



УКРАЇНА

(19) UA (11) 53244 (13) A

(51) 7 G01N33/18, G01N33/12

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ЗАБРУДНЕНOSTІ РИБОГОСПОДАРСЬКИХ ВОДОЙМИЩ

1

2

(21) 2002042964

(22) 12 04 2002

(24) 15 01 2003

(46) 15 01 2003, Бюл. № 1, 2003 р.

(72) Секретарюк Кім Васильович, Лобойко Юрій Васильович

(73) ЛЬВІВСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ІМ. С.З. ГЖИЦЬКОГО

(57) Спосіб визначення ступеня забруднення рибо-

господарських водоймищ шляхом дослідження еритроцитів у мазках крові риб, який відрізняється тим, що в еритроцитах риб визначають наявність мікроядер і при збільшенні їх кількості до 7% досліджуване водоймище вважають таким, що потребує заходів покращення водогосподарства, а при збільшенні їх кількості до 12% і вище стан водойм вважають загрозливим для життя риб

Винахід відноситься до галузі рибництва, зокрема до біологічних способів визначення ступеня забрудненості рибогосподарських водоймищ, і може бути використаний для підвищення продуктивності і якості продукції рибогосподарських водоймищ з різними формами власності

Відомий спосіб дослідження води на вміст в ній розчинених речовин (АС СРСР 7445 394601 №27/48), який полягає у подразненні хемосенсорних полів певних ділянок поверхні риб і вимірювання параметрів біопотенціалу згідно якого роблять висновок про рівень забрудненості води

Відомий також „Спосіб оцінки ступеня токсичності води (АС СРСР №1445397 №33/18), який передбачає внесення в пробу води досліджуваного водного середовища тест-об'єкта - найпростіших *Stentor roesei*, а про ступінь токсичності роблять висновок за їх фізіологічним станом

Відомий „Спосіб визначення біохімічного забруднення води великих рік в зимових умовах АС СРСР №1682924601 №33/00, в якому використовують біологічний об'єкт - мікроводорослі ісландської мелозіри в пробах якої після висушування визначають рівень важких металів і за одержаними результатами роблять висновок про ступінь забрудненості водного середовища

Відомий спосіб визначення токсичного впливу хімічних речовин, що містяться у водному середовищі на культуру планктонних підробіонтів (АС СРСР №1688161 МПК5 G01 №33/18

Всі перераховані вище відомі способи є громіздкими, незручними у виконанні і, головне - мало-ефективними

Найбільш близьким по суті до способу, що за-

являється є спосіб, описаний Житнева Д.Д., Полтавцеві Т.Г., Рудницька О.А. Атлас нормальных и патологических изменений клеток крови рыб - 1989) Спосіб передбачає тест-об'єктом риб, що населяють досліджуване водоймище з крові риб виготовляють мазки, їх фарбують, досліджують під мікроскопом і аналізують

При цьому наявність в досліджуваних мазках крові риб патологічних змін в еритроцитах (гемоліз, плазмоліз, поліхромазія, пойкилоцитоз) свідчать про токсичність водного середовища

Недоліком відомого способу є те, що він не дозволяє виявити мутагенний вплив водного середовища на ранніх етапах токсичної дії, крім того патологічні зміни в еритроцитах можуть відбуватися внаслідок приготування мазків крові

Заявлений спосіб усуває недоліки прототипу і забезпечує оптимальне і швидке виявлення впливу мутагенних факторів на еритроцити крові коропа

В основу винаходу поставлено завдання розробити новий, високоефективний і швидкий спосіб на виявлення наявності мутагенних факторів водного середовища

Технічний результат досягають шляхом визначення в мазках крові риб еритроцитів з мікроядрами. Наявність мікроядер в еритроцитах крові вище ніж 7% свідчить про накопичення у воді мутагенних факторів, які спричиняють порушення обміну речовин у підробіонтах

Оцінка мутагенного впливу полягає у збільшенні кількості мікроядер в еритроцитах риб до 12,8% внаслідок підвищення вмісту у воді біогенних елементів, зокрема, амонійного азоту, нітритів,

(13) A

(11) 53244

(19) UA

нтратів. В основі формування мікроядер можуть лежати різні молекулярні механізми, які мають загальне морфологічне виявлення, вони можуть утворюватися з цілих хромосом, а також з їх фрагментів, не включених в дочірні ядра під час мітозу, при багатополісному мітозі, якщо ядерний матеріал нерівномірно розподілюється між дочірніми клітинами. У виявленні в еритроцитах крові мікроядер в кількості від 7‰ і більше, необхідно запобігти нагромадженню у воді мутагенних факторів, зокрема покращити водо- та газообмінні стави. При підвищенні кількості мікроядер до 12‰, риба погано бере корм, а отже знижується рибопродуктивність ставів.

Відомо (Китнева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницька О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб), - технічне рішення, яке містить найбільшу кількість ознак, спільних з заявленим способом.

(Ступінь забруднення рибогосподарських водоймищ визначають шляхом дослідження мазків еритроцитів крові риб), однак наявність зазначених, спільних із прототипом ознак є недостатня для отримання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб.

Ознаки, які відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату використання для визначення ступеня забруднення рибогосподарських водоймищ кількості мікроядер в еритроцитах риб з досліджуваного водоймища і при збільшенні їх до 7‰ досліджуване водоймище вважають таким, що потребує заходів покращення водо- і газообміну, а при зби-

льшенні їх до 12‰ і вище - стан водоймищ вважають загрозованим для життя риби.

Заявлений винахід належить до галузі рибництва, зокрема до біологічних способів визначення ступеня забрудненості рибогосподарських водоймищ і може бути використаний для рибогосподарських підприємств з різними формами власності.

Спосіб здійснюють наступним чином.

У водному середовищі, яке піддається оцінці виволокують 6-9 екземплярів риб. Пастерівську піпетку промивають розчином гепарину, відбирають кров і краплю наносять на предметне скельце, шпательним скельцем виготовляють мазки, висушують і фіксують 3-5хв в метанолі. Фарбують барвником Гімза-Романовського. Під збільшенням мікроскопа х1000 проводять підрахунок мікроядер в одній тисячі еритроцитів. При виявленні мікроядер до 7‰ роблять висновок, що у воді наявні токсичні речовини, проте в малих кількостях. При виявленні мікроядер в кількості 12‰ вважаємо, що вода не придатна для життя риб.

Приклади конкретного виконання.

Ефективність заявленого способу і переваги його перед прототипом підтверджено прикладами конкретного виконання.

Дослідження проводили у ставах двох дослідних господарств „Великий Любін” та „Стрий”. В ставку господарства „Великий Любін” гідрохімічні показники не перевищували нормативних, проте у воді дослідного ставу господарства „Стрий” дані показники в значній мірі перевищували нормативи (табл. 1).

Таблиця 1

Показники	ГДК ОСТ 15 372-37	Великий Любін	Стрий
Амонійний азот мг N/л	до 1,0	0,02	4,8
Нітрити мг N/л	до 0,1	0,064	0,3
Нітрати мг N/л	до 2,0	0,3	10,5

В еритроцитах крові риб виволених в ставі господарства Великий Любін спостерігалася утворення мікроядер в кількості $7,3 \pm 0,51\%$. Будь-яких інших змін в еритроцитах риб не спостерігалося.

При проведенні мікроядерного тесту в риб господарства „Стрий” встановлено, що вміст мікро-

ядер $12,8 \pm 0,31\%$, що на 43% перевищувало дане значення в еритроцитах крові риб виволених в ставі господарства „Великий Любін”.

Водночас в еритроцитах риб господарства „Стрий” спостерігалася наявність патологічне змінених еритроцитів, а саме гемолиз та пойкилоцитоз у 10% еритроцитів.