

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет біології, географії і екології
Кафедра біології людини та імунології

МОНІТОРИНГ ЗАСОБАМИ ФІТОТЕСТІВ ЯКОСТІ ПИТНОЇ
ВОДИ З НЕЦЕНТРАЛІЗОВАНОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ М.
ХЕРСОНА

Кваліфікаційна робота (проект)
на здобуття ступення вищої освіти «магістр»

Виконала: студентка 217М групи

Спеціальності 091 Біологія

Освітньо-наукової програми Ботаніка

Корнійчук Тетяна Юріївна

Керівник: д.б.н., професор Зав'ялов В.П.

Рецензент: к.б.н., доцент Кундельчук О.П.

Херсон – 2020

ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1. Модельні рослинні системи у визначенні якості питної води	7
1.1. Характеристика основних різновидів чинників довкілля	7
1.2. Біотестування питної води - ефективний метод визначення її якості	10
1.3. Allium test – найефективніша модельна система для визначення токсичності та мутагенної дії чинників довкілля	16
1.4. Використання фітотесту пшениця озима <i>Triticum aestivum</i> L., для визначення якості питної води	20
РОЗДІЛ 2. Визначення токсичності розливної питної води з пунктів продажу м. Херсона засобами батареї фітотестів	22
2.1. Матеріал і методи дослідження	22
2.2. Динаміка біометричних показників Allium test	31
2.2.1. Пророщене насіння <i>Allium cepa</i> L.	31
2.2.2. Арпаш <i>Allium cepa</i> L.	40
2.3. Фітотест «пророщене насіння	43
2.4. Фітотест «рослини на плаваючих дисках».....	48
РОЗДІЛ 3. Цитомоніторинг якості питної води.....	50
ВИСНОВКИ	57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	59

ВСТУП

Актуальність теми. Питна вода – це природна вода, яку людина може пити сирово. За твердженням ВООЗ здоров'я більш як 80 відсотків хвороб, які має людина, пов'язані із якістю води, яку вона п'є. Еволюційно людина завжди вживала ту природну воду, яка її оточувала. Це, в першу чергу, річкова вода особливо гірська, озерна вода різні природні джерела, особливо ті, де вода сама витікає з надр Землі. В часи, коли довкілля людини було чистим і природним, для організму людини не було розділення води на питну і не питну, бо практично вода і всіх природних джерел була питною. Зараз, коли людина суттєво порушила природну рівновагу свого оточення, поверхневої води, яка була б придатною для пиття сирово, практично в Україні немає або принаймні без відповідної перевірки її чистоти, вважати поверхневу воду питною ризиковано [33а].

Існує централізоване та не централізоване водопостачання. Джерелами нецентралізованого водопостачання є розлив по пляшкам екологічно чистої води; розвіз води спеціальними машинами; бювети в житлових кварталах.

Основними методами визначення якості питної води є хімічні, фізико-хімічні, фізичні, органолептичні та біологічні. Фізичні, фізико-хімічні та хімічні методи дають точну характеристику кількісного та якісного складу води, але не визначають можливі наслідки її впливу на живі організми, та вони багатоступінні і потребують спеціальних реактивів та приладдя. Органолептичні методи дають попередню характеристику, але також не дають оцінки ступеня можливого негативного впливу на живі організми [23].

Методи біотестування, що основані на використанні реакцій біологічних об'єктів на дію чинника довкілля і безпосередньо визначають ступінь негативного впливу води на живі організми все ще широко не використовують на практиці. Водночас вони мають високий ступінь

надійності та не потребують значних затрат коштів та часу [31]. Найефективнішою рослинною модельною системою для виміру впливу чинників довкілля визнаний *Allium test*. Пшеницю озиму також використовують як фітотест у екологічних дослідженнях. Проте для біотестування якості питної води міста, зокрема, з нецентралізованого водопостачання, рослинні модельні системи використовуються все ще недостатньо. Ґрунтовні дослідження якості питної з нецентралізованого водопостачання засобами фітотестування малочисельні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Робота виконана в межах ініціативної наукової теми «Цитоекологічний моніторинг дії чинників довкілля методом біотестування» (державний реєстраційний номер 0117U004705), що була закординована в ХДУ.

Метою роботи стало визначення якості питної води різних постачальників м. Херсона за біометричними та цитологічним показниками рослинних модельних систем.

Об'єкт дослідження – якість питної води.

Предмет дослідження – якість питної води, з нецентралізованого водопостачання міста засобами фітотестування.

Об'єкт, предмет і мета дослідження зумовили виокремлення його **завдань**.

1. Проаналізувати наукову літературу з проблеми визначення якості питної води для встановлення стану її розроблення щодо води з пунктів продажу; визначити найефективнішу тест-систему для виміру токсичності і цитотоксичності питної води на організм.
2. Провести моніторинг біометричних показників *Allium test* впродовж 3-х років для визначення рівня токсичної дії питної води з пунктів продажу різних постачальників м. Херсона.
3. Дослідити зміни біометричних показників модельної системи “пророщене насіння пшениці озимої *Triticum aestivum* L., проростки

якої сформовані на розливній питній воді різних фірм для з'ясування якості такої самої питної води.

4. Визначити цитологічні показники Allium test: мітотичного та фазного індексів кореневої меристеми, обчислення рівня білкового синтезу. На основі експериментальних даних зробити висновок щодо необхідності постійного контролю якості питної води з нецентралізованого водопостачання міста.

У дослідженнях були використанні *емпіричні методи*: спостереження, експеримент, визначення біометричних параметрів, визначення цитологічних кількісних параметрів на фітотестах, статистичні методи та *теоретичні методи* : аналіз і синтез літературних першоджерел, узагальнення і систематизація одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів.

1. Вперше розроблено порівняльну характеристику різних видів фітотестів сформованих на питній розливній воді міста;
2. Встановлено, що фітотестування засобами Allium test є більш чутливим до якості питної води ніж інші досліджувані фітотести;
3. Доведено, що фітотестування води з пунктів продажу більш точний метод визначення її якості, ніж метод хімічного аналізу.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені методику можна використати як засіб біотестування якості питної води: теоретичний матеріал роботи можна використовувати під час викладання навчальної дисципліни «Науково-дослідницький практикум з біотестування» в ХДУ.

Апробація результатів роботи:

1. XI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених і студентів, (Київ, 2017)- очна участь, доповідь;
2. V Міжнародна наукова конференція молодих учених «Екологія, неоекологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування», (Харків, 2017) – очна участь, доповідь.

Публікації:

1. Корнійчук Т.Ю. Моніторинг якості питної води з нецентралізованого водопостачання (пунктів продажу) за біометричними показниками Allium test / Т.Ю. Корнійчук, К.О. Гуменюк // Матеріали XI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів "Екологічна безпека держави", (Київ, 20 квітня 2017 р.). – Київ: НАУ, 2017. – С. 155-166.
2. Корнійчук Т.Ю. Біометричні показники Allium test як індикатори змін якості питної води з пунктів продажу м. Херсона / Т.Ю. Корнійчук // Матеріали V Міжнародної наукової конференції молодих вчених « Екологія, неоекологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування», (Харків, 29-30 листопада 2017 р.). – Харків: ХНУ, 2017. – С. 194-195.

РОЗДІЛ 1

МОДЕЛЬНІ РОСЛИННІ СИСТЕМИ У ВИЗНАЧЕННІ ЯКОСТІ ПИТНОЇ ВОДИ

1.1 Характеристика основних різновидів чинників довкілля

Екологічні фактори, екологічні чинники або фактори середовища - сукупність усіх чинників середовища, що діють на живий організм або надорганізмову систему [22].

Саме у визначенні екологічного фактора і знаходимо системний, комплексний підхід до вивчення закономірності функціонування як організму, так і їх сукупності. Так, відсутність якогось фактора у визначений період існування може гальмувати процес відтворення або ріст [22a].

Різноманітну кількість екологічних факторів ділять за характером дії та походженням на — абіотичні, біотичні та антропогенні.

Абіотичні фактори можуть діяти як у локальних, так і у глобальних масштабах. Вузьку локальну дію мають фактори, вплив яких обмежений якоюсь однією територією, невеликою за площею. Низка істотних екологічних факторів має планетарно-космічний масштаб та регулювальний характер.

У природі важко відокремити дію одного абіотичного фактора від іншого, оскільки організми завжди відчувають їх сумісний вплив. У наземних екосистемах найважливішими лімітуючими екологічними факторами є світло, температура і вода. [33б].

У природному оточенні на кожен живий організм діють не тільки абіотичні фактори, але й інші живі істоти, що є невід'ємною частиною середовища мешкання. Безпосереднє живе оточення, яке створюється трофічними (харчовими) та іншими просторовими й функціональними зв'язками організму з іншими організмами, становить його біотичне

середовище. Екологічні фактори, пов'язані з цим середовищем, є наслідком біотичних взаємовідносин організмів. [18;29].

До антропогенних факторів належать усі види створюваних технікою і безпосередньо людиною впливів, які пригнічують природу: забруднення (внесення в середовище не характерних для нього нових фізичних, хімічних чи біологічних агентів або перевищення наявного природного рівня цих агентів); технічні перетворення й руйнування природних систем ландшафтів (у процесі добування природних ресурсів, будівництва тощо); вичерпання природних ресурсів (корисні копалини, вода, повітря та ін.); глобальні кліматичні впливи (зміна клімату в зв'язку з діяльністю людини); естетичні впливи (зміна природних форм, несприятливих для візуального та іншого сприймання). [10]. Взагалі, антропогенні фактори це впливи людини на екосистему, що зумовлюють у її компонентів (абіотичних і біотичних) суттєві відгуки (реакції). Вони можуть бути фізичними, хімічними, кліматичними, біотичними, а за характером зв'язків — вітальними і сигнальними, за часом дії — постійними і періодичними, ледве помітними і катастрофічними. Будучи за характером впливу екзогенними, вони діють на ендогенні фактори і, завдяки їм, "зсередини" на екосистему або на її компоненти [19].

Особливої шкоди природі завдають урбогенні та техногенні процеси, які часто діють сумісно. Великі міста, як правило, мають промислові зони, транспортні магістралі, щільну забудову і, отже, творять великі площі мертвої підстилаючої поверхні, яка акумулює додаткове тепло. Над містами здіймаються "гарячі острови" з пилу та сажі, а також газові викиди, які погіршують якість життєвого середовища, роблячи його шкідливим для здоров'я людей. [22б].

Процес формування якості води залежить від комплексу факторів, Комплекс факторів, що впливають на якість води, складають їх антропогенні та абіотичні. Їх можна назвати основними складовими регулювання якості води. Кожен із цих блоків характеризується великим

переліком показників, які відтворюють специфічні властивості. На даний час, істотний вплив на якість питної води створює людська діяльність. Сформована в такий спосіб якість питної води розглядається як самостійний антропогенний чинник, що суттєво впливає на здоров'я людини. [8].

Природна нерівномірність розподілу водних ресурсів на фоні зростаючого антропогенного навантаження зумовлює незадовільний екологічний стан джерел водопостачання. Внаслідок цього забезпечення населення якісною питною водою є найважливішою проблемою сучасності. Особливо гостро постала проблема якісного водозабезпечення для міських систем, оскільки на їх територіях зосереджується найбільша кількість підприємств, які спричиняють зростання водоспоживання та збільшення обсягів стічних вод. З огляду на це, контроль за якістю питної води в умовах посиленої урбанізації повинен здійснюватися на основі екологічного моніторингу за її хімічним складом, впровадження систем раціонального використання, залучення ефективних фінансових та технічних заходів у водогосподарську сферу [23].

Оцінювання якості питної води ґрунтується на порівнянні у пункті контролю середніх концентрацій показників з гранично допустимими значеннями для кожного хімічного елемента. До того ж доволі обмежено досі використовуються методи визначення якості питної води за допомогою біотестування, незважаючи на те, що ці методи є найдієвішими та найшвидшими способами визначення дії токсичних речовин, які містяться у питній воді.

Проблема якісного водозабезпечення є доволі актуальною й для м. Херсона, що зумовило доцільність проведення оцінювання питної води за санітарно-токсикологічними показниками у межах цієї урбоєкосистеми [36].

Отже, вивчення змін якості води та розроблення простих різноманітних методів щодо її визначення є актуальною проблемою.

1.2 Біотестування питної води - ефективний метод визначення її якості

Біологічні методи оцінки якості води, які використовують біологічні особливості видів та показники структури угруповань біоти водойми, почали широко залучати до практики оцінки стану водойм лише у другій половині ХХ ст. Проте сьогодні вони набули широкого поширення та стрімко розвиваються. Біологічна оцінка якості води природних водойм проводиться за допомогою різних методів, серед яких головними є біотестування, біоіндикація та біомоніторинг.

Біотестування — процедура оцінки токсичності середовища за реакціями тест-об'єктів. У випадку оцінки якості води використовують реакцію певних видів живих організмів (або окремих органів, тканин чи клітин організму) на забруднення. До тест-організмів висувають певні вимоги: вони повинні мати високу чутливість до токсичних речовин та легко розмножуватися у лабораторних умовах. Ними можуть бути певні види найпростіших, пласких червів, молюсків, рако-подібних, одноклітинних водоростей і навіть деякі види вищих водних рослин [39].

Біотестування дає змогу за відповідною реакцією тест-організму отримати інтегральну інформацію за всією сукупністю впливових (токсичних) агентів, які чинять вплив на тест-об'єкт. Завдяки простоті, оперативності та доступності, біотестування отримало широке визнання у всьому світі.

Біотестування висуває ряд вимог, дотримання яких є необхідним для отримання достовірних результатів. Серед останніх можна назвати наступні: відносна швидкість проведення досліджень, отримання достатньо точних і відтворюваних результатів, присутність об'єктів, застосовуваних у біотестуванні у великій кількості і з однорідними

властивостями, а також діапазон похибки у порівнянні з іншими методами тестування не більше 20%.

Для дотримання всіх перелічених вимог методи біотестування необхідно вдосконалювати, в їх поєднанні з методами, що реалізуються за допомогою приладів. Прилади дають більш точні результати у порівнянні з візуальними спостереженнями, а застосування комп'ютерної техніки дозволяє автоматизувати процес біотестування, прискорити обробку отриманої інформації та забезпечити точність результатів математичних розрахунків [23].

На сучасному етапі відома значна кількість методів біотестування, але стандартизованих не так вже й багато [21]. Вони проводяться на популяційно-видовому, організменному, органо-тканинному, клітинному, субклітинному та молекулярному рівнях. Як правило, тест-об'єкт – це чутливий біологічний елемент, здатний реагувати на зовнішній вплив. Ним можуть бути ферментативні системи, ізольовані органелли, клітини, тканини, окремі органи багатоклітинних організмів, одноклітинні та багатоклітинні організми одного біологічного виду або кількох видів [23].

В останні роки в зв'язку з інтенсифікацією антропогенного забруднення гідросфери проблема якості питної води стає першочерговою для людства. Щороку десятки тисяч нових забруднюючих речовин поповнюють багатомільйонний склад поллютантов поверхневих вод. Навіть перебуваючи в питній воді в дуже низьких концентраціях, вони в результаті дії відомого явища синергізму можуть надавати токсичну дію на споживача. Визначення хімічного складу води не може враховувати цього фактора, а тому не дає об'єктивну оцінку якості питної води. Для вирішення даного завдання в Інституті колоїдної хімії та хімії води НАН України вперше були використані методи комплексного біотестування якості питних вод. Мета даної роботи - зіставлення результатів біотестування вод різного походження,

отриманих за допомогою комплексу тварин і рослинних тест-організмів [15].

При визначенні можливого впливу будь-якого водного середовища або питної води першочерговим є оцінка токсичності. Кількість нових токсикантів збільшується, і дію їх сумішей на живі організми важко передбачити. З огляду на те, що у короткі строки неможливо визначити аналітичними методами вміст усіх небезпечних сумішей, а ГДК установлені не для всіх забруднювачів (до того ж ГДК самі по собі не свідчать про ступінь токсичності води для живих організмів), оцінка якості води, основана на гідрохімічних показниках, не може бути достатньою. Токсичність – це характеристика біологічна і тому не може бути визначена без біологічних об'єктів. Біологічні методи дають інтегральну оцінку шкоди, що викликана сумарним впливом всіх токсикантів. Отже, методи біотестування повинні бути першим етапом у визначенні якості водного середовища і головним – у визначенні можливих наслідків її впливу на живі організми [23].

Існує чимало наукових публікацій які доводять вказане. Уперше наведено результати комплексного аналізу питних бутильованих вод в публікації [4]. Критеріями оцінки якості вод були стандартні показники виживання, розвитку та розмноження тваринних і рослинних тест-організмів, а також структурні (за мікроядерним тестом) і функціональні (за ядерцевим біомаркером) параметри їх клітин. Хімічний склад 12 вод, що є найбільш поширеними торговими марками, відповідає, за винятком, стандартам щодо питної води. Більшість марок бутильованих вод (крім "Винни" для безхребетних, "Ордана" та "Vittel" для рослинних і "Добра вода" для рослинних і хребетних організмів) не виявили гострої токсичності, тоді як в хронічних експериментах відзначено негативний вплив усіх зразків на життєздатність та темпи розмноження безхребетних гідр і церіодафній. Тільки "Добра вода" достовірно збільшувала кількість ядерних порушень (генотоксичні ефекти) в клітинах тварин. Результати

даного дослідження показали, що біотестування на організмовому та клітинному рівнях доцільно використовувати для комплексної оцінки якості питних, в тому числі бутильованих, вод.

Ще в одній публікації [4] узагальнено результати літературних першоджерел щодо можливих шляхів забруднення питних бутильованих вод, причин погіршення їх якості. Негативні явища можуть бути зумовлені перевищенням допустимих концентрацій токсичних органічних і неорганічних речовин і рівнів радіоактивного забруднення, а також зростанням кількості патогенних мікроорганізмів у розфасованій воді. На підставі дослідження на рослинних і тваринних біотестах доведено, що органічні сполуки, які мігрують з ПЕТ пляшок у воду, мають генотоксичну та мутагенну активність. Швидкість вимивання шкідливих речовин у розфасовану воду залежить від часу і температури її зберігання, світлового режиму. Деякі види бактерій, знайдені у бутильованій воді, зумовлюють цитогенетичні ефекти. Зазначено, що біотестування, особливо на клітинному рівні, повинно бути включено в перелік критеріїв, що оцінюють якість цих вод.

У іншій публікації того самого вченого [3] обґрунтовано необхідність і актуальність використання на сучасному етапі клітинних біомаркерів (самостійно або у поєднанні з традиційними методами на організменному рівні) для біотестування природних, у тому числі, питних вод. Наведено приклади найбільш часто використовуваних на клітинному та субклітинному рівнях методів. Мікроядерний тест та ядерцевий біомаркер запропоновано як оптимальний набір для оцінки деяких структурних і функціональних змін геному клітини внаслідок токсичного впливу. Приділено особливу увагу оцінці ризику для здоров'я людини тих факторів, генотоксичність і цитотоксичність яких виявляється за допомогою біомаркерів рослинних і тваринних клітин.

У роботі, що присвячена біотестуванню водних розчинів полігексаметиленгуанідину марки "Акватон" з метою вивчення

токсичного, генотоксичної і цитотоксического впливу сполук гуанідинового ряду на рослинні і тваринні тест-організми і їх клітини, Зроблено оцінка їх екологічної безпеки. Запропонований комплексний підхід з використанням батареї тварин і рослинних тест-організмів, а також їх клітин є ефективним інструментом для проведення всебічного аналізу рекомендованих робочих і залишкових концентрацій розроблених нових коагулянтів і флокулянтів [5].

В. В. Гончарук зі співробітниками провів біотестування рослинними тест-організмами водопровідної води, обробленої в статичних умовах мінералом кременем сірого і чорного кольору. Як тест-організмів використовували цибулю (*Allium cepa* L.) і зерна пшениці (*Triticum vulgare* L.). Показано, що активована кременем вода стимулює метаболічні процеси при пророщування ріпчастої цибулі і зерен пшениці. Спостерігається стимулювання розвитку кореневої системи у тестових рослинних організмів, що вказує на підвищення токсикорезистентності рослин на ранніх етапах розвитку (стартовий ефект). Отримані дані тестування свідчать про високу біологічну активність кремнію в водному середовищі, спрямованої на стимуляцію зростання і розвитку, а також на підвищення стійкості до токсичного впливу рослинних організмів [16].

Інша праця того ж самого колективу описує результати проведення питних фасованих вод методами біотестування, хімічного та мікробіологічного аналізів. Хімічний склад вод найпоширеніших торговельних марок, за рідкісним винятком, відповідає стандартам, прийнятим для питної води. У більшій частині фасованих вод не виявлено гострої токсичності як для тваринних, так і рослинних тест-організмів; у хронічних експериментах, навпаки - практично всі зразки виявили токсичні властивості. Три чверті досліджених вод вірогідно спричинювали збільшення частоти ядерних порушень у клітинах, тобто зумовлювали генотоксичні ефекти. Біотестування доцільно застосовувати

для комплексної оцінки якості питних, у тому числі фасованих, вод разом зі стандартними методами хімічного та мікробіологічного аналізів [15].

У статті [36] розглянуто проблему якості питної води в урбанізованому середовищі. Для проведення об'єктивного оцінювання за санітарно-токсикологічними показниками запропоновано метод комплексного біотестування з використанням 2-х тест-об'єктів - дафнії (*Daphnia magna straus* L.) та цибулі звичайної (*Allium cepa* L.). Встановлено неоднозначність реакцій тест-об'єктів, що залежно від рівня організації по-різному реагують на вміст забруднювальних речовин у питній воді. Зважаючи на специфічність біореакцій щодо наявності у зразках питної води токсичних речовин, розраховано інтегральний індекс токсичності для кожного району дослідження, згідно з яким здійснено територіальне зонування м. Херсон.

В публікація В.В. Яковлева наведені результати біотестування питної води Харківської області на різних тест-об'єктах. В якості тест-об'єктів була використана цибуля звичайна, квасоля звичайна і ракоподібні - дафнія. Представлені порівняльні результати біотестування. Allium-тест показав що, варіанти води не володіють токсичною дією. У всіх випадках фітотоксичний ефект був менше 50%. Результати дослідів впливу води на масу корінців показали гальмуючу дію в джерельній (43,2 %) і в колодязної (47,3 %) водах. А також стимулюючу дію бутильованої води «Березовська» (1,2 %) і бутильованої води « Старий Миргород » (1,8 %) на кореневі пучки [43].

Публікація Н.М. Гаранька [13] присвячена наведенню результатів перевірки за допомогою комплексу біотестів якості води з трьох артезіанських колонок Києва (К1, К2, К3) та чотирьох колонок Одеси (Г1, Г2, Г3, Г4), а також водопровідної води у Києві (р-н "Святошин") та бутильованої води "Кристал" (Одеса). Водні проби досліджено на предмет токсичності, цито- та генотоксичності. Дослідження артезіанських колонок м. Києва показало, що тільки проба колонки К3

продемонструвала хронічну токсичність на дафніях і цибулі. З проб артезіанських колонок Одеси проба ГЗ показала хронічну токсичність для обох тваринних тест-організмів. Для бутильованої води "Кристал" лише на гідрах зафіксовано хронічну токсичність. Зазначено, що проба водопровідної води показала гостру токсичність на тваринних і рослинних біотестах, цитотоксичність - на гідрі та цибулі, генотоксичність - на меристемі цибулі.

Отже, аналіз наукової літератури засвідчив недостатню розробленість проблеми визначення якості питної води з нецентралізованого водопостачання. Практично відсутні експрес-методи її визначення засобами фітотестування.

1.3 Allium test - найефективніша модельна система для визначення токсичності та мутагенної дії чинників довкілля.

Рослинні тест-системи в даний час отримують все більше поширення при оцінці мутагенного забруднення навколишнього середовища. Це обумовлено цілим рядом переваг:

1. Рослини - незмінний об'єкт для натурних досліджень антропогенного впливу на навколишнє середовище: першими приймають на себе удар забруднювачів, що не мігрують подібно тваринам, що дозволяє чітко розрахувати час впливу.
2. Рослини - еукаріотичні організми, тому на них, на відміну від мікроорганізмів, можна реєструвати всі типи генетичних ушкоджень: генні, хромосомні, геномні [44].
3. Методи роботи з рослинними об'єктами економічні, вимагають мінімальної кількості обладнання та реактивів, вирощування рослин менш трудомістким, ніж вирощування тварин [35].
4. Можна отримувати матеріал потрібних стадій.

5. Експерименти можна вести в строго контрольованих умовах - як в гострих, так і в хронічних досліджах (від декількох годин до декількох років).
6. Дані по мутагенезу ряду факторів на рослинних об'єктах показують хорошу кореляцію з результатами тестування на тваринах.
7. Рослини дозволяють реєструвати як прямі, так і непрямі мутагени [34].
8. Тільки рослини дозволяють виявити такий важливий клас мутагенів, як хімічні сполуки, які отримують мутагенність в процесі метаболічної активації рослинними ферментами.
9. Деякі фактори, висока токсичність яких не дозволяє врахувати генетичні пошкодження на тварин, можуть бути оцінені як мутагени тільки в рослинних тест-системах [46].
10. Рослини можуть вирощуватися безпосередньо на місці оцінки сумарного генетичного ефекту забруднення визначаються ділянок [44].

Allium test - рослинна тест-система для оцінки мутагенного, мітозмодифікуючого і токсичного ефектів чинників хімічної та фізичної природи на основі рослини Allium сера - Цибуля ріпчаста.

У Allium test використовуються корінці проростків цибулі Allium сера, який вперше запропонований Шведської Королівської Академією Наук як стандартний тест-об'єкт.

У сучасних дослідженнях Allium сера L. вважається еталонним рослинним тест-об'єктом для аналізу мутагенності, мітотоксичності і токсичності різних факторів [35б].

Allium test, незважаючи на існування сучасної великої батареї біотестів, широко використовується у вивченні впливу різноманітних антропогенних чинників довкілля.

Він є відносно простим, швидким, легким для виконання під час тестування чинників довкілля, а також високочутливим і відтворювальним. Все це забезпечує одержання подібних результатів з низкою інших тестових систем, в тому числі і лімфоцитами людини.

Макроскопічний і мікроскопічний його ефекти мають високий рівень кореляції. Макроскопічний ефект (стримування кореневого приросту) є найвідчутнішим параметром прямих або непрямих шкідливих впливів [356]. Існує багато досліджень, що доводить вказане.

У статті [30] вказано, що біотестування питних вод є обов'язковим на водоканалах України. Запропоновано використання кореневої системи цибулі для оцінювання якості вод резервуарів чистої води за показниками росту кореневого пучка та кількості утворених коренів. Встановлено, що для біотестування довжина кореневого пучка є більш інформативною.

У статті [16] зазначенні результати біотестування рослинними тест-організмами водопровідної води, обробленої в статичних умовах мінералом кременем сірого і чорного кольору. Як тест-організмів використовували цибулю (*Allium cepa* L.) і зерна пшениці (*Triticum vulgare*). Показано, що активована кременем вода стимулює метаболічні процеси при пророщування ріпчастої цибулі і зерен пшениці. Спостерігається стимулювання розвитку кореневої системи у тестових рослинних організмів, що вказує на підвищення токсикорезистентності рослин на ранніх етапах розвитку (стартовий ефект). Отримані дані тестування свідчать про високу біологічну активність кремнію в водному середовищі, спрямованої на стимуляцію зростання і розвитку, а також на підвищення стійкості до токсичного впливу рослинних організмів.

У праці А.Ю. Буданцева показано, що метотрексат призводить до повної зупинки росту коренів цибулі *Allium cepa* L. при мінімальній концентрації. Проводилося вимірювання динаміки росту коренів і стану мітотичного апарату клітин апікальної меристеми методом «роздавлений» препаратів. Дія метотрексату проявляється вже протягом перших 30 хв (концентрація метотрексату $2 \cdot 10^{-7}$ М) і зберігається протягом декількох днів. Вивчено спектр поглинання (максимуми 222, 258, 303 і 371,5 нм) і ЯМР-спектр метотрексату (8,6; 8,2; 7,7; 6,9; 3,2 ppm і триплет ліній в області 2,0 -2,3 ppm). При інкубації з корінням в ЯМР-

спектрах метотрексату спостерігаються зміни, мабуть, свідчать про метаболічному руйнуванні даного препарату під час інкубації. Показано, що під дією метотрексату клітини кореневого апекса зазнають сильні дегенеративні зміни [12].

При розробленні експрес методики визначення якості міської питної води різного походження засобами біотестування в Херсонському державному університеті як модельна система також застосовували Allium test. Класична його модель була змінена: замість цибулин дослідники використали пророщене насіння цибулі. Пророщення насіння - один з вразливих етапів у житті рослин відносно зовнішньої дії. Тому застосування проростків як індикатора негативного впливу питної води на організм може суттєво підвищило чутливість Allium test [356].

Складенна у цьому дослідженні проста експрес методика визначення якості питної води різного походження за біометричними показниками проростків Allium test дозволила запропонувати шкалу визначення рівнів якості питної води міста засобами Allium test.

Існує низька публікацій з проблеми розроблення методик визначення цито- то гематоксичності питної води. Серед них праці В.В. Архипчука та В.В.Гончарука є провідними [4-6; 15].

Проте в них відсутня характеристика вказаних різновидів токсичності щодо питної води з нецентралізованого водопостачання (пунктів продажу).

Отже, ґрунтовне вивчення цього питання в проблемі визначення якості питної води є актуальним.

1.4. Використання фітотесту пшениця озима *Triticum aestivum* L., для визначення якості питної води

Пшениця озима *Triticum aestivum* L. - вид однорічних трав'янистих рослин роду Пшениця (*Triticum*) сімейства Злаки (*Poaceae*). Вона є найпоширенішою сільськогосподарською культурою в світі і

обробляється на всіх континентах земної кулі [27]. Пшениця як модельна система широко використовується в дослідженнях з біотестування абіогенних чинників довкілля. Так в праці Боме О.Я. і Боме М.О. зниження температури пророщення насіння ярової пшениці сприяло різкому зниженню енергії проростання, уповільненню зростання одночасно коренів і пагонів, що свідчило про сприйняття зовнішніх впливів рослинним організмом загалом, а не локальної реакцією окремого органу [11]. Колектив дослідників Херсонського державного університету досліджували імунномодулюючу та рістрегулюючу активності синтезованих нітрогеновмісних гетероциклічних сполук на рослинних модельних системах, однією з яких була озима пшениця. За результатами досліджень було припущено, що дводольні рослини є більш чутливі до обробки спірокарбоном та його похідними, ніж однодольні. Для озимої пшениці, як і для томатів, найбільший вплив досліджувані речовини здійснювали на кореневу систему [37]. Озима пшениця вказана в науковій літературі як біотест під час дослідження дії пестицидів на злакові. За допомогою цієї модельної системи було з'ясовано, що при високій пестицидному навантаженні найбільш поширеним і стійким типом морфозу є "колотівка", тобто збільшення числа колосків на уступі колосового стрижня. Внесення мінеральних добрив може також прямо або побічно призводити до появи морфоз колоса у озимої пшениці (в межах 7% -39% залежно від гідротермічного режиму і виду добрив). Колосові морфози і фазовий індекс, характеризуючи інтенсивність впливу на рослину агрохімікатів та інших пошкоджуючих факторів, можуть бути успішно використані в якості діагностичної тест-системи [20; 41; 42]. Д.О. Таран використовував насіння пшениці як біотест для аналізу ґрунтових моделей, що містили різноманітні синтетичні хімічні речовини. Саме дія цих речовин і тестувалася в праці [40].

У праці Смикуна Н.В [38], досліджували колодязну воду с. Кладьківка (Куликівський район Чернігівської області) за проростанням

насіння та біометрико-морфометричними показниками паростків (розмір та маса стебла і кореня) рослин родини Poaceae (*Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L.) відмічено її низьку якість, підтверджену хімічним аналізом. Ефективними показниками якості води виявились проростання насіння *Triticum aestivum* L. (1-2 доба) та *Hordeum vulgare* L. (3-4 доба), а також розмір стебла паростків *Triticum aestivum* L.

Аналіз наукової літератури засвідчив недостатню розробленість проблеми визначення якості питної води з нецентралізованого водопостачання за допомогою фітотесту пшениця озима *Triticum aestivum* L. Отже, ґрунтовне вивчення цього питання в проблемі визначення якості питної води є актуальним.

РОЗДІЛ 2

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ РОЗЛИВНОЇ ПИТНОЇ ВОДИ З ПУНКТИВ ПРОДАЖУ М. ХЕРСОНА ЗАСОБАМИ БАТАРЕЇ ФІТОТЕСТІВ

2.1. Матеріал і методи дослідження

У дослідженні було використане насіння та арпаш цибулі звичайної *Allium cepa* L. сорту Батум зібраний на дачній ділянці та вирощений в ботанічному саду ХДУ, насіння пшениці озимої *Triticum aestivum* L. та культура ряски малої *Lemna minor* L.

Постановка експерименту.

Насіння цибулі звичайної *Allium cepa* L.

Відраховали по 100 насінин цибулі для кожної чашки Петрі, які далі зав'язали в марлевий мішечок і замочили в питній воді різного походження на одну добу. Після цього кожну порцію розклали на зволожувальному фільтрувальному папері в чашки Петрі так, щоб кожна насінина лежала окремо. У досліді було використано 5 варіантів питної води різного походження м. Херсону (Таблиця 2.1). Кожен варіант води досліджували на 6 чашках Петрі.

Насіння пророщували впродовж 5 діб при $t = 26-28^{\circ}\text{C}$. За даними воду з локальної свердловини вважали за еталон якісної питної води. Наприкінці пророщування обчислили 4 біометричні показники енергію пророщення (ЕП), довжину кореню ($L_{\text{кор}}$) і стебла ($L_{\text{ст}}$), відношення $L_{\text{ст}}/L_{\text{кор}}$. ЕП розраховували як відношення кількості пророщеного насіння за половину часу одержання проростку до кількості насінин, яке висіяли для пророщення, в %. $L_{\text{прор}}$ визначили як довжину проростка від його кінчика до насінини, в мм. $L_{\text{кор}}$ – це середня довжина кореня від його кінчика до потовщення проростку, в мм. $L_{\text{ст}}/L_{\text{кор}}$ обчислювали як відношення довжини середнього кореню до довжини стебла проростка.

Таблиця 2.1.

Варіанти питної води місту Херсона різного походження для біотестування її якості

Варіант води, мікрорайон м. Херсону	Постачальник, адрес пункту продажу
Еталон Вода з локальної свердловини	пл. Свободи, №2, аптека
А Центральний р-н	ЗАТ НТО «Синта» вул. Дружби, №10
Б Таврійський р-н	ТОВ «Синта Ік» пр. Адмірала Сенявіна, №134
В р-н ХБК	ЗАТ НТО «Синта» вул. 40 років Жовтня, №161
Г Шуменський р-н	«Цурюпінська свердловина» вул. Ілліча, №7
Д Центральний р-н	ПНВП «Селігер» вул. Червонофлотська, №101

Вказані показники дозволяють оцінити вплив комплексу на основні процеси формування проростка, а саме, пророщення насіння, ріст проросту, співвідношення ростових процесів у стеблі і корені.

Арпаш цибулі звичайної *Allium cepa* L.

Підготували банки для вирощення арпашу: бинт занурювали в розплавлений парафін і розміщали його на поверхні банки. Після затвердіння робили 8 отворів близько 5 мм діаметром. Банки заповнили експериментальним розчином. Відрахували по 8 сіянок для кожного варіанту, зважували кожна з них. Розміщували арпаш у підготовані отвори дінцем донизу, слідкуючи, щоб вони торкалися розчину.

Кожний варіант експерименту пророщували впродовж 3 діб при кімнатній температурі. Експеримент закривали після 3 діб пророщення. Для кожного варіанту визначали такі біометричні показники: кількість коренів і максимальна довжина коренів.

Насіння пшениці озимої *Triticum aestivum* L.

Відраховали по 50 насінин пшениці для кожної чашки Петрі, які зав'язали в марлевий мішечок і замочили в питній воді різного походження на одну добу. Після цього кожну порцію насінин розклали на зволожувальний фільтрувальний папір в чашки Петрі так, щоб кожна насінина лежала окремо. У досліді було використано 5 варіантів питної води різного походження (див. табл.2.1). Кожний варіант мав 3 чашки Петрі. Насіння пророщували впродовж 2-х діб при $t = 26 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Експеримент закривали на 3-ю добу пророщення. В кожному варіанті визначали значення ЕП, довжина стебла (Лст.), довжина головного кореня (Лкор.), довжина бічного кореня (Лб.кор.), відношення довжини стебла до бічного кореня (Лст./Лб.кор.), відношення довжини головного кореня до бічного (Лг.кор./Лб.кор.) і відношення довжини стебла до кореня (Лст./Лкор.)

Фітотест «пшениця озима на плаваючих дисках».

У лабораторні стакани наливають досліджувані варіанти (табл. 2.1) води. На кожний варіант 5 стаканів. Насіння фітотесту по 10 насінин пророщують на спеціальних плаваючих кільцях з пінопласту, обтягнутих марлею. Стакани вміщують у флору на 14 діб, де протягом 6-8-и годин кожен день підтримується постійне освітлення. У досліді було використано 5 варіантів бутильованої води марки «Бон-Буасон» і 5 варіантів води марки «Моршинська» (табл. 2.1). Контролем була також водопровідна вода з локальної свердловини. Впродовж 14 діб проводили візуальні спостереження за ростом рослин, а на 15-у добу в кожному варіанті визначили низку біометричних показників: кількість коренів

(**Nк**) і проростків (**Nпр**), максимальна довжина коренів (**Lmk**) і стебел (**Lmc**), маса стебла (**M**).

Модифікована методика визначення густини та концентрації хлорофілу.

Перш ніж приступити до виконання даного дослідження треба створити умови, яких необхідно дотримуватися при проведенні визначення концентрації хлорофілу в рослинних об'єктах, пророщених на питній воді різного походження. Під час відпрацювання даної методики були запропоновані наступні пропозиції, щодо її проведення:

- рослинний матеріал повинен бути однакової маси для всіх варіантів дослідження;
- на кожен варіант дослідження потрібно зробити не менше трьох досліджень для достовірного визначення результатів;
- електролампа колориметра повинна бути нагрітою, що займає не менше 30 хв після включення апарату;
- до початку експерименту необхідно відкалібрувати прилад (обнулити відносно контрольного розчину).

Перед проведенням визначення необхідно приготувати стандартний розчин Гентрі, який відповідає вмісту 85 мг омиленого хлорофілу в 1 л та нагріти лампу колориметра.

1. Проростки пшениці озимої пророщували за стандартною методикою. Концентрацію хлорофілу визначали для пшениці на п'ятнадцяту добу пророщення. Для кожного варіанту ставили на пророщування по 5 чашок Петрі.

2. Пшеницю поміщали на фільтрувальний папір до максимального підсушування рослин кожного варіанту.

3. Кожну пробу на фільтрувальному папері зважували на електровагах.

4. Урегульовували для всіх варіантів спільну вагу.

5. Листок кожного варіанту по чергово ретельно розтирали в ступці із невеликою кількістю спирту (2-3мл), який додавали поступово у ході розтирання.

6. Отриманий зелений розчин обережно через фільтр, який був вкладений до воронки, переливали зі ступки до конічної колби (носик ступки перед процедурою обмазати вазеліном).

7. Розчин екстрагували до повного вивільнення пігментів.

8. До витяжки в колбі доливали спирт до мітки (до 25 мл).

9. Обережно перемішували вміст колби, закривши пальцем її отвір, що змочений у спирті.

10. Вміст кожної колби по чергово вливали у стаканчик колориметра до мітки.

11. Поміщали стаканчик до ФЕКу та здійснювали виміри (методику таких вимірів див. Техніка роботи на ФЕКу). Для кожного варіанту досліду виміри на приборі робили 3 рази.

12. Результати вимірів занотовували та обчислювали за формулою.

13. Для кожного розчину обчислювали середнє арифметичне із всіх розрахунків(C , C_1).

14. Концентрація розчину хлорофілу знаходиться за формулою:

$$C = \frac{C_1 E_1}{E}$$

де, C_1 -концентрація стандартного розчину;

E -показник прибору для досліджуваного розчину;

E_1 - показник прибору для стандартного розчину.

Методика обчислення індексу токсичності. [14]

Визначення фітотоксичної дії препарату проводилось шляхом зіставлення показників тест-функції (L_{cp} та інш.) в контрольних і досліджуваних групах:

$$T = \frac{L_k - L_{дос}}{L_k} * 100\%$$

де, T – індекс токсичності;

$L_{\text{дос.}}$ – середнє значення кількісного показника в досліджуваній групі;

$L_{\text{к.}}$ – середня значення кількісного показника в контролі.

Токсична дія спостерігається якщо $T > 20\%$.

Методика обчислення середнього значення індексу токсичності за [43].

Показник визначається за формулою

$$IT = \frac{(T_1 + T_2 + \dots)}{n}$$

IT – середнє значення індексу токсичності варіанту води;

T_1, T_2, T_n – індекси токсичності, що розраховані для кожної тест-функції (значення ростового показника токсичності);

n – кількість тест-відгуків або показників токсичності, що задіяні для кожного варіанту води. Шкалу токсичності визначали за Яковлевою та інш.

Методика обчислення ушкоджуючої дії чинника довкілля [32]

Ушкоджуючу дію обчислювали за значеннями енергії проростання. Для попередньої оцінки ушкоджуючої дії на проростки використали наступну шкалу:

1 (–) ушкоджуюча дія відсутня. ЕП досягає 90 – 100% від еталону, сходи дружні, проростки міцні, рівні.

2 (+) Слабка ушкоджуюча дія. ЕП 60 – 90%. Проростки майже нормальної довжини, міцні, рівні.

3 (++) Середня ушкоджуюча дія. ЕП 20 – 60%. Проростки в порівнянні з контролем коротше і тонше. Деякі проростки мають каліцтва.

4 (+++) Сильна ушкоджуюча дія. ЕП дуже низька (менш ніж 20% ЕП від еталону). Проростки дрібні і потворні.

Методика забору матеріалу для цитологічних досліджень.

Для цитологічних досліджень брали матеріал з п'ятої чашки. Від проростків, що були найчисельнішими, відрізали корінь приблизно 10 мм. Після цього занурювали його до розчину фіксатора (оцтовий алкоголь: 3 ч. 96% спирту + 1 ч. льодової оцтової кислоти) на 1 добу. Далі фіксовані кінчики коренів переносили до розчину ацетоорсеїну не менш, ніж на 48 годин і таким чином зберігали в холодильнику.

Методика виготовлення тимчасових давлених препаратів кінчиків коренів *Allium cepa* L.

Для одержання давлених препаратів зафарбований фрагмент кореня дістали з фарбника і під мікроскопом знайшли на ньому кінчик. Далі на предметному склі лезом відрізали кінчик кореня довжиною 1-2 мм і крапали на нього декілька крапель молочної кислоти. Через декілька хвилин накривали відрізаний кінчик покривним скельцем і негострим кінцем олівця роздавлювали. Контроль виготовлення препарату здійснили під великим збільшенням мікроскопу.

Препарати аналізують під мікроскопом. Для цього при малому збільшенні знаходять ділянку, де розміщені дрібні майже квадратної форми клітини. Це молоді клітини, що активно діляться. Після того, як продивились і згадали морфологічні картини різних фаз мітозу, приступають до визначення мітотичного та фазних індексів.

Методика визначення мітотичного індексу.

Мітотичний індекс (МІ) є показником мітотичної активності тканини. МІ показує співвідношення між кількістю клітин в мітозі і загальною кількістю проаналізованих клітин, досліджених на препараті. Індекс свідчить про нормальне протікання мітозу, про пригнічення процесу поділу клітин або, навпаки, підвищення мітотичної активності тканини. Він дає можливість зробити висновок про цитотоксичну або мітозостимулюючу дію фактора, що вивчається.

Для визначення мітотичного індексу готували 9 давлених препарати і на кожному з них аналізували по 1000 клітин (загалом 9000 клітин). При

цьому відзначали стан клітин, тобто в яких фазах вони знаходились. Підрахувавши кількість клітин у профазі, метафазі, анафазі та телофазі, дані підставляли у формулу:

$$MI, \% = \frac{(П + М + А + Т)}{N} * 100,$$

де (П+М+А+Т) – сума клітин, що знаходяться на стадії профазі, метафазі, анафазі, телофазі відповідно;

N – загальна кількості проаналізованих клітин.

Одержані первинні дані занести до таблиці 4. (див. далі)

Методика визначення фазних індексів.

Фазні індекси дозволяють оцінити про відносну тривалість кожної фази мітозу. Визначають відносну тривалість фаз мітозу за наступною формулою:

$$PI, \% = \frac{П}{(П + М + А + Т)} * 100$$

$$MI, \% = \frac{М}{(П + М + А + Т)} * 100,$$

де П, М – кількість клітин, що знаходяться в профазі, метафазі і т. д.

Для визначення фазних індексів були використані первинні дані кількості клітин в різних фазах мітозу, які ураховували при визначенні мітотичного індексу.

Методика визначення клітинно-молекулярних показників.

Спочатку на зображеннях тимчасових препаратів випадковим шляхом було відібрано 300 клітин, які аналізували за кількістю ядерців в ядрі. Обраховували кількісне та відсоткове відношення значень за групами та обробили статистично, за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова.

Для обчислення ядерцево-ядерного відношення було відібрано по 300 клітин для кожного варіанту. Для цих клітин були обчислені середні значення та достовірні інтервали. За допомогою програми ImageJ для кожної клітини були обчислені площі ядра та ядерця. За допомогою

формулу обчислили ядерцево-ядерне відношення. За отриманими даними обчислили середні значення та достовірні інтервали.

Статистична обробка кількісних даних

Кількісні дані одержані на репрезентативних об'ємах вибірок з $p=0,07$. Статистична обробка здійснена з використанням ресурсу Excel.

1. Середнє значення кількісних параметрів обчислили за загальною формулою

$$\bar{x}\bar{x} = t_{st} * S_{\bar{x}} S_{\bar{x}}, \text{ де}$$

- а) $\bar{x}\bar{x}$ - середнє значення;
- б) t_{st} - значення t- критерію Ст'юдента;
- в) $S_{\bar{x}} S_{\bar{x}}$ - середнє квадратичне відхилення, яке розраховується за формулою

$$S_{\bar{x}} S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum \Delta x_c^2}{n(n-1)}} \sqrt{\frac{\sum \Delta x_c^2}{n(n-1)}}$$

2. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками за середніми значеннями робили за формулою:

$$t_{екс} = \frac{|\bar{x}_{сп1} - \bar{x}_{сп2}|}{\sqrt{Sx_1^2 + Sx_2^2}}$$

$t_{екс} \geq t_{st}$ $t_{експ} \geq tst$ – відмінності достовірні між 2 вибірками

$t_{екс} < t_{st}$ $t_{експ} \geq tst$ -- відмінності не достовірні

$t_{st} t_{експ} \geq tst$ – = 1,98 при $n \gg 61$; $t_{експ} \geq tst$ –

$t_{st} = 1,96$ при $n \gg 121$;

$t_{st} = 2,31$ при $n=8$ з $p=0,07$.

Статистична обробка первинних даних здійснена із застосуванням ресурсу Excel і t-критерію.

2.2 Моніторинг біометричних показників *Allium test*

2.2.1. Пророщене насіння *Allium cepa* L.

Тестування якості питної води з пунктів продажу здійснено впродовж 3-х моніторингів (2016-2018 рр).

Моніторинг I. У таблиці 2.2 наведені узагальненні данні моніторингу біометричних показників данного фітотесту і результати їх статистичної обробки щодо впливу 5 зразків питної води з системи нецентралізованого водопостачання що одержанні в 2016 році відносно еталону розливної питної води, що продається в різних пунктах продажу.

Як свідчить результати статистичної обробки одержаних даних, розливна питна вода, що продається в різних пунктах продажу неоднаково забезпечує процес росту проростка варіанти Б і Д – сповільнюють зазначений процес, інші – не впливають на нього. Аналогічні варіанти води і варіанти Г сприяють затримці росту кореня проростку. Варіант Д гальмує ріст стебла. Отже, за значеннями ростових показників найбільш негативний вплив на ріст 3-х органів проростка здійснює варіант Д.

Жоден з варіантів води не впливає на процеси пророщення насіння та координації росту органів проростка цибулі.

Таким чином тестовані варіанти питної розливної води впливають тільки на ростові показники *Allium test*.

У таблиці 2.3 наведені результати обчислення узагальнюючих коефіцієнтів токсичної дії варіантів води (УД., Т. та ІТ.) - за середніми значеннями біометричних показників проростків *Allium test*.

Як свідчить данні цієї таблиці, розливна питна вода, що продається в різних пунктах продажу не має ушкоджуючу дію. Згідно значення ІТ досить слабка токсична дія спостерігається тільки у варіанта Д.

Таблиця 2.2

Моніторинг (I) біометричних показників Allium test, що сформовані на розливній питній воді м. Херсона (2016 р.)

Варіант води	Ростові показники			Показники пророщення насіння та координація росту проростка	
	Лпр.	Лкор.	Лст.	Лст/кор.	ЕП
Еталон	29,5±2,7	11,6±1,5	18,0±2,1	1,7±1,1	69,0±2,3
А	30,5±4,0	11,7±2,9	18,8±3,2	1,8±2,6	66,0±1,1
Б	25,6±3,5*	9,8±2,1*	15,8±2,7	1,7±1,7	68,0±1,3
В	27,0±3,5	10,2±2,0	16,7±2,7	1,7±1,7	67,2±1,1
Г	28,5±3,2	10,1±2,1*	18,4±2,8	2,0±1,9	70,0±2,3
Д	23,5±3,4*	9,4±2,4*	14,1±2,7*	1,7±2,0	65,0±2,3

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

Таблиця 2.3

Коефіцієнти токсичності та ступінь ушкоджуючої дії питної води з системи нецентралізованого водопостачання м. Херсона.

№ варіанту води	УД		Т			ІТ	
	Наявність	Ступінь	Т (Лпрор.)	Т (Лкор.)	Т (Лст.)	Наявність	Значення
А	-	УД відсутня(95,7%)	0	0	0	-	0
Б	-	УД відсутня (98,6%)	13,2	15,5	12,2	-	13,7%
В	-	УД відсутня (97,4%)	8,5	12,1	7,2	-	9,3%
Г	-	УД відсутня (100%)	3,4	12,9	-2,2	-	4,7%
Д	-	УД відсутня (94,2%)	20,3	18,9	21,7	+	20,3%

Примітка:

Для попередньої оцінки ушкоджуючої дії на проростки використали наступну шкалу:

1 (-) ушкоджуюча дія відсутня. ЕП досягає 90 – 100% від еталону, сходи дружні, проростки міцні, рівні.

2 (+) Слабка ушкоджуюча дія. ЕП 60 – 90%. Проростки майже нормальної довжини, міцні, рівні.

3 (++) Середня ушкоджуюча дія. ЕП 20 – 60%. Проростки в порівнянні з контролем коротше і тонше. Деякі проростки мають каліцтва.

4 (+++) Сильна ушкоджуюча дія. ЕП дуже низька (менш ніж 20% ЕП від еталону). Проростки дрібні і потворні.

Для оцінки токсичної дії використовують наступну шкалу:

Т не більше 20% - токсична дія не спостерігається

Т від 20 -40% - досліджувана вода має слабо токсичну дію. Т від 40-60% - досліджувана вода має середньо токсичну дію. Т більше 60% - досліджувана вода має сильно токсичний вплив.

Отже, за результатами фітотестування всі досліджувані варіанти не токсичні.

У таблиці 2.4 наведені результати хімічного аналізу води разом із значеннями узагальнюючого індексу токсичності варіантів розливної питної води, що визначені для Allium test.

Проведений хімічний аналіз (табл. 2.4) засвідчив, що всі фірми постачають якісну питну воду. Таким чином, результати хімічного аналізу і фітотестування засобами Allium test якості води з різних джерел нецентралізованого водопостачання збігаються. Одержаний підсумок співпадає з інформацією інформагенства ForUra про те, що за останні 5 років якість питної води в Україні покращилась [45a].

Моніторинг II. Таблиці 2.5 і 2.6 містить дані цього моніторингу, що виконаний у 2017 році. В ньому протестована якість таких самих як у 2016 році варіантів води з пунктів продажу за показниками пророщення насіння, росту і координації росту органів проростка.

Моніторинг II щодо таких самих показників продемонстрував суттєво іншу тенденцію щодо ростових процесів в фітотесту. Варіанти А, В та Г стимулюють ріст проростка, всі інші варіанти не як не впливають на зазначений процес. Стимулюють ростові процеси кореня варіанти А та Г, інші показники не відрізняються від еталонних. Стимуляцію росту стебла завдають варіанти А, В та Г, що свідчило про достовірну відмінність якості води від еталонної. Незначні зміни порівняно з 2016 р. мали процеси пророщення насіння і координації росту органів проростку. Лише варіант Г впливає на вказаний вище процеси.

Отже, за рік якість води 5 фірм її постачальників м. Херсону крізь пункти продажу змінилася. При цьому зміни продемонстрували в основному ті варіанти біометричні показники яких не відрізнялися в моніторингу I від еталону.

Таблиця 2.4.

Результати хімічного аналізу води і значення узагальнюючого індексу токсичності питної води з нецентралізованого водопостачання м. Херсону засобами Allium test (2016 р.)

Найменування Показників	Нормативи, не більше	Еталон	А	Б	В	Г	Д
Заг.жорсткість	10	3,1	3,1	3,1	3,2	2,9	3,1
Хлориди	350	73,5	20,6	20,9	41,8	9,9	72,3
Амоній	2,6	0,052	<0,05	<0,05	0, 237	0,077	1,048
Нітрити	3,3	<0,03	<0,003	0,003	<0,03	<0,003	0,006
Нітрати	50	<0,45	0,662	<0,45	<0,45	0,997	4,923
Водневий показник	6,5-8,5	8,11	6,38	7,98	7, 93	6,74	6,63
Уз. ІТ	-	—	-2,89%	13,65%	9,25%	4,7%	20,32%

Таблиця 2.5

**Моніторинг (II) за біометричними показниками Allium test, що сформовані на розливній
питній воді м. Херсона (2017 р.)**

Варіант води	Ростові показники			Показники пророщення насіння та координація росту проростка	
	Лпрор.	Лкор.	Лст.	Лст./Лкор.	ЕП
Еталон	22,5±2,8	7,3±1,0	15,2±1,9	2,5±0,3	44,0±8,8
А	28,1±3,0*	9,5±1,1*	18,6±2,2*	2,2±0,3	41,6±5,4
Б	25,2±2,7	8,3±0,9	17,0±2,0	2,4±0,3	45,8±5,0
В	26,5±2,8*	8,5±1,1	18,0±2,0*	2,6±0,3	42,8±7,5
Г	38,6±1,8*	13,5±0,8*	25,1±1,2*	2,0±0,1*	59,4±8,8*
Д	23,3±3,0	7,5±1,0	15,8±2,1	2,3±0,2	46,8±5,0

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

Таблиця 2.6

Хімічний аналіз води з пунктів продажу (2017 р.)

Найменування Показників	Нормативи, не більше	Еталон	А	В	Г
Заг.жорсткість	10	3,2	3,1	3,1	3,1
Хлориди	350	73,0	20,9	22,2	20,9
Амоній	2,6	0,084	0,058	0,05	0,069
Нітрити	3,3	0,015	0,194	<0,003	0,129
Нітрати	50	0,457	0,49	<0,45	0,45
Водневий показник	6,5-8,5	7,99	7,94	8,11	8,06

Для з'ясування одержаних результатів здійснили хімічний аналіз води з цих пунктів продажу. Такий аналіз довів, що значимих змін у 2017 році вказані варіанти не набули і відповідають нормам якісної питної води.

Отже, результати фітотестування не співпадають з даними хімічного аналізу. Вказане потребує подальшого дослідження.

Проведене дослідження засвідчило:

- необхідність постійного контролю якості питної води з системи нецентралізованого водопостачання міста (пунктів продажу);
- можливість використання для цього метод лабораторного фітотестування.

Моніторинг III. Таблиці 2.7 і 2.8 містить дані цього моніторингу, що виконаний у 2018 році. В ньому протестована якість за показниками пророщення насіння, росту і координації росту органів проростка, таких самих як у 2016 та 2017 роках варіантів води з пунктів продажу міста.

Моніторинг III щодо тих показників, які досліджувалися у минулих роках показав схожу тенденцію щодо ростових процесів в фітотесту. Варіанти А та Г стимулювали процес росту проростка, всі інші варіанти ніяк не впливали на зазначений процес. Цей вплив на ростові процеси кореня створювали варіанти А, Б та В, інші показники не відрізняються від еталонних. Достовірних змін зазнали і процеси росту стебла, тут значний вплив створювали варіанти В та Г, інші варіанти не відрізняються від еталонних показників. Суттєвих зміни порівняно з 2016 та 2017 р. зазнали процеси пророщення насіння і координації росту органів проростку. Всі варіанти, крім варіанту Д, впливали на відношення показників стебла до кореня, але всі досліджувані варіанти не впливають на енергію пророщення насіння.

Отже, за рік якість води 5 фірм її постачальників м. Херсону крізь пункти продажу змінилася. При цьому зміни продемонстрували в

Таблиця 2.7

**Моніторинг (III) за біометричними показниками Allium test, що сформовані на розливній
питній воді м. Херсона (2018 р.)**

Варіант води	Ростові показники			Показники пророщення насіння та координація росту проростка	
	L пр.	L кор.	L ст.	L ст./L кор.	ЕП
Еталон	27,0±2,6	9,9±0,9	17,1±1,9	1,8±0,2	59,5±13,3
А	31,9±2,7*	16,3±1,7*	15,4±1,4	1,1±0,1*	70,0±8,2
Б	27,7±2,5	11,9±1,1*	15,7±1,8	1,5±0,2*	48,5±23,5
В	27,5±1,9	12,9±0,9*	14,5±1,2*	1,2±0,1*	64,0±18,5
Г	32,8±2,6*	10,4±0,8	22,3±1,9*	2,2±0,1*	65,0±10,6
Д	26,5±2,6	9,7±0,9	16,9±1,8	1,9±0,4	68,5±17,4

*-достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

основному ті варіанти, біометричні показники яких змінилися і у 2017 р. При цьому показавши ту саму тенденцію – стимуляцію ростових показників. Але на відміно від минулих років з'явилися достовірні зміни показників пророщення та координації росту проростка.

2.2.2. Арпаш *Allium cepa* L.

Наступним фітотестом, який використовували для тестування якості питної води з системи нецентралізованого водопостачання, був арпаш *Allium cepa* L.

Таблиця 2.7. містить містить вихідні дані ваги арпашу, що свідчить про подібні властивості сіянок які використовували для фітотестування різних зразків води.

Таблиця 2.7

Значення ваги арпашу *Allium cepa* L., що пророщували на питній розливній воді м. Херсону

Варіанти, моль/дм ³	Вага сіянки (г)
Еталон	0,27±0,08
А	0,24±0,06
Б	0,23±0,08
В	0,24±0,08
Г	0,24±0,04
Д	0,27±0,11

***достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$**

Як свідчать данні цієї таблиці, пророщений арпаш контрольного та експериментальних варіантів за вагою не мали відмінностей, що свідчить про однорідність вихідного матеріалу дослідження у 2-х вибірках.

У таблиці 2.8. наведені результати моніторингу кількості коренів арпашу, що сформувалися під час його пророщування на різних

варіантах води.

Таблиця 2.8

Моніторинг кількості коренів в арпашу *Allium test*, що сформовані на питній розливній воді м. Херсона

Варіант води	Кількість коренів
Еталон	5,9±2,4
А	5,0±3,4
Б	5,2±4,4
В	6,1±1,9
Г	6,1±3,6
Д	3,1±2,9

***достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$**

Як свідчить таблиця 2.8, жоден з варіантів розливної питної води не сприяв достовірній зміні вказаного показника. Проте, великі значення достовірного інтервалу, що зафіксовані у всіх варіантах, потребують проведення додаткового дослідження цього біометричного показника фітотесту.

У таблиці 2.9 наведені дані щодо довжини коренів арпашу, що сформувалися на тестованих варіантах питної розливної води м. Херсона. Як свідчать результати статистичної обробки одержаних даних, цієї таблиці розливна питна вода всіх варіантів достовірно не змінила довжину коренів арпашу. Проте існує певна необхідність у перевірці даного висновку.

У таблиці 2.10 наведена динаміка арпашу *Allium test*, що сформовані на питній розливній воді.

Проведене дослідження засвідчило, що тільки варіант А достовірно уповільнював ріст стебла арпашу. Інші варіанти не впливали на вказаний процес.

Таблиця 2.9

**Динаміка довжини коренів арпашу *Allium test*, що сформовані на
питній розливній воді м. Херсона**

Варіант води	Л. кор
Еталон	6,1±2,1
А	3,6±2,7
Б	5,1±2,5
В	6,0±2,4
Г	5,1±1,8
Д	3,7±3,8

***достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$**

Отже, виходячи з моніторингу біометричних показників арпаш *Allium test* продемонстрував меншу чутливість до якості розливної питної води, ніж проростки такого самого фітотесту. Проте, даний висновок потребує додаткової перевірки.

Таблиця 2.10

**Динаміка довжини стебла арпашу *Allium test*, що сформовані на
питній розливній воді м. Херсона**

Варіант води	Лст.
Еталон	6,0±2,1
А	2,4±1,6*
Б	3,0±3,8
В	4,3±1,6
Г	3,8±1,9
Д	2,9±1,8

***достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$**

2.3. Фітотест «пророщене насіння»

У таблиці 2.11 наведені узагальнені дані та результати їх статистичної обробки щодо моніторингу розливної питної води, яка продається в різних пунктах продажу в м. Херсону, засобами третьої модельної системи – “пророщене насіння пшениці озимої”.

Дані цієї таблиці свідчать, що ріст головного кореня стимулює варіант води А, Б, В та Д, інший варіант Г – ні як не впливає на зазначений процес та достовірно не відрізняється в еталонних показників. Стимуляцію ростових процесів бічного кореня впливають варіанти Б та В, інші не впливають на нього. Варіанти В та Д прискорюють ріст стебла, та достовірно відрізняються від еталону.

Отже, 4 з 5 досліджуваних варіантів стимулюють ріст головного кореня проростку пшениці.

У таблиці 2.12 наведені показники двох інших процесів стимулювання проростку пшениці, що сформовані на тестованих варіантах води: пророщення насіння та координації росту органів проростків.

Як свідчать дані цієї таблиці досліджувані варіанти води не впливають на показники пророщення насіння та на відношення довжини стебла до головного кореня. Варіанти води Б, В та Г впливають на відношення довжини стебла до головного кореня, інші варіанти достовірно не відрізняються від еталонних. Підвищення відношення довжини головного кореня до бічного кореня відбувається під впливом варіантів А, В та Д, що достовірно відрізняються від еталону.

Отже, досліджувані варіанти не впливають на пророщення насіння та ріст стебла (гіпокотілю) відносно головного кореня. Водночас 3 з 5 тестованих варіантів змінюють два інші показники координації росту органів проростка пшениці.

Таблиця 2.11

Моніторинг ростових показників *Triticum aestivum* L., що сформовані на питній розливній воді різних постачальників

Варіант води	Ростові показники		
	Л г.к	Л б.к	Л ст.
Еталон	26,0±1,4	21,6±0,9	9,6±0,5
А	28,3±1,6*	20,5±1,1	9,5±0,7
Б	28,3±1,5*	23,8±1,1*	10,0±0,6
В	32,1±1,7*	24,2±1,2*	10,9±0,8*
Г	27,4±1,6	21,9±1,2	9,7±0,6
Д	31,1±1,5*	20,4±1,3	10,8±0,7*

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

Таблиця 2.12

Показники пророщення насіння та координації росту органів проростків пшениці озимої *Triticum aestivum* L., що сформовані на питній розливній воді м. Херсона

Варіант	Показники пророщення насіння	Показники координації росту органів		
	ЕП	Лст./Лг.кор.	Лст./Лб.кор.	Лг.кор./Лб.кор.
Еталон	49,8±0,4	0,39±0,04	0,49 ±0,02	0,24±0,08
А	49,6±0,48	0,36±0,04	0,51±0,04	0,47±0,11*
Б	49,2±0,74	0,36±0,04	0,57±0,02*	0,23±0,06
В	49,6±0,48	0,36±0,07	0,53±0,03*	0,41±0,11*
Г	49,8±0,4	0,33±0,03	0,54±0,02*	0,32±0,09
Д	49,0±0,89	0,35±0,04	0,45±0,04	0,64±0,12*

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

Порівняльний аналіз динаміки різних біометричних показників фітотесту пророщене насіння пшениці озимої довів, що:

- процес росту проростка чутливіший до якості питної води, ніж пророщене насіння і координація росту органів проростку;
- якість питної води спроможна стимулювати процес росту органів проростка і змінити їх координацію;
- процес росту головного кореня чутливіше реагує на якість питної води, ніж інших органів проростку;
- виявлені рістстимулюючі властивості 4 із 5 віріантів води необхідно розглядати як такі, що характеризують питну воду як не відповідаючу еталону якісної питної води.

У таблиці 2.13 наведені узагальнюючі данні якості питної води з пунктів продажу м. Херсона за результатами 2-х річного моніторингу засобами фіто тестування.

Як свідчить данна таблиця моніторинг засобами проростків *Allium test* у 2016 році не співпадає з результатами хімічного аналізу досліджуваної води. Повторене проведення моніторингу того самого фітотесту в наступних 2-х років відрізнялося від результатів хімічного аналізу питної води з пунктів продажу. Теж саме показав моніторинг засобами проростків пшениці озимої. Отже, якість води з пунктів продажу за результатами хімічного аналізу та результатами фітотестування відрізняється.

Проведене дослідження якості питної води з пунктів продажу засобами фітотестування засвідчило:

- недостатність суто хімічного аналізу цього показника;
- обов'язковість постійного контролю якості питної води з пунктів продажу міста засобами фітотестів.

Таблиця 2.13

Узагальнююча таблиця якості питної води з пунктів продажу м. Херсона за результатами 3-х річного моніторингу засобами фітотестуван

Показники	Моніторинг засобами проростків Allium test	Моніторинг засобами проростків пшениці озимої	Моніторинг засобами проростків Allium test	Моніторинг засобами проростків Allium test
	<u>2016 рік</u>		<u>2017 рік</u>	<u>2018 рік</u>
Біометричні показники фітотестів	Вода якісна	Вода не якісна	Більшість варіантів – вода не якісна	Більшість варіантів – вода не якісна
Хімічний аналіз	Вода якісна		Вода якісна	Вода якісна

2.4. Фітотест «рослини на плаваючих дисках»

Для визначення якості питної розливної води міста була використана цілком інший та новий фітотест у дослідженнях.

Моделна система «рослини на плаваючих дисках» дозволяє встановити зовсім інші біометричні показники, ніж фітотест «пророщене насіння». Під час пророщення рослина, в чашках Петрі, проходить інші стадії розвитку порівняно з пророщенням на плаваючих дисках, тобто етапів ембріогенезу. Таким чином можна виявити більшу чутливість цього фітотесту до змін якості питної води.

Таблиця 2.13 демонструє результати моніторингу ростових показників пшениці озимої, що пророщена на плаваючих дисках на питній розливній воді.

Як свідчать данні наведеної вище таблиці, розливна вода по різному впливає на ростові показники данного фітотесту. Всі досліджувані варіанти впливають на довжину та кількість коренів. Це може бути пов'язане з тим, що корінь рослини безпосередньо взаємодіє з досліджуваною водою, та саме тут відбувається всмоктування речовин.

Три біометричних показника фітотесту, а саме довжина, кількість стебел, та маса, не змінили своє значення в умовах дії питної розливної води.

Отже, проведене дослідження, якості питної води показало що:

- цей різновид фітотесту менш чутливий до якості питної води, ніж фітотест «пророщене насіння пшениці озимої»;
- одержаний результат пояснюється тим, що фітотест «пророщене насіння пшениці озимої» показує процес ембріогенезу рослини, який демонструє високий рівень чутливості до впливу факторів довкілля.

Таблиця 2.13

Динаміка ростових показників пшениці озимої на моделі «плаваючі диски».

Варіант води	L стеб.	L кор.	N стеб.	N кор.	m стеб.	Хлорофіл
Еталон	18,9±2,5	24,6±3,2	4,0±1,0	30,8±3,5	0,28±0,06	0,36±0,1
А	21,8±3,2	15,5±2,8*	5,0±1,0	20,8±3,4*	0,31±0,05	0,39±0,1
Б	16,6±3,8	14,6±5,0*	4,2±1,2	24,0±4,5*	0,26±0,07	0,38±0,1
В	22,2±2,6	18,9±2,8*	5,2±1,2	25,6±4,5*	0,37±0,08	0,42±0,1
Г	20,5±1,4	19,3±2,9*	4,8±0,8	23,0±5,7*	0,28±0,06	0,36±0,1
Д	18,3±3,2	13,4±3,0*	4,2±1,2	23,0±3,7*	0,23±0,06	0,36±0,1

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

РОЗДІЛ 3. Цитомоніторинг якості питної води

Для з'ясування механізмів стимулюючої дії дослідженої води були проведені цитологічні дослідження питної розливної води міста кінчиків коренів цибулі пророщених на питній розливній воді моніторингу III (2018 року). В них визначали зміни проліферативної активності та рівня білкового синтезу в клітинах кінчика кореня проростків *Allium test*.

Проліферативна активність клітин.

Таблиця 3.1 ілюструє рівень мітотичної активності клітин кореню проростку *Allium cepa* L., за дії досліджуваної води.

Таблиця 3.1

Узагальнюючи данні мітотичного індексу кінчиків коренів цибулі *Allium cepa* L., пророщених на питній розливній воді (пунктів продажу) міста

Варіант	Кількість клітин		
	Інтерфаза	Клітини, що діляться	
	N	n	MI
Еталон	913,5±4,6	86,4±4,6	8,6±0,6
А	877,0±8,4*	123±8,4*	12,3±0,8*
Б	903,2±4,4*	96,8±4,4*	9,6±0,4*
В	902,0±5,0*	98,0±5,0*	9,8±0,5*

***достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$**

Як свідчить вище зазначена таблиця, всі варіанти питної розливної води міста достовірно відрізняються від еталонних показників. А саме кількість клітин, що діляться значно відрізняється від кількості клітин еталону. Саме ці данні підтверджують факт стимуляції ростових показників проростка, виявлених в 2017 та 2018 роках, сформованих на питній розливній воді міста.

На таблиці 3.2 представлені розподіли фазних індексів клітин кореню проростків *Allium cepa* L. за дії досліджуваної води.

Її дані свідчать про те, що питна розливна вода з пунктів продажу суттєво не впливає на розподіл фаз мітозу. Таким чином, досліджувана вода не змінювала тривалість фаз мітозу та не сприяла накопиченню клітин в одній з них. Водночас рівень проліферативної активності зростав у фітотестів, що пророщували на варіантах води, яка стимулювала ріст їх коренів. Вказане є повністю зрозумілим, бо відомо, що поділ клітин є провідним засобом, що забезпечує ріст органа.

Рівень білкового синтезу

У дослідженні зміни білкового синтезу виміряли за характеристиками ядерцевого біомаркери. До них входили два показника: розподіл клітин з ядрами, що мають різну кількість ядерця («показник багатоядерцевості») і ядерцево-ядерне відношення (показник ЯЯВ).

У таблиці 3.3 наведені дані за певним показником щодо коренів проростків *Allium test* пророщених на питній розливній воді міста (варіант А, Б, В див табл).

В клітинах проростків *Allium test* помітні ядра виготовлених на препаратах, що містять одне або два ядерця. Як свідчить дана таблиця, більшість в усіх варіантах – ядра з одним ядерцем, менше з двома, і зовсім відсутні з трьома ядерцями клітини.

З'ясовано, що варіанти, що сформовані на питній розливній воді міста Херсон не мали достовірних відмінностей за дією на значення ядерцевого маркери («показника багатоядерцевості»). Отже за цим показником стимуляція синтезу в коренях, що росли краще за еталон не спостерігається.

Таблиці 3.4 містить дані щодо іншого показника білкового синтезу в клітині – значення ядерцево-ядерного відношення.

Таблиця 3.2

Узагальнюючи данні розподілу фаз мітозу в проліферативній активності кінчиків коренів цибулі *Allium cepa* L., пророщеної на питній розливній воді (пунктів продажу) міста

Варіант	Кількість клітин, що діляться	Кількість клітин в різних фазах							
		П		М		А		Т	
		N	% (PI)	N	% (MI)	N	% (AI)	n	% (TI)
Еталон	86,4±4,64	42,0±2,21	48,7±2,29	19,8±2,13	22,8±1,73	12,8±1,01	14,8±1,38	11,9±1,89	13,7±1,66
А	123±8,42	52,4±2,37	38,8±9,3	29,9±3,51	23,8±2,74	22,6±3,81	18,2±2,17	18,1±2,01	14,7±0,9
Б	96,8±4,43	46,3±1,84	47,9±1,53	24,6±1,97	25,3±1,18	14,2±1,01	14,7±0,96	11,7±1,37	12,0±1,09
В	98,0±5,03	45,9±2,09	46,9±1,24	24,8±1,89	25,2±1,02	14,4±1,64	14,7±1,61	12,9±1,29	13,1±0,98

*достовірно відрізняється від еталону $p=0,05$

Таблиця 3.3

Розподіл клітин кореня проростків *Allium cepa* L. за значеннями ядерцевого біомаркери («показник багатоядерцевості») під час їх формування на розливні питній воді міста

Варіанти, моль/дм ³	Кількість клітин кореня проростка <i>Allium cepa</i> L. з			
	1ядерцем		2ядерцями	
	N	%	N	%
Еталон	271	90,3	29	9,7
А	265	88,3	35	11,7
Б	280	93,3	20	6,7
В	276	92,0	24	8,0

*** достовірно відрізняється від еталону з $p=0,05$.**

Як свідчать ця таблиця ядерцевий біомаркер за показником ЯЯВ коренів проростків цибулі відповідних значень еталону, отриманих в дослідженні достовірно відрізняються. Це вказує на збільшення розмірів ядерця відносно ядра і відповідно посилення білкового синтезу.

Отже, данні отримані в моніторингу III свідчать про те, що питна розливна вода (варіанти А, Б,В див. табл.) стимулювала ростові процеси в корені. Зазначенні процеси повністю підтверджуються цитомоніторингом досліджуваної води. Рівень проліферації клітин кінчика кореня був вищим ніж еталонні показники, на відмінно від цього, питна розливна вода з пунктів продажу суттєво не впливає на розподіл

фаз мітозу. Таким чином, досліджувана вода не змінювала тривалість фаз мітозу та не сприяла накопиченню клітин в одній з них. Тим часом,

Таблиця 3.4

Моніторинг значень ядерцевого біомаркери (ядерцево-ядерне відношення) проростків цибулі *Allium cepa* L., сформованих на питній розливні воді (пунктів продажу) міста

Варіанти, моль/дм ³	ЯЯВ
	Хср. ±σ
Еталон	0,17 ± 0,01
А	0,21± 0,01*
Б	0,19 ± 0,01*
В	0,19±0,01*

* достовірно відрізняється від еталону з $p=0,05$.

рівень проліферативної активності зростає у фітотестів, що пророщували на варіантах досліджуваної води, яка стимулювала ріст їх коренів. Вказане є повністю зрозумілим, бо відомо, що поділ клітин є провідним засобом, що забезпечує ріст органа. Показники ядерного біомаркери також відрізняються. Показник ядерцево-ядерного відношення «показник ЯЯВ» достовірно відрізняється від еталону, що свідчить про збільшення розміру ядерця відносно ядра і як результат підвищення білкового синтезу. Але на відміну від «показника ЯЯВ» дослідження «показника багатоядерцевості» не виявило жодних відхилень від контролю. Виходячи з вище зазначених даних можна висунути таку гіпотезу, що збільшення ядерця відносно ядра - це перший процес який відбувається при стимуляційній активності в зоні кореня, а пізніше збільшується кількість ядерців. Ці процеси в клітині відбуваються по чергову. Для

підтвердження зазначених даних необхідно провести ряд підтверджуючих дослідів.

В таблиці 3.5 зазначено порівняння біометричних та цитологічних показників проведених в останньому моніторингу. В таблиці наведено наступні значення:

↑ - показник достовірно більший ніж значення еталону

0 – показник достовірно не відрізняється від значення еталону

- - показник не використовувався в цитологічному дослідженні

У дослідженні цитологічних показників використовувалися тільки варіанти води (А, Б, В), які мали достовірні відмінності за ростовим показником – довжини кореня. Саме цей показник показав стимулюючу дію досліджуваної питної розливної води. Ці дані підтверджують цитомоніторинг досліджуваної води з пунктів продажу, а саме «показник ЯЯВ»

Таблиця 3.5

Узагальнюючі данні щодо біометричних та цитологічних даних моніторингу III (2018 року)

Варіант	Біометричні показники					Цитологічні показники			
	Ростові показники			Показники пророщення насіння та координації росту проростка		МІ	ФІ	Показник ЯЯВ	Показник багатоядерцевості
	Л.прор.	Л кор.	Л ст.	Л ст/кор.	ЕП				
А	↑	↑	0	↑	0	↑	0	↑	0
Б	0	↑	0	↑	0	↑	0	↑	0
В	0	↑	↑	↑	0	↑	0	↑	0
Г	↑	0	↑	↑	0	-	-	-	-

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що у науковій літературі відсутні самостійні ґрунтовні дослідження щодо визначення якості питної води з нецентралізованого водопостачання (пунктів продажу). Найефективнішою тест-системою для визначення цього показника є Allium test. Пшениця озима (*Triticum aestivum* L.) також використовується зі вказаною метою.

2. Доведено засобами 3-х річного моніторингу біометричних показників Allium test (проростків і арпаш), що якість питної води з пунктів продажу зазнає змін. Водночас паралельний хімічний аналіз цього показника не завжди їх реєструє. З метою надійного контролю якості цього різновиду води з системи нецентралізованого водопостачання краще використовувати проростки фітотесту. Встановлено, що модельна система «арпаш» має меншу чутливість, ніж «проростки» Allium test.

3. Доведено засобами моніторингу біометричних показників фітотесту «пророщене насіння пшениці озимої *Triticum aestivum* L.», що якість води в 4 з 5 фірм-постачальників пунктів її продажу м. Херсона не відповідає еталону якісної питної води. Охарактеризований негативний вплив неякісної води, який спричиняє різноспрямовані зміни ростових показників зміни цього фітотесту: процес росту проростка чутливіший до якості питної води, ніж процеси пророщення насіння і координації росту органів проростку; процес росту головного кореня чутливіше реагує на якість питної води, ніж інших органів проростку. Встановлено, що якість питної води спроможна стимулювати ріст органів проростку і змінити їх координацію;

4. Доведено, за допомогою ряду цитологічних показників Allium test, що проліферативна активність клітин та рівень білкового синтезу, сформованих на досліджуваній воді, значно відрізняється від еталонних показників, що підтверджується фактом стимуляції росту проростка

Allium cepa L.. Встановлене є підтвердженням існування відмінностей тестованої води від якісної води (еталону).

5. Встановлено, що існує необхідність постійного контролю якості питної води з системи нецентралізованого водопостачання міста (пунктів продажу); доведено можливість використання для цього методу лабораторного фітотестування із застосуванням батареї фітотестів, що складається з *Allium test* і проростків пшениці озимої. Показано, що застосування такої батареї для визначення якості води з системи нецентралізованого водопостачання міста вимагає уточнення нормативів якості питної води за хімічним її складом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Амосова А.А. Эколого-генетическая оценка влияния солей тяжелых металлов на лук репчатый в условиях модифицирующего эффекта / А.А. Амосова // Молодые ученые - науке и производству: Сб. матер. Обл. научн. конф. - Самара, 2002. – С. 25-26.
2. Архипчук В.В. Применение комплексного подхода в биотестировании природных вод/ В.В. Архипчук // Химия и технология воды. – 2000. – Т.19, №4. – С. 428-443.
3. Архипчук В.В. Биотестирование качества воды на клеточном уровне/ В.В. Архипчук // Химия и технология воды. – 2001. — Т. 23, №5. – С. 531-543.
4. Архипчук В.В. Проблемы качества питьевых бутылированных вод / В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Химия и технология воды. - 2004. - Т.26, №4. – С. 403-414.
5. Архипчук В.В. Комплексная оценка токсичности, цито- и генотоксичности полигесаметиленгуанидина с использованием растительных и животных тест-организмов и их клеток / В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Химия и технология воды. – 2007. - Т. 29, № 4. – С. 357-369.
6. Архипчук В.В. Применение комплексного подхода в биотестировании природных вод / В.В. Архипчук, М.В. Малиновская // Хімія і технологія води. — 2000. — Т. 21, № 3. – С. 428.- 443.
7. Березина Н.А. Екологія рослин: учеб. посібник для студ. высш. учеб. закладів / Н.А. Березина. - М.: Видавничий центр "Академія", 2009. – 400 с.
8. Білявський Г.О. Основи екології: Підручник / Г. О. Білявський, Р. С Фурдуй, І. Ю. Костіков. — 2-ге вид. — К.: Либідь, 2005. — 408 с.
9. Біотестування як метод оцінки якості питних вод // Вісник Національної академії наук України. – 2006. – № 10. – С. 54 – 57.

10. Блінов Л. Н. Екологія. Основні поняття, терміни, закони, схеми: Навчальний посібник / Л.Н. Блінов. - М: СПбГПУ, 2006. - 90 с.
11. Боме А.Я. Реакция сорт мягкой яровой пшеницы отечественной и зарубежной селекции на снижение температуры / А.Я. Боме, Н.А. Боме // Современные наукоемкие технологии. - 2006. – № 6. – С. 61–62.
12. Буданцев А.Ю. Действие метотрексата на первичный рост корней *Allium* сера / А.Ю. Буданцев, В.П. Кутышенко // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11 (часть 4). – С. 833-836.
13. Гаранько Н. М. Оцінка якості питної води за допомогою методів біотестування / Н. М. Гаранько, В. О. Ісламов // Екологія довкілля та безпека життєдіяльн. - 2003. - № 5. - С. 34-37.
14. ГСанПиН 2.2.4-171-10 – государственные нормы и правила "Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для потребления человеком"
15. Гончарук В.В. Комплексна оцінка якості фасованих вод / В.В. Гончарук, В.В. Архипчук, Г.В. Терлецька та ін. // Вісник НАН України. - 2005.– Т. 27, № 3. – С. 47-58.
16. Гончарук В. В. Биотестирование с помощью растительных тест-организмов водопроводной воды, обработанной минералом кремнем / В.В. Гончарук, Р. Д. Чеботарева, В. Ф. Коваленко, Е. А. Пасичная // Химия и технология воды. - 2011. - Т. 33, № 5. - С. 551-558.
17. Горелов А.А. Екологія: конспект лекцій / А.А. Горелов. - М.: Вища освіта, 2008. - 192 с
18. Грицик, В. Екологія довкілля. Охорона природи: навчальний посібник / В.Грицик, Ю. Канарський, Я. Бедрій. - К.: Кондор, 2009. - 292 с.
19. Дорогунцов С. І. Екологія: навч. – метод. посібник для самостійного вивчення дисципліни. / С.І. Дорогунцов, К.Ф. Коценко, О.К. Аблова. – К.: КНЕУ, 1999. –152 с.
20. Дорожкин В.И. Определение генетической токсичности (мутагенности) химических соединений в окружающей среде./ В.И.

Дорожкин, Л.Е. Бояринцев // Сельскохозяйственная наука северо-востока Европейской части России. – Киров, 1995. – С. 92 – 93.

21. ДСТУ 3959-2000. Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами: Методики біотестування води. Настанови. - Введ. 2001.01.01 - Офіц. вид. - К.: Держстандарт України, 2000. – № 5. – 5 с.

22. Екологічні фактори – [Електронний ресурс] - режим доступу: https://uk.m.wikipedia.org/wiki/Екологічні_фактори

22а. Екологічні фактори і їх класифікація – [Електронний ресурс] - режим доступу: <https://helpiks.org/4-18864.html>

22б. Екологічні фактори та їх вплив на живі організми – [Електронний ресурс] - режим доступу: <https://lib2.znaimo.com.ua/docs/400/index-977037.html>

23. Єфремова О.О. Біотестування. Сучасний стан практичного використання / О.О. Єфремова, І.П. Крайнов // Вісник КДПУ. - 2006. - Частина 1, № 6 – С. 34-37.

24. Єфремова О. О. Біотестування питної води у моніторингу стану екологічної безпеки / О. О. Єфремова. Вісник КДПУ. - 2006. - Частина 1, №7– С. 48-51.

25. Заверуха Н. Основи екології: Навчальний посібник для вищих навчальних закладів/ Н. Заверуха, В. Серебряков, Ю. Скиба. – К.: Каравела, 2006. – 365 с.

26. Запольський А. Основи екології: Підручник для студентів / А. Запольський, А. Салюк – К.: Вища школа, 2003. – 357 с.

27. Иванов А.В. Методические рекомендации по биоиндикации мутагенного фона внешней среды на высших растениях / А.В. Иванов, В.В. Семенов. – Казань, 1993. – С. 20–23.

28. Кормицин М. З. Основи екології. /М.З Кормицин. - М.: МПУ, 2002. – 246 с.

29 Коробкин В.М. Екология: учеб. для вуз / В.М. Коробкин, Л.В. Передельський. - Ростов н/Д: Фенікс, 2007. - 602 с.

30. Коцюба А. С. Біотестування якості питних вод урбанізованих територій / А. С. Коцюба // Агроекологічний журнал. - 2014. - № 3. - С. 103-105.
31. Кучерявий В.П. Екологія./ В.П. Кучерявий. – Львів: Світ, 2001. – 500 с.
32. МУ 1.2.2968-11. 1.2. Гигиена, токсикология, санитария. Порядок биологической оценки действия наноматериалов на растения по морфологическим признакам. Методические указания" (утв. Роспотребнадзором 17.10.2011). - М., Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.
33. Потіш Л. А. Екологія: навальний посібник для вищої школи / Л. А. Потіш. - К.: Знання, 2008. - 272 с.
- 33а. Проблеми якості питної води– [Електронний ресурс] - режим доступу: –<https://aurasvit.com/archives/465>
- 33б. Олійник Я.Б. Основи екології: підручник / Я.Б. Олійник, П.Г. Шищенко, О.П. Гавриленко. - К.: Знання, 2012. - 558 с.
34. Прохорова И.М. Растительные тест-системы для оценки мутагенов / И.М. Прохорова. — Ярославль: ЯрГУ, 1988. — 13 с.
35. Прохорова И.М. Оценка митотического и мутагенного действия факторов внешней среды/ И.М. Прохорова. - К., 2003.- Т. 21, №4 – С. 5-7.
- 35а. Сидорович М.М. Визначення якості питної води за допомогою ALLIUM TEST / М.М. Сидорович, С.А. Алексеєва, Г.М. Бекеш //Теорія і практика сучасного природознавства : збірник наук. праць. – Херсон, 2011. – С. 245-248.
- 35б. Сидорович М. М. Використання біометричних показників Allium test для визначення якості питної води міста / М. М. Сидорович // Науковий часопис НПУ імені М. П. Драгоманова. Серія 20 : Біологія. - 2013. - Вип. 5. - С. 182-192

36. Скок С. В. Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування / С. В. Скок // Агроекологічний журнал. - 2015. - № 2. - С. 26-31.
37. Речицький О.Н. Дослідження на рослинних об'єктах рістрегулюючої активності спірокарбону та його похідних / О.Н. Речицький, Л.Л. Пилипчук, Т.А. КОСЯК, В.І. ЄЗІКОВ // Чорноморський ботанічний журнал №6 (1), С.89-94
38. Смикун Н.В. Біотестування колодязної води з використанням деяких рослин родини Роасеae/ Н.В. Смикун, С.С. Фурман // Вісник Запорізького національного університету: Біологічні науки. - Запоріжжя: ЗНУ, 2008. - №1. - С. 183-185.
39. Спінко С.І. Оцінка та прогнозування якості природних вод/ С.І Спінко. - К: Ніка-Центр, 2001.-264 с.
40. Таран Д.О. Методы биотестирования в контроле токсичности и детоксикации нитробензола : автореферат дис. канд. биол. наук : 03.02.08 / Д. О. Таран // ФГБОУ ВПО "Иркут. гос. ун-т". - Иркутск, 2012. - С. 19-21.
41. Танский В.И. Влияние инсектицидов на некоторые физиолого-морфологические показатели и продуктивность зерновых культур / В.И. Танский, Л.Н. Логинова, Н.К. Солдатова //Агрохимия.-1998. - № 5. - С.79-85.
42. Ушкалова С.О. Биологическая индикация как метод мониторинга агроценоза в условиях интенсивных технологий возделывания зерновых культур. Вопросы экологии в системе земледелия. / С.О. Ушкалова // Сборник научных трудов. – Ставрополь, 1993. – С. 132 – 139.
43. Яковлев В.В. Биотестирование природных вод Харьковской области для оценки их токсичности /В.В. Яковлев, Т.Ю. Бирюкова, С.А. Мацюк// Технические науки и архитектура, 2008. – К.: Либідь, № 5 – С. 102-110.
44. Allium test – [Електронний ресурс] - режим доступу: https://ru.m.wikipedia.org/wiki/Allium_test

45. Fiskesjo G., The Allium test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas.*, V. 102, 1985, pp. 99-112.

45a. ForUm'a [Электронний ресурс]. – Режим доступу: –
<http://for-ua.com/article/486413>.

46. Paola Poli Comet assay application in environmental monitoring: DNA damage in human leukocytes and plant cells in comparison with bacterial and yeast tests / Annamaria Buschini, Francesco Maria Restivo, Antonella Ficarelli, Francesca Cassoni¹, Liana Ferrero and Carlo Rossi // *Mutagenesis*. — Oxford University Press: Oxford Journals, 1999. — № 14(6). — С. 547-556.