

УДК 619:615.9:57.083.3

## АНАЛІЗ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ «БІО-ТЕСТУ»

**О.В. Найдіч доц., кандидат ветеринарних наук,  
М.С. Хіміч ас., кандидат ветеринарних наук,  
С.М. Хохлов доц., кандидат ветеринарних наук.  
Одеський державний екологічний університет  
Одеський державний аграрний університет**

*У статті проводиться аналіз визначення токсичності методом біотестування, за допомогою якого оцінюється забруднення біологічного об'єкту і яке націлено на одержання швидкого сигналу про токсичність.*

**Ключові слова:** біологічне тестування, інфузорії, навколишнє середовище, екологія.

Перелік забруднюючих речовин, які надходять у водні об'єкти від джерел забруднення, надзвичайно широкий. Щороку синтезується близько 500 тис. нових сполук багато з яких рано чи пізно опиняються у воді [1].

Вміст окремих хімічних речовин або їх груп в досліджуваних пробах визначають за допомогою різноманітних фізико-хімічних або імуноферментних методів аналізу. Ці методи володіють високою точністю і експресністю, однак сфера їх застосування обмежена лише тими випадками, коли токсикометричні параметри речовин, що ідентифікуються, регламентовані, а в результаті аналізу отримано позитивну реакцію. В протилежному випадку ці методи не дають чіткої відповіді на питання, чи викличе аналізований зразок отруєння у тварин та людей. Причина полягає в тому, що дані методи не дозволяють прогнозувати комбінований вплив на популяцію живих організмів кількох сполук різної хімічної природи. Таким чином, при аналізі токсичності багатокомпонентних сумішей згадані методи найчастіше виявляються не зовсім придатними й не співпадають з даними біологічної оцінки, проведеної безпосередньо на живому організмі [2].

В зв'язку з цим, одним з важливих напрямків є розробка й застосування методів біологічного тестування, які, хоча й не забезпечують ідентифікацію конкретних токсичних речовин, дають можливість вірогідно оцінити інтегральну токсичність властивостей різноманітних об'єктів, таких як корм, промислові скидання, нові біопрепарати, внутрішні середовища організму, вода, ґрунт тощо [3,4].

До теперішнього часу розроблено безліч різних методів біотестування, багато з яких, знайшли широке застосування у практиці. Біотестуванню підлягають природні й

стічні води, донні відкладення водоймищ і водотоків, окремі хімічні речовини. В якості тест-об'єктів використовують інфузорій, ракоподібних, молюсків, риб тощо та різні компоненти живих організмів: культури клітин, сперматозоїди, ферменти, курячі ембріони й т.п. [5-15].

При різних границях чутливості до токсинів більшість цих методів або досить тривалі, або вимагають застосування складного й дорогого обладнання. Найпростішим і доступним у застосуванні тест-об'єктом для біотестування є інфузорії.

**Тому метою роботи** є пошук достовірного, але простого і доступного метода біотестування забруднення об'єктів.

Методи, в яких використовуються інфузорії, прості у виконанні, піддаються інструменталізації й автоматизації, їх результати легко інтерпретуються. У порівнянні з біотестами на вищих тваринах, вони мають значні переваги в економічній, методичній і етичній сферах. Інфузорій як тест-об'єкт, на даний час, застосовують для вирішення наступних завдань: первинна оцінка токсичності нових хімічних речовин; визначення стану вищих організмів щодо токсичності їх внутрішніх середовищ; перевірка токсичності природних і стічних вод; оцінка загальної токсичності кормів і харчових продуктів [16-17].

При розгляді різних методів біотестування на інфузоріях звертає на себе увагу той факт, що більшість дослідників воліли використовувати інфузорію *Paramecium caudatum*. Це цілком зрозуміло, адже цей вид був одним з найбільш вивчених серед інфузорій. Більшість робіт з вивчення будови й фізіології інфузорій проводилося саме на моделі цього виду [18]. Крім того, практично повсюдне поширення, порівняно великий розмір, невимогливість до умов культивування й простота виділення цієї інфузорії із зовнішнього середовища призвело до того, що, обираючи тест-об'єкт, токсикологи орієнтувалися саме на неї. Однак, в той же час, багато дослідників неодноразово відзначали серйозні недоліки цього виду.

Надалі протозоологи знайшли зручніший об'єкт для своїх робіт – інфузорія *Tetrahymena pyriformis*. Вона здатна засвоювати розчинні у воді живильні речовини, що дозволяє культивувати її в середовищах без присутності бактерій [19]. Використовування цього виду інфузорії дало можливість, протягом 1-4 годин (не пізніше 24 годин) зробити попередній висновок щодо наявності у м'ясі риб і воді токсинів хімічного і біологічного походження. На жаль, широкому практичному застосуванню тетрахімени перешкоджають певні складності, які виникають у процесі їх бактеріально чистого культивування в непристосованих для цього лабораторіях [20].

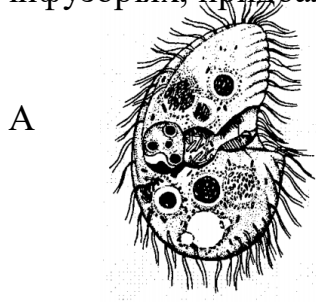
Більш новим тест-організмом є *Stylonychia mytilus* [21]. Спочатку було запропоновано застосовувати її для біотестування природних і стічних вод, а потім її стали використовувати для оцінки токсичності кормів і харчових продуктів [22-24]. Однак очевидних переваг перед іншими інфузоріями цей вид, як тест-об'єкт, не має. Напроти, багато практичних працівників відзначають такі недоліки цього організму, як складність культивування і нестабільність одержуваних при біотестуванні результатів.

Особливе місце серед інфузорій, що використовуються як тест-організми, займає *Colpoda steinii* (мал. 1) [25]. Одна з її важливих якостей полягає в здатності утворювати

цисти спокою, які зберігають життєздатність у сухому стані протягом тривалого часу. При внесенні цист у вологе середовище, інфузорії швидко ексцистуються. Це дозволяє готувати на основі таких цист препарат зі значним строком придатності й використовувати його в міру потреби. Крім того, ексцистована культура синхронно реагує на будь-які зовнішні впливи, у тому числі токсичні. Друга важлива властивість колпод – особлива будова ядерного апарата. На відміну від більшості інших інфузорій, генетичний апарат макронуклеусів нестабільний внаслідок нерівномірної сегрегації ДНК у процесі амітотичного поділу, макронуклеус ділиться утворюючи тетраплоїдні дочірні ядра. З цієї причини даний вид інфузорії не має клонального циклу. Крім того, *Colpoda steinii* не має в клітинному циклі фази кон'югації [26-28]. Ці властивості обумовлюють високу генетичну стабільність штамів даної інфузорії і, як наслідок, сталість її фізіологічних характеристик, зокрема, чутливості до токсичних речовин. Такі особливості *Colpoda steinii* роблять цей вид практично ідеальним тест-організмом для біотестування.

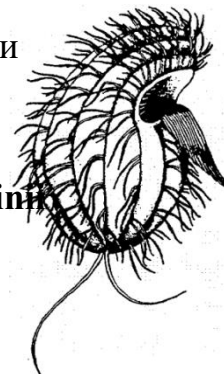
Застосування різноманітних представників інфузорій носить епізодичний характер і свідчить лише про численні спроби дослідників знайти найбільш універсальний тест-об'єкт для досліджень. Однак дотепер не обрано певний організм, який би слугував уніфікованим тест-об'єктом [29].

**Висновки.** Проведений аналіз літературних даних показує, що в області використання інфузорій у біотестуванні до теперішнього часу накопичений багатий фактичний матеріал і завдання формування єдиної концепції, що описує біотестування на інфузоріях, придбала значну актуальність.



А - внутрішня будова клітини

Б - зовнішній вигляд



Б

**Рис. 1. Інфузорія *Colpoda steinii***

## ЛІТЕРАТУРИ

1. Біотестування морської води та стічної, яка відводиться в море. Методика//Керівний нормативний документ. 211.1.4.047-95. - (Розробники: А.М. Крайнюкова, І.П. Ульянова, О.В. Усенко, С.Є. Дятлов, Г.Г. Петросян, Т.В. Доценко, І.В. Ходаков, Л.А. Шадріна, С.О. Соколова, А.О. Гроздов, О.М. Кузнецов). - Київ, 1995. - 37 с.
2. Виноходов Д.О.Токсикологические исследования кормов с использованием инфузорий. СПб, 1995. 80 с.
3. Зайцева О. В., Ковалев В. В., Шувалова Н. Е. Перспективность оценки токсичности вод простыми биологическими методами с использованием гидробионтов//Теория и практика комплексных экологических экспертиз: Материалы международного симпозиума (Санкт-Петербург, 31 мая - 2 июня 1993 г.). - СПб, 1994. - С. 47-48.
4. Этлин С. Н. и др. Вопросы теории и практики применения простейших организмов в эколого-токсикологических исследованиях / Этлин С. Н., Лахонина Г. М., Мадоян А. Г., Месронян А. Ю. //

- Экология морских и пресноводных простейших: Тезисы докладов II-го всесоюзного симпозиума протозоологов. Ярославль, 12-15 сентября 1989 г. - Ярославль, 1989.-С. 79.
5. Волков Н. В. Определение токсичности фуражного зерна и продуктов его переработки//Ветеринария. - 1991. - № 7. - С. 68.
  6. Спесивцева Н. А. Микозы и микотоксикозы животных. - М.: Сельхозгиз, 1960. - 456 с.
  7. Спесивцева Н. А. Лабораторная диагностика микотоксикозов сельскохозяйственных животных: Методическое руководство по микологическим исследованиям кормов в ветеринарных лабораториях. - М.: Сельхозиздат, 1961. - 49 с.
  8. Спесивцева Н. А., Хмелевский Б. Н. Санитария кормов. - М.: Колос, 1975. - 335 с.
  9. Курманов И. А., Таланов Г. А. Определение токсичности комбикормов, пораженных микроскопическими грибами // Ветеринария. - 1977. -№10.-С . 98-99.
  10. Bijl J., Dive D., Van Peteghem C. Comparison of some bioassay methods for mycotoxin studiesZ / Environmental pollution (Series A). - 1981. - № 26.-P. 173-182
  11. Остроумов С. А., Самойленко Л. С. Оценка эффективности биотехнологического разрушения анионных ПАВ с помощью биотестов // Вестник Московского университета. Сер. 16, биология. - 1990. - № 3. - С. 74-78
  12. Балаян А. Э., Стом Д. И. Метод биотестирования по обездвиживанию клеток водоросли дюнализеллы // Методы биотестирования вод. - Черноголовка, 1988. - С. 21-23
  13. Васильев И. Р., Маторин Д. Н., Венедиктов И. С. Метод биотестирования природных вод по замедлению флуоресценции микроводорослей//Методы биотестирования вод. - Черноголовка, 1988. С. 23-26
  14. Методика микробиологического определения токсичности культур грибов // Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник. - М.: Агропромиздат, 1991. - С. 115-116
  15. Еськов А. П. и др. Экспериментальная биотехническая система для определения индекса токсичности/Еськов А. П., Гурилев О. М., Филатов А. В., Каюмов Р. И.//Медицинская техника. - 1988. - № 4. - С. 49-51
  16. Дятлов С.Е. Разработка методов биотестирования морской воды и донных отложений - вклад в реализацию <http://www.ecologylife.ru/ekologiya-chernogo-morya-2001/razrabotka-metodov-biotestirovaniya-morskoy-vody-i-donnyih-otlozheniy-vklad-v-realizatsiyu.html>
  17. Дятлов С.Е., Петросян А.Г., Ходаков И.В., Доценко Т.В., Эльстер А.М. Экспериментальная оценка качества прибрежных вод и донных отложений методами биотестирования // Исследование экосистемы Черного моря: Сб. научных трудов УкрНЦЭМ. - Вып. 1. - 1994. - С. 141-148.
  18. Wichterman R. The biology of Paramecium. - N.Y. , 1953. - 527 p.
  19. Методические рекомендации по использованию инфузории Тетрахимена пириформис для токсико-биологической оценки сельскохозяйственных продуктов. - Киев: УкрНИВИ, 1983. - 16 с.
  20. Методические рекомендации по биологической оценке продуктов животноводства и кормов с использованием тест-организма Тетрахимена пириформис. - М.: Б., 1977. – 16 с.
  21. Гельцер Ю. Г. Почвенные простейшие как тест для изучения биологически активных веществ//Вестник Московского университета. - 1967. - №2.-С . 31-39.
  22. Гроздов А. О., Патин С. А., Соколова С. А. Биотестирование природных и сточных вод с помощью культуры простейших // Гидробиологический журнал. - 1981. - Т. 17, вып. 4. - С. 69-71.
  23. Методика определения токсичности кормовой муки, сырья и гранулированных комбикормов с использованием инфузорий стилонихий. - М.: ВНИРО, 1989. - 10 с.
  24. Мука кормовая из рыбы, морских млекопитающих, ракообразных и беспозвоночных. Метод определения токсичности : ГОСТ 29136-91. - М. : Издательство стандартов, 1992. – 9 с.
  25. Гельцер Ю. Г. Почвенные простейшие как тест для изучения биологически активных веществ//Вестник Московского университета. - 1967. -№2.-С. 31-39., 254

26. Брагинский Л. П., Щербань Э. П. Острая токсичность тяжелых металлов для водных беспозвоночных при различных температурных условиях // Гидробиологический журнал. - 1978. - Т. 14, № 6. - С. 86-92
27. Френкель М. А. Тонкое строение цист покоя инфузории *Colpoda steinii* // Цитология. - 1987. - Т. 29, № 2. - С. 131-136.
28. Френкель М. А., Кудрявцев Б. Н., Кудрявцева М. В. Содержание ДНК в макро- и микронуклеусах *Colpoda steinii* до и после деления в цистах размножения / Цитология. - 1973. - Т. XV, № 3. - С. 353-357
29. Флеров Б. А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. - Л.: Наука, 1989. - 141 с.

**Найдич О.В., Химич М.С., Хохлов С.М. Анализ методов определения токсичности биологических объектов с помощью «био-теста»**

*В статье проводится анализ определения токсичности методом биотестирования, которое оценивает происходящее загрязнение биологического объекта и нацелено на получение быстрого сигнала о токсичности.*

**Ключевые слова:** биологическое тестирование, инфузории, окружающая среда, экология.

***O.V. Naidich, M.S. Khimich, S.M. Khokhlov. Analysis of methods for determining the toxicity of biological objects with the help of "bio-test"***

*The article analyses determine the toxicity of the methods of biotesting, which assesses what is happening pollution of the biological object and is aimed at getting a quick signal of toxicity.*

**Keywords:** biological testing, infusorians, an environment, ecology.