

Kovalchuck L I, Mokiyeenko A V, Vasiliyeva T Yu. Характеристика мутагенності води поверхневих водойм українського Придніпров'я з використанням мікробної тест-системи *Salmonella typhimurium* TA 98 = Characteristics of ukrainian Danube area surface water source mutagenicity with the use of microbial test-system *Salmonella typhimurium* TA 98. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(2):311-318. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.17884](https://doi.org/10.5281/zenodo.17884)

<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%28%29%3A311-318>

<https://pbn.nauka.gov.pl/works/561488>

<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17884>

Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011 – 2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at License Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 20.10.2014. Revised 18.01.2015. Accepted: 25.02.2015.

УДК 504.45(477.74):574.64:579

**ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАГЕННОСТІ ВОДИ ПОВЕРХНЕВИХ ВОДОЙМ
УКРАЇНСЬКОГО ПРИДНІПРОВ'Я З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРОБНОЇ
ТЕСТ-СИСТЕМИ *Salmonella typhimurium* TA 98
CHARACTERISTICS OF UKRAINIAN DANUBE AREA SURFACE WATER SOURCE
MUTAGENICITY WITH THE USE OF MICROBIAL
TEST-SYSTEM *Salmonella typhimurium* TA 98**

¹Л. Й. Ковальчук, ²А. В. Мокієнко, ³Т. Ю. Васильєва

¹L I Kovalchuck, ²A V Mokiyeenko, ³T Yu Vasiliyeva

¹Одеський національний медичний університет, м. Одеса,

²ДП Український НДІ медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса

³Одеський національний університет ім. І.І. Мечнікова, м. Одеса

¹Odessa National Medical University, Odessa

²State Enterprise Ukrainian research Institute for Medicine of Transport of the Ministry of Health care of
Ukraine, Odessa

³I. I. Mechnikov Odessa national University, Odessa

Abstract

The results of Ukrainian Danube area surface water sources mutagenicity with the use of microbial test-system *Salmonella Typhimurium* TA 98 are shown in the work presented. The samples investigated cause different biological replies in the model bacterial *Salmonella typhimurium* TA 98. This proves about variety of contaminants presenting in the water. The number of the samples caused the excess of mutagenicity spontaneous level (control indexes) more than a 100 of times constitutes 26.6 %; more than 50 times – 13.3 %; more than 10 times – 20.0 %; less than 10 times – 40.0 %. Taking into account the persisting character of Ukrainian Danube area

surface water sources contamination, it is necessary to continue the research of these sources mutagenicity with the use of bacterial test-system *Salmonella typhimurium* TA 98.

Key words: water, water object, mutagenicity, test-system *Salmonella typhimurium* TA 98, Ukrainian Danube area.

У роботі представлені результати досліджень мутагенності води поверхневих водойм Українського Придунав'я з використанням мікробної тест-системи *Salmonella typhimurium* TA 98. Досліджені проби викликають різноманітні біологічні відгуки в модельній бактеріальній системі *Salmonella typhimurium* TA 98, що свідчить про різноманіття забруднювачів, які знаходяться у воді. Показано, що процент зразків води, які викликали перевищення спонтанного рівню мутагенезу (контрольні показники) більш ніж у 100 разів склав 26,6 %; більш ніж у 50 – 13,3 %; більш ніж у 10 – 20,0 %; менш ніж у 10 – 40,0 %. Тобто, має місце інтенсивне забруднення поверхневих водойм Українського Придунав'я речовинами-ксенобіотиками, які мають потужну мутагенну дію. Зважаючи на персистентний характер забруднення поверхневих водойм Українського Придунав'я, слід визнати за необхідне продовження досліджень мутагенності води цих водних об'єктів на бактеріальній тест-системі *Salmonella typhimurium* TA 98.

Ключові слова: вода, водні об'єкти, мутагенність, тест-система *Salmonella typhimurium* TA 98, Українське Придунав'я.

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАГЕННОСТИ ВОДЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ УКРАИНСКОГО ПРИДУНАВ'Я С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ *Salmonella typhimurium* TA 98. В работе представлены результаты исследований мутагенности воды поверхностных водоемов Украинского Придунавья с использованием микробной тест-системы *Salmonella typhimurium* TA 98. Исследованные пробы вызывают различные биологические отклики в модельной бактериальной системе *Salmonella typhimurium* TA 98, что свидетельствует о многообразии загрязнителей, которые находятся в воде. Показано, что процент образцов воды, которые вызвали превышение спонтанного уровня мутагенеза (контрольные показатели) более чем в 100 раз, составил 26,6 %; более чем в 50 – 13,3 %; более чем в 10 – 20,0 %; менее чем в 10 – 40,0 %. То есть, имеет место интенсивное загрязнение поверхностных водоемов Украинского Придунавья веществами-ксенобиотиками, которые имеют мощное мутагенное действие. Принимая во внимание персистирующий характер загрязнения поверхностных водоемов Украинского Придунавья, признано необходимым продолжение исследований мутагенности воды этих водных объектов на бактериальной тест-системе *Salmonella typhimurium* TA 98.

Ключевые слова: вода, водные объекты, мутагенность, тест-система *Salmonella typhimurium* ТА 98, Украинское Придунавье.

ВСТУП

Незадовільний стан водних ресурсів є однієї з основних і найбільш гострих еколого-водогосподарчих проблем України. Згідно з інформацією Департаменту гідрометеослужби і моніторингу Мінприроди України в країні практично не залишилося водних об'єктів, які за екологічним станом відносяться до першої категорії. До 1-3 (практично чисті) категорії належать 15 % водних об'єктів, до 4-5 категорії (забруднені) – 60 %, до 6-7 (брудні і дуже брудні) – 25 % [1].

Це повною мірою стосується персистувального забруднення водних об'єктів Українського Придунав'я (р. Дунай та придунайські озера Кагул, Ялпуг, Катлабуг, Китай), які внаслідок скидів неочищених або недостатньо очищених стічних вод знаходяться під зростаючим антропогенним навантаженням. Дані водні об'єкти влітку потерпають від надмірного «цвітіння» ціанобактерій внаслідок евтрофікації, що показано нами у попередніх роботах [2, 3]. Незважаючи на це, якість води річок та озер (за деяким винятком Дунаю досліджена вкрай недостатньо. Наприклад, відсутні роботи щодо вивчення мутагенності води під час «цвітіння» на бактеріальних тест-культурах. Тому, мета даної роботи полягала у вивченні мутагенності води поверхневих водойм Українського Придунав'я з використанням мікробної тест-системи *Salmonella typhimurium* ТА 98.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Зразки води поверхневих водойм Українського Придунав'я відбирали 23, 24 липня 2014 р. в точках моніторингу стану поверхневих вод, який виконує лабораторія Дунайського басейнового управління водних ресурсів (м. Ізмаїл Одеської області) (табл. 1).

Таблиця 1

Місця відбору проб води поверхневих водойм Українського Придунав'я

№	Найменування водного об'єкту	Найменування та місце розташування пунктів спостережень (створів)
1	р. Дунай	163 км від гирла ріки, м. Рені, кордон з Румунією
2	р. Дунай	94 км від гирла, м. Ізмаїл, питний водозабір
3	р. Дунай	48 км від гирла, м. Кілія, питний водозабір
4	р. Дунай	20 км від гирла, м. Вилкове, питний водозабір
5	оз. Кагул	ГНС Нагірне; відстань від с. Нагірне Ренійського району – 3 км
6	оз. Ялпуг	Болградський питний водозабір, с. Оксамитне Болградського району
7	оз. Ялпуг	с. Нова Некрасівка Ізмаїльського району
8	оз. Катлабуг	НС-2 Суворовської ЗС, Ізмаїльський район
9	оз. Катлабуг	ГНС Кірова
1	оз. Китай	Червоноярська ГНС; відстань від с. Червоний Яр Кілійського району

0		району – 3 км
1 1	оз. Китай	Василівська ГНС
1 2	р. Ялпуг	впадає в оз. Ялпуг; 5,4 км від гирла; с. Табаки Болградського району, кордон з Молдовою
1 3	р. Карасулак	впадає в оз. Ялпуг; 3,3 км від гирла по руслу ріки; с. Криничне Болградського району
1 4	р. Єніка	впадає в оз. Катлабух; 0,1 км від гирла по руслу ріки, с. Першотравневе Ізмаїльського району
1 5	Зрошувальний канал р. Дунай- оз. Сасик	1,2 км від ріки по руслу каналу, а/д міст

В якості методичної основи для вивчення мутагенної активності зразків води використана модифікація стандартного тесту Еймса, яка ґрунтується на використанні репараційно-дефектних штамів *Salmonella typhimurium* TA 98, що містять одну із чотирьох мутацій у гістидиновому опероні [4]. Використання тесту Еймса і його різних модифікацій дозволяють виявити присутність мутагенів у природних і стічних водах [5].

Мутантний штам *S. typhimurium* TA 98 дефектний за системою синтезу гістидину та біотину, і, внаслідок цього, неспроможний до самостійного розмноження поза лабораторних умов. Мутація *gal bio urv B* викликає додаткові порушення систем відновлення пошкодженої ДНК за рахунок синтезу ендонуклеази 1, підвищення проникливості клітинної стінки бактерій і порушення в синтезі біотину (*bio*). Наявність плазмиди *pKM 101* забезпечує стійкість до ампіциліну і підвищує частоту спонтанного та індукованого мутагенезу. Використання вказаного штаму дозволяє реєструвати токсичну дію і виявляти мутації, що виникають за типом заміни пар основ, обумовлені плазмідною *his D 33052*. *Salmonella typhimurium* TA 98 дозволяє реєструвати індуковані мутації типу зсуву рамки зчитування, що забезпечує мутація *his G 46*.

Суть уніфікованої методики полягала в попередньому короткочасному (4 - 6 годин) культивуванні клітин тест-об'єкту на рідких середовищах із введенням дослідженої води (дослід) і без неї (контроль) з подальшим висівом на щільні повноцінні (МПА) і селективні (САС) середовища. На МПА колонії формують всі життєздатні клітини сальмонели; на селективному середовищі САС колонії утворюють лише ті клітини бактерій, які відновили в результаті генної мутації здатність синтезувати гістидин [5].

Усі зразки оцінювали у п'яти повторностях.

Показник мутагенної дії розраховували за формулою:

$$N = T_{\text{сас}}/T_{\text{мпа}};$$

де N - концентрація мутацій; $T_{\text{сас}}$ - кількість бактерій-ревертантів, що виростили на середовищі САС; $T_{\text{мпа}}$ - кількість клітин, що виростили на повноцінному середовищі МПА.

Показники мутагенної дії групували за наступної шкалою:

- слабка мутагенна дія - перевищення рівня спонтанного мутагенезу менше ніж у 2 рази;
- помірна мутагенна дія - перевищення рівня спонтанного мутагенезу від 2 до 5 разів;
- потужна мутагенна дія - перевищення рівня спонтанного мутагенезу від 5 до 10 разів та більше.

Контролем слугувало стерильна дистильована вода.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Попередні дані, на підставі яких потім здійснювали розрахунки показників мутагенності, наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Попередні показники чисельності КУО/см³ *Salmonella typhimurium* ТА 98 на середовищах МПА та САС

№ зразка	Кількість колоній на різних середовищах, КУО/см ³	
	$\bar{X}_{\text{мпa}}$	$\bar{X}_{\text{сac}}$
1	2	3
Контроль	34,0±1,13	58,0±2,26
1	13,3±1,73	182,7±5,23
2	12,3±2,61	232,0±11,98
3	39,0±1,13	56,0±1,13
4	29,0±2,26	146,7±6,91
5	5,7±1,31	328,0±9,05
6	10,0±1,13	48,7±1,73
7	1,7±0,65	618,7±37,69
8	11,0±1,13	58,7±3,46
9	10,3±2,61	45,37±3,64
10	8,3±1,31	565,3±63,58
11	28,0±1,13	148,0±9,05
12	9,3±0,65	144,0±15,68
13	5,0±1,13	432,0±36,21
14	2,7±0,65	376,0±31,36
1	2	3
15	9,7±0,65	400,0±23,95

На основі отриманих даних, були розраховані показники мутагенності зразків води (табл. 3).

Максимальний показник мутагенної активності, з перевищенням контролю у 633,0 рази реєстрували для зразка води, відібраного з оз. Ялпуг (№ 7, с. Нова Некрасівка,

Ізмаїльський район). Саме для цього зразка реєстрували найбільшу токсичну дію при проведенні біотестування у бактеріальній тест-системі. Вода з р. Єніка (с. Першотравневе Ізмаїльського району) була здатна викликати мутагенний ефект, який перевищував контрольні показники у 240,5 разів.

Також високі показники мутагенної активності реєстрували при біотестуванні зразків води, відібраних з р. Карасулак (№ 13, с. Криничне Болградського району) та оз. Китай (№ 10, с. Червоний Яр Кілійського району) – показники мутагенної активності склали 147,4 та 115,7 відносних одиниць. Відповідно до використаної нами шкали ці показники свідчать про потужну мутагенну активність.

Таблиця 3

Показники мутагенності води поверхневих водойм Українського Придунав'я з використанням мікробної тест-системи *Salmonella typhimurium* ТА 98

№ зразка	Мутагенна активність, від. од.
Контроль	1,0
1	23,4
2	32,1
3	2,45
4	8,63
5	98,7
6	8,3
7	633,2
8	9,1
9	7,54
10	115,7
11	9,02
12	26,3
13	147,4
14	240,5
15	70,59

Потужна мутагенна активність з перевищенням контрольних показників у 70,59 – 98,7 разів була зареєстрована для зразків води, відібраних із озера Кагул (№ 5, ГНС Нагірне) та зрошувального каналу р. Дунай – оз. Сасик (№ 20).

Зразки води з річки Дунай (№ 1, 2) та р. Ялпуг (№ 12, с. Табаки Болградського району) також викликали значне підвищення мутагенної активності в тест-системі *Salmonella typhimurium* ТА 98. Перевищення контрольних показників в 23,4 – 32,1 рази свідчить про потужну мутагенну активність цих зразків.

Відносно невеликі показники мутагенної активності були зареєстровані для зразків води з оз. Калабух (№ 8, 9), оз. Китай (№ 11, Василівська ГНС), оз. Ялпуг (№ 6, Болградський питний водозабір) та р. Дунай (№ 4, м. Вилкове, питний водозабір). Для

кожної з цих проб показники мутагенної активності перевищували контрольні показники у 7,54 – 9,02 раз. Хоча, за визначеною шкалою ці значення свідчать про потужну мутагенну дію, на тлі інших зразків ці показники є мінімальними.

Найліпшої, за показниками мутагенної активності була вода з р. Дунай біля м. Кіля (№ 3, питний водозабір). Отримане значення мутагенної активності з перевершенням контролю у 2,45 рази свідчить про помірну мутагенну дію.

Слід зазначити, що попередні дослідження [6] мутагенності води із поверхневих джерел водопостачання на аналогічній тест-системі *Salmonella typhimurium* TA 98 показали або відсутність мутагенної активності (р. Інгулець, Кременчуцьке водосховище), або її наявність у помірній формі (р. Чорна) (табл. 4). У будь-якому випадку порівняння цих результатів із отриманими в даній роботі свідчить про інтенсивне забруднення поверхневих водойм Українського Придунав'я речовинами-ксенобіотиками, які мають потужну мутагенну дію.

Таблиця 4

Показники мутагенності води деяких поверхневих водойм України з використанням мікробної тест-системи *Salmonella typhimurium* TA 98

Зразки води	Мутагенна активність (кількість His ⁺ -ревертантів), відн.од.
Контроль	1,0
р. Інгулець (джерело водопостачання м. Жовті води)	1,0
Кременчуцьке водосховище (джерело водопостачання м. Кременчук)	1,0
р. Чорна, джерело водопостачання м. Севастополь	3,0

ВИСНОВКИ

1. За результатами біотестування зразків води поверхневих водойм Українського Придунав'я встановлено: досліджені зразки викликають різноманітні біологічні відгуки в модельній бактеріальній системі *Salmonella typhimurium* TA 98, що свідчить про різноманіття забруднювачів, які знаходяться у воді.

2. Показано, що відсоток зразків води, які викликали перевищення спонтанного рівню мутагенезу (контрольні показники) більш ніж у 100 разів склав 26,6 %; більш ніж у 50 – 13,3 %; більш ніж у 10 – 20,0 %; менш ніж у 10 – 40,0 %. Тобто, має місце інтенсивне забруднення поверхневих водойм Українського Придунав'я речовинами-ксенобіотиками, які мають потужну мутагенну дію.

4. Зважаючи на персистувальний характер забруднення поверхневих водойм Українського Придунав'я, слід визнати за необхідне продовження досліджень мутагенності води цих водних об'єктів на бактеріальній тест-системі *Salmonella typhimurium* ТА 98.

ЛІТЕРАТУРА

1. Данілишин Б.М., Дмитрієва О.О. Державна цільова екологічна «Програма упорядкування водовідведення в населених пунктах України» як основний документ перспективного розвитку водокористування в країні // Вода і водоочисні технології. -2006.- №3.- С. 17-22.

2. Ковальчук Л.Й., Мокиєнко А.В. Гігієнічна оцінка евтрофікації поверхневих водойм Українського Придунав'я // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т.14, випуск 4(48). – С. 73 – 78.

3. Ковальчук Л.И., Мокиенко А.В., Нестерова Д.А. Гигиеническая оценка цианобактерий озер Украинского Придунавья // Досягнення біології та медицини. – 2014. – №2. – С. 10 – 14.

4. Ames B. N. An improved bacterial test sistem for the detection and classification mutagens and cancerogens / Ames B. N., Lee W., Duurstun E. //Prog. Natl. Acad Sci. USA. — 1970. — Vol. 70, № 7. — P. 782 – 795.

5. Методика комплексной оценки токсичности и мутагенности в бактериальной и водорослевой тест-системах / Т. В. Васильева, Н. Н. Панченко, Н. Ю. Васильева //Интеллектуальные информационно-аналитические системы и комплексы. – Киев: Ин-т кибернетики им. В.М. Глушко НАН Украины, 2000. – С. 78 – 84.

6. Петренко Н. Ф. Наукове обґрунтування комбінованих методів знезараження питної води: автореф. дис. ... д. б. н: 14.02.01 / Н.Ф. Петренко; ДУ „Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва Академії медичних наук України”. – К., 2012. – 34 с.