

---

## БИОТЕСТИРОВАНИЕ РИСА ИЗ ВЬЕТНАМА НА ПРИБОРЕ БиоЛаТ

Е.Г. Черемных, Май Тху Лан

Кафедра биохимии  
Московский государственный университет  
прикладной биотехнологии  
ул. Талалихина, 33, Москва, Россия, 109316

Приведены результаты токсикологической оценки 10 образцов риса из нескольких регионов Вьетнама с разным уровнем загрязнения диоксином, его метаболитами и использования пестицидов методом автоматизированного биотестирования на инфузориях (прибор БиоЛаТ). Получена дифференцированная оценка этих образцов, выявлены районы с неблагоприятной экологической обстановкой.

**Ключевые слова:** рис Вьетнама, биотестирование, прибор БиоЛаТ, диоксин, пестициды, инфузории *Tetrahymena pyriformis*.

Рис для населения Вьетнама является основным продуктом питания. Кроме того, рис экспортируется во многие другие страны, в том числе и Россию. Поэтому очень важно иметь объективную оценку степени безопасности этого продукта, которая может быть получена из анализа современной экологической ситуации во Вьетнаме.

**История вопроса.** Для уничтожения лесов и сельхозугодий в местах концентрации Народной армии Вьетнама вооруженными силами США в 1962—1971 гг. было распылено более 91 тыс. т гербицидного препарата с условным названием «Оранжевый агент». За это время были практически полностью уничтожены или существенно повреждены тропические экосистемы на площади свыше 2,2 млн га, что составляет 6,6% земельного фонда страны и 29,3% всей площади сельскохозяйственных земель во Вьетнаме [1; 2].

В состав «Оранжевого агента» в качестве примеси входил 2,3,7,8-ТХДД. По оценкам экспертов, вместе с «Оранжевым агентом» его было распылено не менее 170 кг, а исследования, выполненные в последние годы, допускают даже и 700 кг [2]. По нашим расчетам, после применения «Оранжевого агента» средняя загрязненность поверхности почв 2,3,7,8-ТХДД достигала 10 мкг на 1 м<sup>2</sup> (из расчета 170 кг ТХДД, распыленного вместе с «Оранжевым агентом») [3]. В организм человека могло попасть в среднем около 15 мкг 2,3,7,8-ТХДД. Это количество многократно превышает все известные стандарты безопасности. В зоне поражения оказались более 4 млн человек [2; 3].

В 2005 г. в дополнение к уже известным механизмам перемещения диоксинов в окружающей среде (ветровой перенос, речные и ливневые стоки) был установлен факт их миграции по почвенному профилю (рис. 1) [4]. Оказалось, что в тропических почвах эти химические вещества могут вертикально и латерально перемещаться вместе с фильтрующейся атмосферной влагой, в результате увеличивается их вынос в русла рек и в морскую акваторию. Так, со временем изменились конфигурации первичных очагов загрязнения и были сформированы вторич-

ные очаги, при этом загрязненными стали не пострадавшие в годы войны экосистемы. Как было показано учеными Тропического центра, с течением времени диоксин трансформировался — в почвах образовались квазиколлоидные, пока малоизученные его формы. Они обладают в десятки раз большей растворимостью в воде [5]. Время попадания диоксинов в море совпало с массовой гибелью коралловых сообществ, заилением дна и системным химическим загрязнением ила и гидробионтов [6].

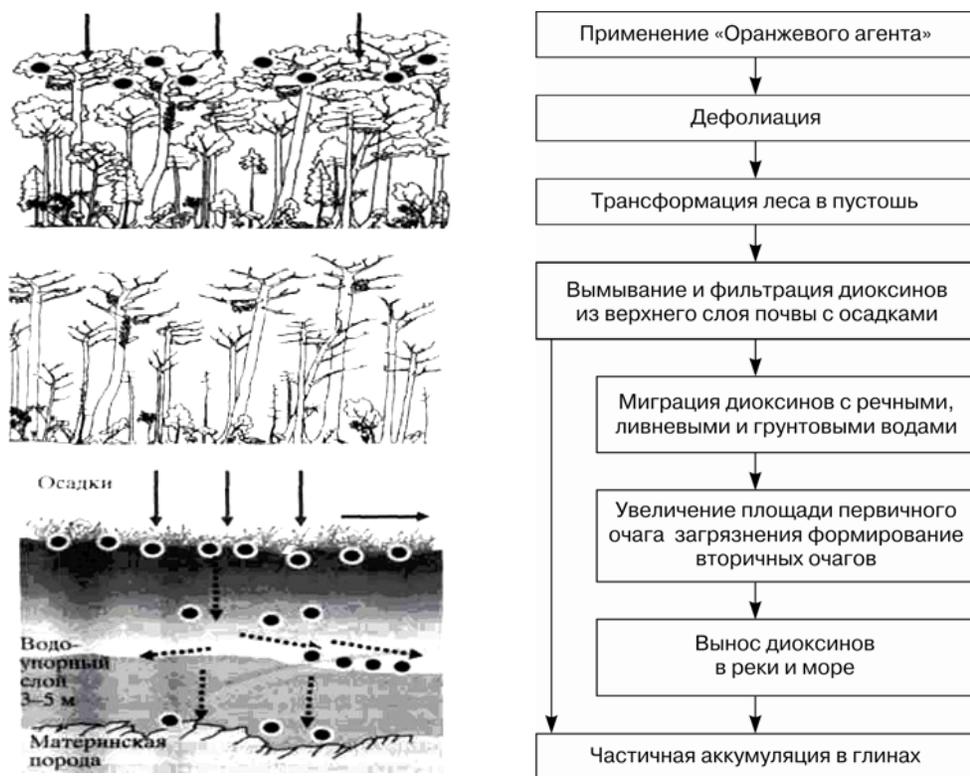


Рис. 1. Схема миграции диоксинов

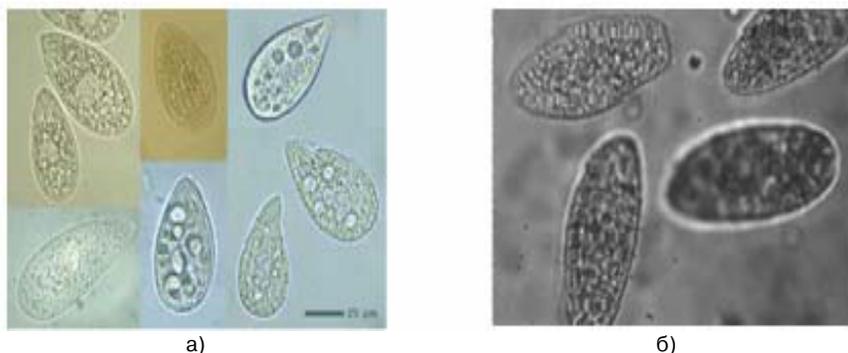
На фоне такого загрязнения диоксином и разнообразными веществами его трансформации при интенсивном сельскохозяйственном производстве необходимо использовать разнообразные пестициды.

Эти ядовитые вещества также вступают в различные физико-химические взаимодействия. Во Вьетнаме при среднегодовых температурах +30 °С и около 200 солнечных дней в году эти процессы проходят очень интенсивно. Но еще больший вклад в преобразование таких компонентов вносят метаболические процессы почвенной биоты.

Как правило, в почвенных микроорганизмах метаболизм диоксина и пестицидов происходит с участием монооксигеназных ферментных систем, в том числе Р-450. В результате происходит увеличение их активности, например, экспрессия Р-450 1A1 может увеличиваться в 100 раз. Аналогично и у насекомых-паразитов, микрогрибов и сорных растений также могут быть индуцированы монооксигеназ-

ные ферментные системы. Получается, что существующие нормы внесения пестицидов оказываются неэффективными, поэтому и дозы внесения приходится увеличивать. Это приводит к новым виткам эскалации войны против природы и, соответственно, здоровья людей.

В связи с возможными разнообразными метаболитами как диоксинов, так и используемых пестицидов на рисовых полях, не представляется возможным оценить реальную картину загрязнений почв и опасности выращиваемой продукции с помощью лишь химико-аналитических методов. Поэтому дополнение к таким исследованиям биотестирования на живых организмах поможет получить более объективную экологическую оценку. Для этой цели нами был использован автоматизированный биотест на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* (рис. 2).



**Рис. 2.** Метод автоматизированного биотестирования на инфузориях *Tetrahymena pyriformis*:

а) фотографии клеток с различных сайтов; б) собственные фотографии с увеличением 40×7

Суть настоящего метода биотестирования состоит в подсчете и сравнении количества живых клеток в начале и в конце экспозиции их в пробе исследуемого объекта. По относительному количеству выживших простейших вычисляется оценка степени токсичности. При продолжении экспозиции до 24 часов и более вычисляется относительный показатель пищевой ценности.

Для оценки сильнодействующих объектов исследования, таких как сыворотка крови или пестициды, существует режим непрерывного подсчета в течение экспозиции.

Подсчет клеток основан на компьютерной обработке изображения лунки с инфузориями. Это изображение поступает в компьютер от видеокамер прибора БиоЛаТ-3 через внешний аналого-цифровой преобразователь. Перемещение планшета осуществляется под управлением микроконтроллера внутри компьютера. Для этого служит второй кабель прибора, подключаемый ко второму порту USB компьютера.

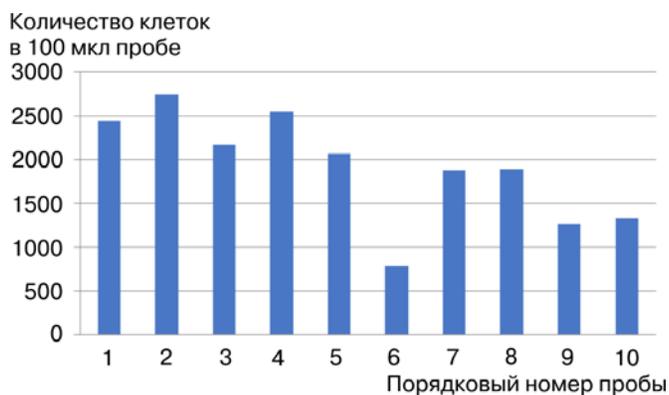
**Объекты исследования.** Из 10 областей Вьетнама (рис. 3) были отобраны образцы риса одного сорта. Для биотестирования готовили «нативную» пробу: вносили 0,1 г размолотого в порошок риса и 4 мл воды, после интенсивной экстракции и пастеризации в пробу петлей над горелкой пересаживали из культивационной пробирки инфузорий *Tetrahymena pyriformis*. Через сутки и далее до 4 суток подсчитывали на приборе количество клеток в 100 мкл пробы.



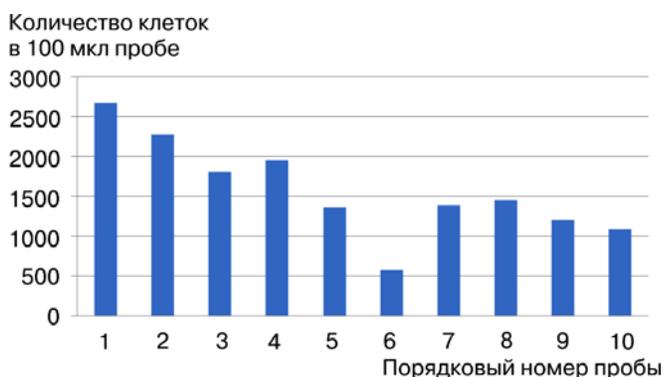
| № пробы | Место                                    |
|---------|--|
| 1       | Куанг Нам — Куе Шон — Куе Фу             |
| 2       | Тхань Хоа — Ха Чунг — Ха Лонг            |
| 3       | Тхань Хоа — Ха Чунг — Ха Занг            |
| 4       | Бинь Зьюнг — Тан Хйеп — Там Ной          |
| 5       | Нинь Тхуан — Нинь Шон — Лыонг Шон        |
| 6       | Да Нанг — Дай Лок — Дай Хынг — Чук Ха    |
| 7       | Бак Лйеу — Фылк Лонг — Фонг Тхак — Таи А |
| 8       | Хуе — Хинг Вьонг                         |
| 9       | Хо Ши Минь — Кы Чи — Фу Чунг — Фук Лой   |
| 10      | Тхань Хоа — Ха Тхай — Ха Чунг            |

Рис. 3. Карта Вьетнама с полями отбора проб риса

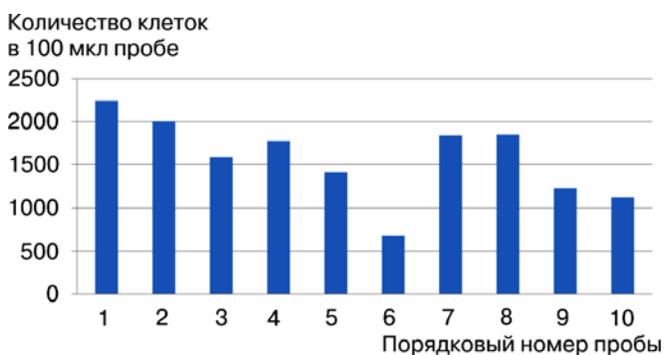
**Результаты исследования.** Описанный опыт повторен трижды. Анализ окончательных результатов (рис. 4) доказывает их достоверность. Небольшие расхождения в абсолютных цифрах количества клеток связаны с неизбежной погрешностью подготовки проб и несколько разным начальным посевом.



Опыт в декабре



Опыт в январе



Опыт в феврале

Рис. 4. Окончательный результат через 4 суток  
(кол-во клеток в 100 мкл пробы)

Самый малый прирост культуры клеток наблюдаем в пробе № 6, самый большой — в пробах № 1 и № 2. Предположительно регион — источник образца № 6 является наиболее загрязненным.

Результаты трех повторностей после усреднения были представлены в виде сравнительной шкалы биологической активности на диаграмме (рис. 5).

Динамика роста культуры инфузорий в разных образцах риса представлена на рис. 6.

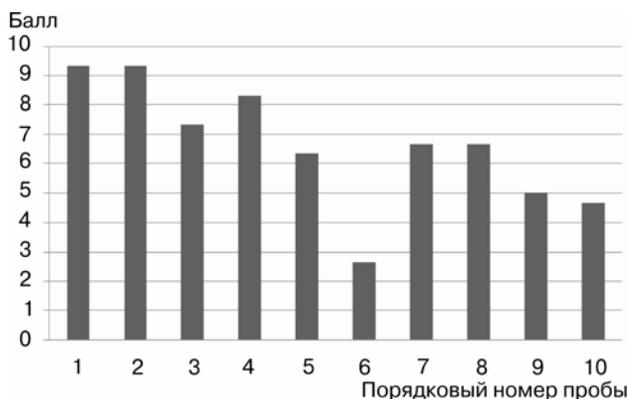


Рис. 5. Шкалы биологической активности

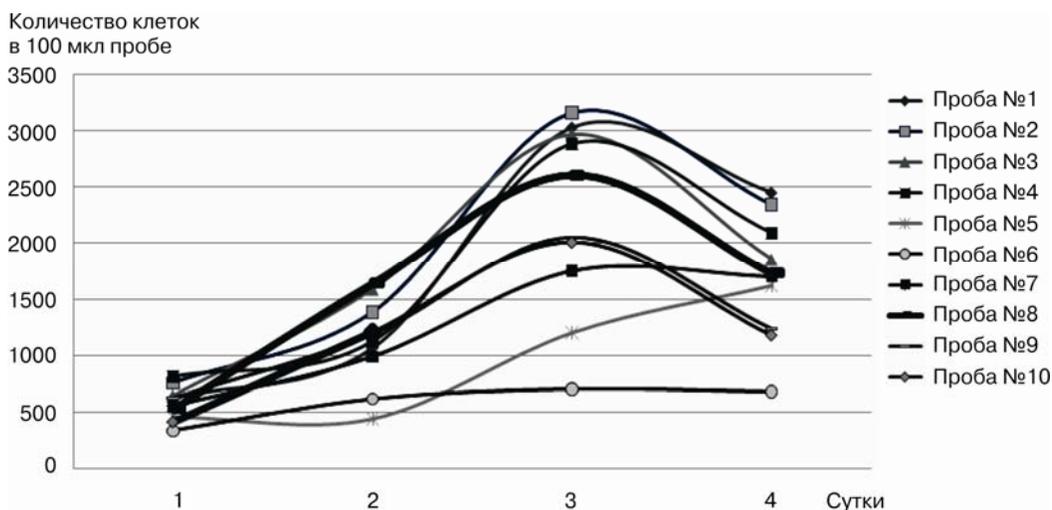


Рис. 6. Изменения числа клеток инфузорий в 100мкл пробы в течение 4 суток

Таким образом, в результате биотестирования 10 образцов вьетнамского риса была получена сравнительная шкала их биологической активности. В соответствии с этой шкалой можно сделать предварительный вывод о степени загрязнения химическими токсикантами полей, на которых выращены эти образцы. Окончательные выводы об экологической ситуации можно будет сделать после биологической и физико-химической оценки почвы этих полей.

### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Диоксины — суперэкоотоксиканты XXI века. Диоксины во Вьетнаме (методические вопросы анализа, уровни загрязненности, распространение и детоксикация). Информ. вып. № 3. — М.: ВИНТИ, 2003.
- [2] Павлов Д.С., Смуров А.В., Ильяхи Л.В. и др. Современное состояние коралловых рифов залива Нячанг (южный Вьетнам) и возможные причины неблагополучия среды обитания склеротид // Биология моря. — 2004. — № 1.

- [3] Павлов Д.С, Клюев НА., Шелепчиков А.А. и др. Вертикальное распределение полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов и дибензофуранов в почвах Вьетнама // Доклады АН. Геохимия. — 2005. — Т. 402. — С. 1—3.
- [4] Шелепчиков А.А. Изомерноспецифический анализ и детоксикация полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов и дибензофуранов в условиях субкритической экстракции: Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. — М.: ГЕОХИ РАН, 2001.
- [5] Herbicides in war: the long-term ecological and human consequences / Ed. A.H. Westing. — London and Philadelphia: Taylor & Francis, 1984.
- [6] Stellman J.M., Stellman S.D., Christians R. et al. The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam // Nature. — 2003. — V. 422. — P. 681—687.

## **BIOASSAY RICE FROM VIETNAM TO DEVICE BIOLAT**

**E.G. Cheremnykh, Mai Thu Lan**

Biochemistry Department  
Moscow State University of Applied Biotechnology  
*Talalikhina str., 33, Moscow, Russia, 109316*

The results of toxicological evaluation of 10 samples of rice from different regions of Vietnam with different contamination of dioxin, its metabolites and using a variety of pesticides by the method of automated evaluation of bioassays for ciliates (device BioLaT) are given. Differentiated evaluation is obtained, fields with adverse environmental conditions are identified.

**Key words:** Rice Vietnam, bioassay, the device BioLaT, dioxin, pesticides, ciliate *Tetrahymena pyriformis*.