub>	Мік, мкг/мл	128,0	16,0	8,0	4,0	16,0	32,0	16,0
	Мода мік, %	66,6	66,6	80,0	33,3	42,8	50,0	33,3
ZnSO <sub>4</sub>	Мік, мкг/мл	64,0	64,0	16,0	64,0	64,0	64,0	16,0
	Мода мік, %	66,6	66,6	40,0	33,3	42,8	37,5	42,8
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Мік, мкг/мл	64,0	128,0	32,0	32,0	64,0	64,0	32,0
	Мода мік, %	83,3	55,5	40,0	50,0	71,4	62,2	42,8
CuSO <sub>4</sub>	Мік, мкг/мл	64,0	64,0	32,0	256,0	256,0	128,0	128,0
	Мода мік, %	83,3	88,8	40,0	50,0	42,8	50,0	83,3
NiNO <sub>3</sub>	Мік, мкг/мл	512,0	128,0	128,0	256,0	128,0	128,0	128,0
	Мода мік, %	50,0	55,5	60,0	50,0	57,1	50,0	42,8
Pb(CH <sub>3</sub> COOH)	Мік, мкг/мл	256,0	256,0	64,0	256,0	128,0	256,0	64,0
	Мода мік, %	83,3	66,6	40,0	66,6	57,1	50,0	50,0
CsNO <sub>3</sub>	Мік, мкг/мл	1024,0	1024,0	64,0	1024,0	1024,0	1024,0	512,0
	Мода мік, %	83,3	88,8	40,0	83,3	71,2	62,2	40,0
FeSO <sub>4</sub>	Мік, мкг/мл	1024,0	1024,0	256,0	1024,0	1024,0	256,0	256,0
	Мода мік, %	100,0	100,0	100,0	100,0	42,8	75,0	100,0

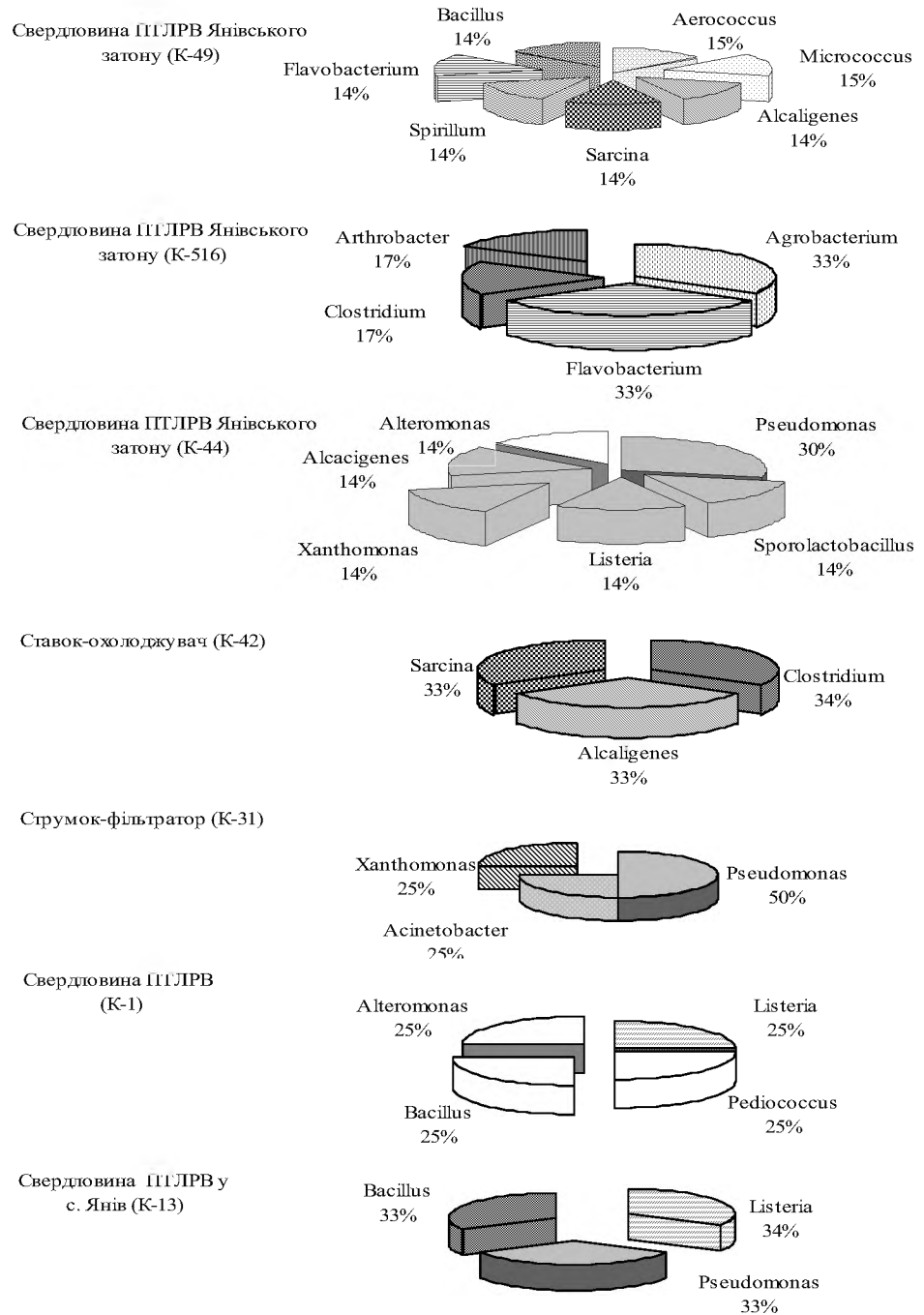


Рис. 2. Видове різноманіття водних бактерій у водоймах 30-кілометрової зони ЧАЕС

(рис. 2). Одержані результати свідчать про зміну мікробного складу у вивчених водних біоценозах, тому що в природних ґрунтових водах звичайно живуть представники грамнегативних бактерій. Крім того, порівняльний аналіз чисельності і структурного співвідношення домінуючих груп хемоорганотрофних бактерій вказує на те, що у вивчених водах, крім деструкції, беруть початок процеси мінералізації органічних залишків.

Результати визначення резистентності культур бактерій, ізолюваних із природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС, до важких металів наведені в таблиці 2. Згідно з одержаними даними, діапазон МІК солей важких металів для вивчених бактерій коливався у широких межах — від 4,0 до 1024,0 мкг/мл. Культури бактерій, ізолювані з природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС, виявилися найбільш стійкими до солей Cs і Fe. Мода МІК для цих культур бактерій складала відповідно 88,8 і 100,0 % при значеннях МІК  $CsNO_3$  і  $FeSO_4$  1024,0 мкг/мл (табл. 2). Узагальнена шкала інгібуючої активності досліджуваних солей важких металів для хемоорганотрофних бактерій, ізолюваних із природних вод 30-кілометрової зони ЧАЕС, виглядає так:  $Cd > Co > Zn > Cr > Cu > Ni > Pb > Cs > Fe$ . В той же час, за даними В. О. Іваниці [17], для мікробіоти Дністровського лиману, р. Дністер, придунайських озер Ялпуг і Кугурлуй шкала токсичності важких металів виглядає дещо інакше:  $Co > Cd > Pb > Cu > Ni > Fe$ . Таким чином, різниця між рівнями резистентності мікробіоти досліджуваних водних джерел і бактерій природних вод Південного регіону України до конкретних токсикантів досить значна.

Результати біоіндикації, у першу чергу чисельність і таксономічний склад природних вод, свідчать як про формування специфічної мікрофлори, так і про порушення природних мікробіологічних процесів самоочищення в досліджуваних водних об'єктах, що, без сумніву, пов'язано з екологічними особливостями 30-кілометрової зони ЧАЕС.

## **Література**

1. Егоров Ю. А. Радиационный экологический мониторинг в регионе АЭС // Методы биоиндикации окружающей среды в районах АЭС. — М.: Мир, 1989. — С. 14-21.
2. Чернобыльская катастрофа / Под ред. В. Г. Баряхтара. — К.: Наук. думка, 1995. — 559 с.
3. Назина Т. Н., Косарева И. М., Давыдов А. С., Турова Т. П., Новикова Е. В., Хафизов Р. Р., Потарауси А. Б. Физико-химическая и микробиологическая характеристика подземных вод из наблюдательных скважин глубинного хранилища жидких радиоактивных отходов // Микробиология. — 2000. — Т. 69, №1. — С. 105-112.
4. Мальцев В. Н., Саадави А., Айяд А. Микроэкология воды охлаждающего бассейна ядерного реактора // Радиационная радиобиология. Радиоэкология. 1996. — Т. 36, № 1. — С. 52-57.
5. Романовская В. А., Рокитко П. В., Малащенко Ю. Р. Уникальные свойства высокорезистентных бактерий // Микробиол. журн. — 2001. — Т. 62, № 1. — С. 40-63.
6. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхарда. — М.: Мир, 1984. — С. 98-127.
7. Краткий определитель Берги: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта. — М.: Мир, 1980. — 444 с.

8. Авакян З. А. Токсичность тяжелых металлов для микроорганизмов // Микробиология. — 1973. — Т. 42, № 2. — С. 5-45.
9. Христофорова Н. К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. — Л.: Наука, 1989. — 210 с.
10. Ames B. N., Lee F. D., Durstin W. An improved bacterial test system of the detection and classification of mutagens and cancerogens // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1973. — V. 70, № 3. — P. 782-786.
11. Панченко Н. Н., Кияницкая М. А. Выявление генотоксического действия приоритетных компонентов загрязнений и культур клеток бактерий на микробных системах // Методические основы комплексного глобального мониторинга океана. — М.: Гидрометеозидат, 1988. — С. 103-148.
12. Оценка токсичности и мутагенности некоторых приоритетных компонентов загрязнения в бактериальной тест-системе *Salmonella typhimurium* TA 100 // Технические и системные методы экологического мониторинга. Тр. Ин-та кибернетики НАН Украины / Васильева Т. В., Иванюца В. А., Панченко Н. Н., Васильева Н. Ю., Хачирова С. А. — 1998. — С. 64-68.
13. Рассел Ч., Кроуфорд Ш. Эффективная работа в Windows NT Server 4.0. — С.-Пб.: Питер, 1999. — 552 с.
14. Шевченко В. А. Радиационная генетика одноклеточных водорослей. — М.: Наука, 1979. — 250 с.
15. Санитарно-бактериологическое и вирусологическое исследование воды / под ред. Гирина В. Н., Григорьевой Л. В. — К.: Здоров'я, 1981. — С. 137-140.
16. Васильева Н. Ю., Панченко Н. Н., Васильева Т. В., Иванюца В. О. Комплексний мікробіологічний контроль природних вод полігону "Балай" // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т.6, вип. 1. — С. 111-116.
17. Иванюца В. О. Стан та мінливість мікробних ценозів морських екосистем: Диссерт. на здобуття наукового ступеня доктора біол. наук. — Одеса, 1995. — 366 с.

**Васильева Н. Ю., Панченко Н. Н., Васильева Т. В.**

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра микробиологии и вирусологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65025

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ И БИОТЕСТИРОВАНИЕ ВОДОЕМОВ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ**

**Резюме**

В работе приведены результаты биологического контроля с использованием методов биоиндикации и биотестирования водных объектов 30-километровой зоны ЧАЭС. Исследована численность, спектр доминирующих групп хемоорганотрофных бактерий, их видовой состав. Изучена резистентность бактерий водных источников 30-километровой зоны ЧАЭС к солям тяжелых металлов. Определены генотоксические свойства (токсичность и мутагенная активность) водных объектов в тест-системе *Salmonella typhimurium* TA 100.

**Ключевые слова:** биотестирование, биоиндикация, хемоорганотрофы, резистентность, Чернобыльская зона.



**Vasyljeva N. J., Panchenko N. N., Vasilieva T. V.**

Odessa National University after I. I. Mechnikov, Department of Microbiology and Virology, Dvoranskaya St., 2, Odessa, 65025, Ukraine

**MICROBIOLOGICAL INDICATION AND BIOTESTING  
OF CHERNOBIL AREA**

**Summary**

The results of biological evaluations of 30-kilometre area water objects of Chernobyl atomic electric power station by methods of biotesting and bioindication are given in this work.

There were researched: the numbers, the spectrum of dominant groups of chemoorganotrophic bacteria, their resistance to salts of heavy metals. The genotoxic characteristics of water objects in the test-system *Salmonella typhimurium* TA 100 were determined.

**Key words:** 30 km area, biotesting, bioindication, chemoorganotrophic bacteria, resistance.