

виду від загальної біомаси складає 48,12 %. Для р.Тисмениця також характерним є зникнення веснянок та однокоріньків на ділянках біля нафтової свердловини та на відстані 500 м від неї.

#### Висновки

В результаті проведеної роботи по визначенню представників зообентосу малих річок в умовах нафтодобування визначено, що підвищена кількість нафтопродуктів у воді негативно впливає на склад зообентосу рік. Зі збільшенням концентрації нафтопродуктів зникають веснянки та однокоріньківки, які починають знову з'являтися у воді із зменшенням кількості органічного забруднення. Варто зазначити, що нафтове забруднення досліджуваних річок носить локальний характер. Збільшення концентрації нафтопродуктів відбувається ближче до нафтових свердловин, де відмічено значно нижча чисельність, біомаса та видовий склад представників зообентосу. Наявність ідентичних представників зообентосу на контрольній ділянці та в забруднених зонах свідчить про адаптацію деяких видів зообентосу до наявності у воді нафтопродуктів. Припускаємо, що видовий та кількісний склад зообентосу може змінюватися у залежності від періодичності та кількості внесеного токсиканту у води річок (антропогенна складова), а також швидкості течії (природна складова).

#### Література

1. Алекин О.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. – Л.: Гидрометеиздат, 1940. – 267 с.
2. Зеліско Д., Козуб М., Захарова Т. Забруднення водойм Чернівецької області //Матеріали Другої Міжнародної наукової конференції „Молодь у вирішенні регіональних та транскордонних проблем екологічної безпеки. – Чернівці, 2003. – С. 56-60.
3. Клімова Н. Деякі питання методики оцінки стану забруднення ґрунтів унаслідок нафтогазовидобутку // Вісник Львівського університету. Серія географічна. – 2006. – Вип. 33. – С. 144-151.
4. Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. – Л.: Гидрометеиздат, 1989. – 276 с.

*The quantitative and qualitative distribution of zoobentos in small rivers in the main areas of oil manifestation are investigated. Diminishing of specific composition qualitative and biomass of zoobentos depending on the amount of oil in water are registered.*

**Key words:** zoobentos, river.

УДК 576(315.45+356.2/3):574.64(28)

*Майя Верголяс, Тетяна Кучеренко*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТІ РОЗЧИНІВ БЕНЗИДИНУ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОЯДЕРНОГО АНАЛІЗУ НА КЛІТИНАХ РИБ *CARASSIUS AURATUS*

*Досліджено вплив розчинів бензидину на параметри генетичної нестабільності клітин риб за допомогою мікроядерного тесту. Експерименти проводили при інкубації організмів в досліджуваних розчинах та при введенні розчинів бензидину безпосередньо в організм шляхом внутрішньочеревних ін'єкцій. Виявлено більш значну генотоксичну дію бензидину при внутрішньочеревному введенні.*

**Ключові слова:** мікроядра, *Carassius*, гени.

#### Вступ

До складу барвників, які широко використовуються в текстильному, паперовому й шкіряному виробництвах досить часто входить бензидин. У деяких країнах виробництво й використання бензидину обмежене, але цей компонент усе ще знаходять у складі стічних вод – викидів лакофарбових виробництв [5]. Стоки цих підприємств можуть становити небезпеку для біоти. В тесті на *Salmonella* (тест Еймса) було показано мутагенні властивості проб природної води, які містили домішки бензидину [9]. Генотоксичні властивості бензидину були визначені за допомогою тесту на хромосомні аберації [7,10], у і аналізу ДНК адуктів [4].

Нашою лабораторією пропагується використання мікроядерного тесту на клітинах риб для оцінки генотоксичних властивостей речовин. Даний метод є простим в виконанні, експресним, високочутливим та не дорогим по вартості.

Таким чином, мета дослідження полягала у визначенні ефективних концентрацій бензидину для мікроядерного тесту на клітинах риб та у порівнянні ефектів впливу бензидину після інкубації тварин у розчинах і після прямого введення в організм.

#### Матеріали і методи

В експерименті використовували бензидин (виробництва “Fluka”, Німеччина (ч) ТУ 6-09-4221-76). Готовили первинний розчин бензидину концентрацією 800 мг/л. Як розчинник застосовували бідистильовану воду. Робочі розчини бензидину концентрацією 10 мг/л, 20 мг/л, 40 мг/л й 80 мг/л готували на синтетичній прісній воді із середнім ступенем мінералізації 220 мг/л [6]. Концентрації бензидину для ін'єкцій готували в перерахуванні на масу тіла риб, відповідно 10 мг/кг, 20 мг/ кг, 40 мг/кг й 80 мг/кг ваги тіла. Представлені концентрації були відібрані, керуючись результатами досліджень гострої токсичності бензидину на різних видах риб. 10 мг/л, 20 мг/л й 40 мг/л – LC<sub>50</sub> відповідно для райдужної плотви (*Cyprinella lutrensis*), райдужної форелі (*Onkothynchus mykiss*) і плямистого етроплюса (*Jordanella floridae*). Введення бензидину в концентрації 80 мг/кг ваги зубатці (*Ictalurus. sp.*) призводило до прояви генетичної нестабільності [8].

Дослідження впливу бензидину проводили на рибках виду *Carassius auratus*.

Риби втримувались в 100 л акваріумах з постійною температурою (20±2°C) і аерацією. Для дослідження відбирали особин із середньою довжиною 10 см і масою 8 гр. Експеримент проводили за наступною схемою: у всіх риб зрізали облямівку хвостового плавця, потім одну частину риб переносили в досліджувані розчини, другій частині рибам робили внутрішньочеревні ін'єкції стерильних досліджуваних розчинів й поміщали в синтетичну прісну воду. Через 96 год. інкубації у всіх риб відбирали три види тканин: кров із хвостової вени, зябра й регеновану тканину хвостового плавця. Препарати крові готували по методу Al-Sabti K. [1]. Препарати клітин хвостового плавця готували за методикою В.В. Архипчука [3]. Експеримент проводили в двох повторностях, кожного разу для дослідження кожного розчину брали по чотири особини риб.

При збільшенні x1200 підраховували 3000-5000 клітин з кожного препарату, відзначаючи кількість клітин з мікроядрами й подвійними ядрами. Мікроядра реєстрували за умови, що вони однакові за кольором й щільності з основним ядром, лежать в одній площині, але не перекриваються з ним, і розміром не більше 1/3-1/10 розміру основного ядра. Підраховували клітини тільки з неущождженою клітинною і ядерною мембранами.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою стандартного пакету програм Excel (для Windows XP) і STATISTICA '99 Edition Version 5.5 (StatSoft. Inc., 1984-1999).

#### Результати і обговорення

Проведено два доповнюючих одне одного дослідження впливу різних концентрацій бензидина на показники генетичної нестабільності клітин риб: інкубація організмів в досліджуваному розчині та введення досліджуваного розчину безпосередньо в організм шляхом внутрішньочеревних ін'єкцій.

Літературні джерела свідчать про значне збільшення кількості еритроцитів з мікроядрами після внутрішньочеревного введення 10 мг/кг, 40 мг/кг бензидину рибам виду *Cyprinus carpio* [2], але даних про вплив бензидину *in situ* знайти не вдалося.

На рисунках 1, 2 та 3 представлені дані залежності кількості клітин з мікроядрами та подвійними ядрами в різних тканинах риб після впливу розчинів бензидину як середовища й ін'єкцій бензидину. Розчини бензидину в максимальній концентрації 80 мг/л викликали загибель риб.

В клітинах крові в обох експериментальних варіантах спостерігалось дозозалежне підвищення рівня клітин з мікроядрами та подвійними ядрами. В варіанті введення розчину бензидину за допомогою ін'єкцій ці показники зростали значно в більшій мірі. В обох варіантах найбільшою мірою збільшувалась частка клітин з подвійними ядрами.

При впливі досліджуваних розчинів на клітини зябер на відміну від еритроцитів найбільшою мірою збільшувалась кількість клітин з мікроядрами. Відмічено різке зростання кількості клітин з мікроядрами при впливі бензидину в концентрації 20 мг/л, та зниження даного показника при впливі бензидину в концентрації 40 мг/л.

В клітинах хвостового плавця після впливу розчинів бензидину, як після перебування риб в досліджуваних розчинах, так і після їх введення шляхом ін'єкцій, спостерігалось достовірне підвищення кількості клітин з мікроядрами. Частка клітин з подвійними ядрами достовірно збільшувалась тільки при внутрішньочеревному введенні розчину бензидину в концентрації 20мг/кг маси тіла.

Кількість клітин з мікроядрами в тканині хвостового плавця в значно більшій мірі зростала при введенні досліджуваних розчинів шляхом ін'єкцій, до того ж чітко відмічено дозо залежних характер цих змін.

Стосовно того, що при введенні розчинів бензидину внутрішньочеревними ін'єкціями параметри генетичної нестабільності досліджуваних тканин зростали в значніше, ніж при інкубуванні риб в розчинах бензидину, можна зробити припущення, що, потрапляючи в кровоносну систему організму риб, бензидин може міняти структуру, і тим збільшувати генотоксичний ефект у тканинах.

Зменшення кількості клітин хвостового плавця й зябер з мікроядрами й подвійними ядрами при впливі розчинів бензидину в концентрації 40мг/л можна можливо пов'язано з пригніченням проліферативної активності даних тканин в результаті зовнішнього впливу розчинів бензидину.

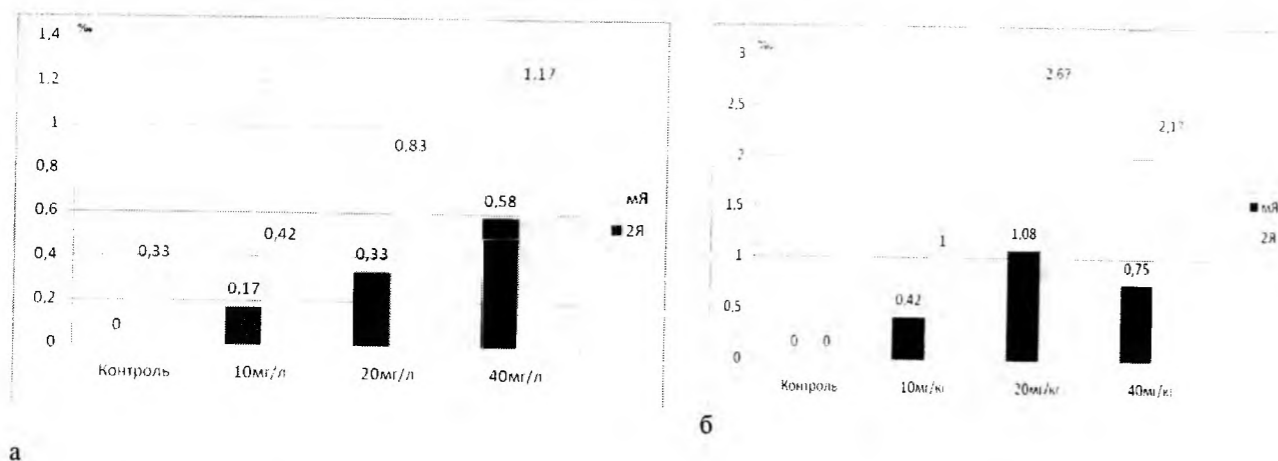


Рисунок 1. Зміна кількості еритроцитів з мікроядрами (мЯ) та подвійними ядрами (2Я) при дії розчинів бензидину: а-при інкубації в досліджуваному розчині, б-при введенні досліджуваних розчинів шляхом ін'єкцій.

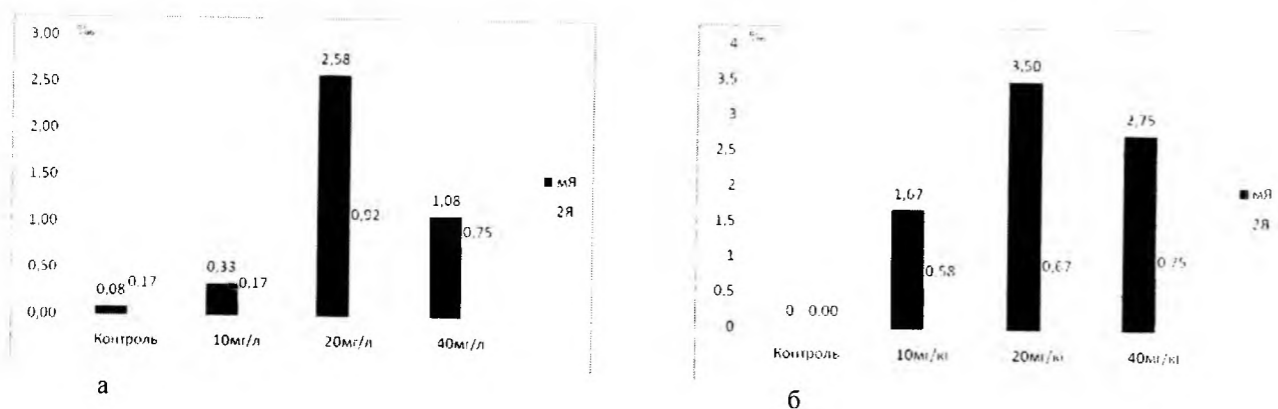


Рисунок 2. Зміна кількості клітин зябер з мікроядрами (мЯ) та подвійними ядрами (2Я) при дії розчинів бензидину: а-при інкубації в досліджуваному розчині, б-при введенні досліджуваних розчинів шляхом ін'єкцій.

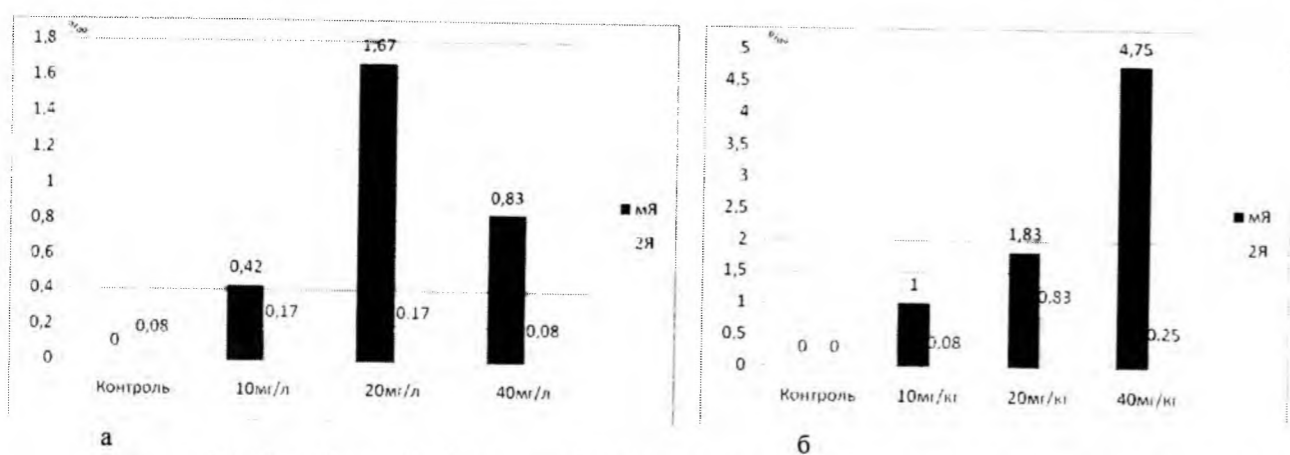


Рисунок 3. Зміна кількості клітин хвостового плавця з мікроядрами (мЯ) та подвійними ядрами (2Я) при дії розчинів бензидину: а-при інкубації в досліджуваному розчині, б-при введенні досліджуваних розчинів шляхом ін'єкцій.

#### Висновки

Розчини бензидину в концентраціях 20 мг/л й 40 мг/л при зовнішньому впливі викликають істотне зростання параметрів генетичної нестабільності в клітинах риб. Внутрішньочеревне введення розчинів бензидину спричинює дозозалежне збільшення кількості клітин з мікроядрами в усіх досліджуваних тканинах.

#### Література

1. Al-Sabti K. Comparative micronucleated erythrocyte cell induction in three cyprinids by five carcinogenic-mutagenic chemicals // Cytobios. - 1986. - V.47. - P. 147-154.
2. Al-Sabti K., Metcalfe C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water // Mutat.Res. - 1995. - V. 343. - P.121-135.
3. Arkhipchuk V.V., Garanko N.N. Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fish fin cells Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2005. - V. 62. - I. 1. - P. 42-52.
4. Martin C.N., Beland F.A., Roth R.W., Kadlubar F.F. Covalent binding of benzidine and N-acetylbenzidine to DNA at the C-8 atom of deoxyguanosine in vivo and in vitro // Cancer Res. - 1982. - V. 42. - I. 7. - P. 2678-86.
5. Mazzo T.M., Saczk A.A., Umbuzeiro G.A., Zannoni M.V.B. Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from textile industry by liquid chromatographic with electrochemical detection // Anal. Lett., in press.
6. Short-Term Methods For Estimating The Chronic Toxicity Of Effluents And Receiving Water To Freshwater Organisms, Third Edition, EPA, 1994.
7. Talaska G., Au W.W., Ward J.B. Jr, Randerath K., Legator M.S. The correlation between DNA adducts and chromosomal aberrations in the target organ of benzidine exposed, partially-hepatectomized mice // Carcinogenesis. - 1987. - V. 8. - I. 12. - P. 1899-1905.
8. Toxicity Studies for Benzidine on All Organism Groups - Toxicology studies from the primary scientific literature on aquatic organisms. PAN Pesticides Database - Chemical Toxicity Studies on Aquatic Organisms // [http://www.pesticideinfo.org/List\\_AquireAll.jsp?Rec\\_Id=AQ790](http://www.pesticideinfo.org/List_AquireAll.jsp?Rec_Id=AQ790)
9. Umbuzeiro G.A., Roubicek D.A., Rech C.M., Sato M.I.Z., Claxton L.D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures // Chemosphere. - 2004. - V. 54. - P. 1589-1597.
10. You Z., Brezzell M.D., Das S.K., Espadas-Torre M.C., Hooberman B.H., Sinsheimer J.E. ortho-Substituent effects on the in vitro and in vivo genotoxicity of benzidine derivatives // Mutat Res. - 1993. - V. 319. - I. 1. - P. 19-30.

*Benzidine genotoxicity was analyzed by micronucleus test in fish. Analysis was realized by incubation of fish in studied solutions and by direct intraperitoneal introduction. Results of the investigation demonstrated higher genotoxicity influence of benzidine by intraperitoneal introduction.*

**Key words:** micronucleus, Carassius, gene.

УДК [574.63:591.524.1] (282.243.6)(292.451/454)

*Сергій Афанасьєв, Олена Летицька, Євген Савченко*

## ОЦІНКА ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ РІЧОК БАСЕЙНУ РІЧКИ БОРЖАВА

Оцінка стану річок басейну Боржави була проведена з використанням біологічних параметрів стану іхтіофауни і макробезхребетних тварин та абіотичними показниками у відповідності до вимог Водної Рамкової Директиви ЄС-2000. Було визначено добрий загальний екологічний статус основних ділянок річок басейну Боржава. На сьогоднішній день річки басейну Боржави постійно піддаються антропогенному тиску людської діяльності, що несе негативний вплив на видове різноманіття населення річок та погіршення їх екологічного стану.

**Ключові слова:** екологія, річка, антропопресинг.

У Закарпатті протікає близько 9426 річок, струмків та струмочків. Чотири річки – Тиса, Боржава, Латориця та Уж – мають довжину понад 100км кожна. Центральну частину Закарпаття займає басейн річки Боржави. Основними притоками якої є річка Іршава, річки Бистра, Бронька, Васькова.

Після прийняття Європейським Союзом Водної Рамкової Директиви (ВРД), в країнах ЄС розпочалася поетапна розробка і впровадження її положень. Це, відповідно, відобразилось на активному використанні систем біологічної оцінки стану водних об'єктів, як основної складової моніторингу поверхневих вод.

Згідно ВРД ЄС- 2000 [1] пріоритетними у визначенні екологічного стану є біологічні параметри. Системи біологічних оцінок зазнали змін і зараз є одним із головних інструментів для визначення не тільки якості води, але і якості водних об'єктів, як середовища існування, а також і загального екологічного стану водойм і водотоків.

Гідробіологічні дослідження річок басейну Боржава були проведені нами влітку 2006-2007рр. Було досліджено сучасний стан іхтіофауни (дозвіл Головривбоду № ДР - 003) та структуру угруповань донних