

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ  
Завідувач випускової кафедри  
\_\_\_\_\_ М.М. Барановський  
«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

## ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА  
ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»

**Тема: «Моніторинг водних екосистем за цитогенетичними показниками»**

Виконавець: студентка ЕБ-206М групи \_\_\_\_\_ Чернявська О. М.  
Керівник: к.с-г. н., доцент кафедри біотехнології \_\_\_\_\_ Глушко Ю.М.  
Консультант розділу «Охорона праці»: \_\_\_\_\_ Павлиш В. Д.  
Консультант розділу  
«Охорона навколишнього середовища»: \_\_\_\_\_ Рябчевський О.В.  
Нормоконтролер: \_\_\_\_\_ Дrajнкіова А. В.

КИЇВ 2020

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Барановський М.М. \_\_\_\_\_

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 р.

## ЗАВДАННЯ

**на виконання дипломної роботи**

**Чернявської Ольги Миколаївни**

1. Тема дипломної роботи «Моніторинг водних екосистем за цитогенетичними показниками» затверджена наказом ректора від «15» вересня 2020 р. №16571/ст.
2. Термін виконання роботи: з 5 жовтня 2020 року по 31 грудня 2020.
3. Вихідні дані роботи: : експериментальні дані зроблені на Державному підприємстві «Дослідне господарство Львівської дослідної станції» Інституту рибного господарства Національної академії аграрних наук України», с. Великий Любінь, Львівська обл.; зразки периферійної крові коропів.
4. Зміст пояснювальної записки: РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ; РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ; РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ; РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ; РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА; ВИСНОВКИ; СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.
5. Перелік обов'язкового ілюстративного матеріалу: 5 таблиць, 16 рисунків.

## 6. Календарний план-графік

| № | Завдання  | Термін виконання    | Підпис керівника |
|---|---|---------------------|------------------|
| 1 | Пошук літературних джерел за темою дипломної роботи | 10.10. – 25.10.2020 |                  |
| 2 | Оброблення знайденого літературного матеріалу       | 25.10. – 30.11.2020 |                  |
| 3 | Написання основної частини                          | 30.11 – 04.12.2020  |                  |
| 4 | Написання висновків                                 | 05.12.2020          |                  |
| 5 | Оформлення дипломної роботи                         | 06.12. – 09.12.2020 |                  |
| 6 | Перевірка дипломної роботи керівником               | 10.12.2020          |                  |
| 7 | Виправлення виявлених недоліків                     | 11.12. – 13.12.2020 |                  |
| 8 | Захист дипломної роботи                             | 22.12.2020          |                  |

## 7. Консультанти з окремих розділів роботи

| Розділ                           | Консультант   | Підпис, дата   |                  |
|----------------------------------|---|----------------|------------------|
|                                  |   | Завдання видав | Завдання прийняв |
| Охорона праці                    | Старший викладач<br>Павлиш В.Д.                       |                |                  |
| Охорона навколишнього середовища | к.т.н, доцент<br>кафедри екології<br>Рябчевський О.В. |                |                  |

8. Дата видачі завдання: « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_ р.

Керівник дипломної роботи: \_\_\_\_\_ Глушко Ю.М.  
(підпис керівника)

Завдання прийняв до виконання: \_\_\_\_\_ Чернявська О.М.  
(підпис випускника)

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Моніторинг водних екосистем за цитогенетичними показниками»: 84 с., 16 рис., 5 табл., 77 літературних джерела.

**Об'єкт дослідження** – динаміка цитогенетичних показників у представників корошових риб.

**Предмет дослідження** – цитогенетичні показники крові люблінських корошових рамчастої та лускатої порід, строкатого товстолобика.

**Мета роботи** – моніторинг водних екосистем за цитогенетичними показниками об'єктів прісноводної аквакультури.

**Методи дослідження:** цитогенетичні методи (мікроядерний тест, аналіз частоти апоптозів та амітозів) та статистичні методи обробки отриманих результатів.

Вперше науково обґрунтовано доцільність використання результатів комплексу цитогенетичних показників (результати мікроядерного тесту та частот апоптозу та амітозу). В моніторингових дослідженнях для оцінки водних екосистем було використано комплекс цитогенетичних показників на представниках корошових риб.

МОНІТОРИНГ, ТОКСИЧНІСТЬ, МІКРОЯДЕРНИЙ ТЕСТ, ВОДНА ЕКОСИСТЕМА, АПОПТОЗ, БІОІНДИКАЦІЯ

## ЗМІСТ

|  |    |
|--|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЕНЬ.....   | 7  |
| ВСТУП.....   | 8  |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....  | 10 |
| 1.1. Показники і нормативи якості природних вод.....   | 10 |
| 1.1.1. Рибогосподарські норми якості вод.....  | 13 |
| 1.2. Моніторинг водних екосистем.....  | 14 |
| 1.2.1. Біоіндикація.....   | 15 |
| 1.3. Риби як індикатори стану гідроекосистем.....  | 15 |
| 1.3.1. Цитогенетичний гомеостаз іхтіопопуляцій як показник наявності токсиних забруднень гідроекосистем..... | 18 |
| 1.4. Токсичне забруднення водного середовища.....  | 19 |
| 1.4.1. Рівні реагування біоти водою на токсичне забруднення.....   | 21 |
| 1.4.2. Реагування на токсичне забруднення тваринних організмів водою.....                                    | 25 |
| 1.4.3. Шляхи надходження отрут в організми гідробіонти.....  | 26 |
| 1.4.4. Механізми токсичної дії отрут в організмах гідробіонтів.....  | 33 |
| 1.4.5. Біологічна акумуляція токсикантів у водних екосистемах.....   | 35 |
| 1.5. Цитогенетичні показники.....  | 37 |
| 1.5.1. Мікроядерний тест.....  | 37 |
| 1.5.2. Апоптоз.....  | 40 |
| 1.5.3. Амітоз.....   | 41 |
| 1.6. Висновки до розділу.....  | 41 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....  | 43 |
| 2.1. Матеріали та місце відбору проб для дослідження.....  | 43 |
| 2.2. Порядок проведення мікроядерного тесту периферійної крові.....  | 43 |
| 2.3. Висновки до розділу.....  | 46 |
| РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....  | 47 |
| 3.1. Характеристика досліджуваної водної екосистеми.....   | 47 |
| 3.2. Результати мікроскопування мазків крові.....  | 49 |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.3. Визначення частоти зустрічальності цитогенетичних аномалій у клітинах периферичної крові коропових риб...                              | 49        |
| 3.4. Висновки до розділу.....   | 58        |
| <b>РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ.....</b>   | <b>59</b> |
| 4.1. Небезпечні та шкідливі фактори при роботі у лабораторії.....   | 59        |
| 4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при роботі у лабораторії..... | 60        |
| 4.2.1. Розрахунок освітлення у лабораторії.....   | 63        |
| 4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки при роботі у лабораторії.....   | 65        |
| 4.4. Висновки до розділу.....   | 67        |
| <b>РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА.....</b>  | <b>68</b> |
| 5.1. Моніторинг стану водних екосистем з використанням сучасних цифрових та інформаційних технологій.....                                   | 68        |
| 5.2. Висновки до розділу.....   | 76        |
| <b>ВИСНОВКИ.....</b>  | <b>77</b> |
| <b>СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ...78</b>   |           |

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ**

ГДК – гранично допустима концентрація

МЯ – мікроядра

ЕМЯ – еритроцити з мікроядрами

ДЛ – двоядерні лейкоцити

ЛМЯ – одноядерні лейкоцити з мікроядрами

АП – апоптозні клітини

АМ – амітозні еритроцити

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Розвиток методів біологічного моніторингу з використання риб дає можливість перевірити ступінь забруднення водойми і дати швидко відповідь про стан життєдіяльності тварин при низьких концентраціях мутагенів прямої дії. Розробка методів генетичного моніторингу племінних ресурсів коропа дає можливість оцінити дію генотоксичних чинників навколишнього середовища на їх генетичну структуру.

Знизити негативну дію таких чинників можливо шляхом впровадження в рибоводну практику експрес-методів оцінки і контролю стабільності генетичного апарату риб залежно від їх породної приналежності, вікової категорії, а також від екологічних умов розведення. Для оцінки рівня дестабілізації хромосомного апарату риб використовують мікроядерний тест в еритроцитах і лімфоцитах периферичної крові. Переваги мікроядерного тесту для скринінгу мутагенних ефектів водного середовища були вивчені на наступних гемопоетичних системах риб: периферійна кров, зяброві дуги, селезінка, печінка, спинний мозок, тимус.

**Метою роботи** був моніторинг водних екосистем за цитогенетичними показниками об'єктів прісноводної аквакультури.

### **Завдання дипломної роботи:**

1. Провести теоретичне обґрунтування застосування цитогенетичних методів для моніторингу водних екосистем;
2. Виконати цитогенетичні дослідження в клітинах периферійної крові люблінського лускатого та рамчастого коропів;
3. Виконати цитогенетичні дослідження в клітинах периферійної крові строкатого товстолобика різних рибогосподарств;
4. Провести порівняльний аналіз сезонної динаміки виникнення цитогенетичних порушень люблінських коропів та гідрохімічного стану водойм.

**Об'єкт дослідження** – динаміка цитогенетичних показників у представників коропових риб.



**Предмет дослідження** – цитогенетичні показники крові люблінського лускатого і рамчастого коропа та строкатого товстолюбика.

**Методи дослідження:** цитогенетичні методи (мікроядерний тест, аналіз частоти апоптозів та амітозів) та статистичні методи обробки отриманих результатів.

**Наукова новизна дипломної роботи:** Вперше науково обґрунтовано доцільність використання результатів комплексу цитогенетичних показників (результати мікроядерного тесту та частот апоптозу та амітозу). В моніторингових дослідженнях для оцінки водних екосистем було використано комплекс цитогенетичних показників на представниках коропових риб.

**Практичне значення отриманих результатів.** Рекомендовано використання комплексу мікроядерного тесту, аналізу частот апоптозу та амітозу, як показників генотоксичних ефектів ендогенних та екзогенних водних екосистем.

# РОЗДІЛ 1

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Показники і нормативи якості природних вод

Якість природних вод (властивості та склад у цілому) встановлюється показниками. Ці показники можуть бути як одним, так і цілим набором.

Сукупність показників за їх особливостями можна розділити на різні групи. За характеристиками показників вони можуть бути: загальними та конкретними; фізичні, хімічні та біологічні; прості, групові та складні [1].

За призначенням показники поділяються на основні та додаткові, граничні (нормовані) та репрезентативні [1].

Показники також поділяються залежно від того, як вони можуть характеризувати воду на кількісні, якісні та змішані.

Кількісні показники (абсолютні та відносні, розмірні та безрозмірні) чисельно характеризують склад та властивості води [2]. Якісні показники - це словесна характеристика природних вод (за токсичністю води вони можуть бути оліго-, мезо- або політоксичними) [3]. Змішані показники мають словесні та числові характеристики («прісною» є вода з мінералізацією до 1 г / дм<sup>3</sup>) [2].

Загальні показники характерні для всіх водних об'єктів. Деякі показники виокремлено окремо у санітарних та рибних стандартах. Перелік загальних вимог до складу та властивостей води водойм рибогосподарського визнання включає такі показники: зважені речовини, плаваючі домішки, кольори, запахи, ароматизатори, температура, рН, мінералізація, розчинений кисень, БСК<sub>повн</sub>, хімічні речовини, патогени [4].

Конкретні показники зумовлені місцевими природними умовами, а також особливостями антропогенного впливу на водний об'єкт (феноли, нафтопродукти, важкі метали, пестициди, поверхнево-активні речовини тощо). Переліки санітарно-

гігієнічних та рибних граничних концентрацій включають деякі загальні та всі конкретні показники [5].

Колір (колір) води визначається вмістом органічних (забарвлених) сполук [3].

Запах води створюється специфічними речовинами, які потрапляють у воду в результаті життя водних організмів, розкладання органічних речовин, хімічної взаємодії компонентів, що знаходяться у воді, та з внутрішніх джерел [4].

У водних об'єктах температура є результатом одночасної дії сонячного випромінювання, теплообміну з атмосферою, передачі тепла струмами, перемішування водних мас та надходження нагрітої води із зовнішнього джерела [5].

Прозорість води залежить від ступеня розсіювання сонячного світла у воді речовинами органічного та мінерального походження, які перебувають у воді у зваженому та колоїдному стані [6].

Електропровідність - це числовий вираз здатності водного розчину проводити електричний струм [7].

Природні води - це суміш розчинів електролітів. Мінеральна частина розчинів складається з іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . Вони визначають електропровідність природних вод [5].

Окисно-відновний потенціал - це міра хімічної активності елементів або їх сполук при зворотних хімічних процесах, пов'язаних із зміною заряду іонів у розчинах [4].

Біологічні показники якості води характеризують кількість живих організмів у воді, а також загальний стан води. Ці показники є бактеріологічними та гідробіологічними [1].

Бактеріологічні показники характеризують забруднення води патогенними мікроорганізмами [7].

Гідробіологічні показники дозволяють оцінювати якість води за кількістю окремих видів водних організмів. Ці показники є найбільш чутливими [8].

Хімічні показники характеризують склад природних вод. Вони можуть бути загальними та конкретними [1].

Суспендовані речовини впливають на глибину проникнення сонячного світла, погіршують активність гідробіонтів, призводять до замулення водойм, викликаючи їх екологічне старіння (евтрофікацію) [8].

У природних водах концентрація іонів водню залежить головним чином від співвідношення концентрації вугільної кислоти та її іонів. рН залежить від розвитку водних рослин, характеру виробничих процесів [9].

Основними джерелами кисню у водних об'єктах є газообмін з атмосферою, фотосинтез, а також дощова та тала вода, які, як правило, перенасичені киснем. Основне споживання розчиненого кисню відбувається в процесі дихання водних організмів та окислення органічної речовини мікроорганізмами [9].

Біохімічна потреба в кисні (БПК) визначається як кількість кисню, споживаного мікроорганізмами при окисленні органічної речовини, що міститься в одиниці об'єму води протягом певного періоду часу [10].

Хімічна потреба в кисні (ХСК). ХСК визначається як кількість хімічного окислювача у перерахунку на кисень, необхідний для окислення органічних та мінеральних речовин, що містяться в одиниці об'єму води [10].

Азот можна знайти в природних водах у вигляді вільних молекул  $N_2$  та різних сполук у розчиненому, колоїдному або зваженому стані. Високий вміст азоту прискорює процеси евтрофікації водойм [9].

Фосфор у вільному стані в природних умовах не зустрічається. У природних водах фосфор знаходиться у формі органічних та неорганічних сполук. Основна маса фосфору суспендована. Вміст фосфору впливає на характер виробничих процесів у водних об'єктах [9].

До найпоширеніших специфічних хімічних показників якості води належать: феноли ( $C_6H_5OH$ ), нафтопродукти (NP), поверхнево-активні речовини (поверхнево-активні речовини), пестициди, важкі метали [11].

Прості показники характеризують властивість водного середовища або кількість певної речовини або живих організмів одного виду в ньому [12].

Групові показники характеризують вміст у водному середовищі групи речовин або живих організмів, об'єднаних певною ознакою [10].

Складні показники характеризують стан водного середовища в цілому з урахуванням усіх його властивостей і всього складу [2].

Обмежувальні показники - це всі показники, що визначають якість води, тобто це всі речовини, для яких визначено граничні концентрації. Граничні показники встановлюються для конкретного виду водокористування, їх перелік міститься у правилах [11].

Стандарти природних показників якості води. ГДК забруднюючих речовин виконують важливу функцію стандарту якості води, яка повинна забезпечувати здоров'я людей та інших живих організмів (водних організмів), а також регулювати скидання забруднюючих речовин у водне середовище [12].

Концепція ГДК базується на концепції порогу дії хімічних речовин. Згідно з цією концепцією, для кожної речовини, яка спричиняє певні несприятливі зміни в організмі, існують і можуть бути знайдені концентрації, при яких зміни навіть найбільш чутливих показників стану (функції) організму будуть мінімальними (граничними). При менших концентраціях речовина не чинить шкідливого впливу, і її присутність у водному середовищі в кількості, що не перевищує цих концентрацій, можна вважати безпечною [12].

#### 1.1.1. Рибогосподарські норми якості вод

Рибогосподарське водокористування включає використання водних об'єктів для проживання, розмноження та міграції риб та інших водних організмів [4].

Рибогосподарські водойми можуть бути трьох категорій:

- до найвищої категорії належать місця розташування нерестовищ, масового годування та зимівлі як особливо цінних видів риб та інших водних організмів, а також водойм для штучного розведення риб та інших водних організмів;

- до першої категорії належать водні об'єкти, які використовуються для збереження та відтворення цінних видів риб з високою чутливістю до вмісту кисню;

- до другої категорії належать водні об'єкти, що використовуються для інших рибогосподарських цілей [9].

Норми якості води водних об'єктів включають: загальні вимоги до складу та властивостей води водних об'єктів, що використовуються для розглянутих видів водокористування; перелік гранично допустимих концентрацій речовин у воді, що використовуються для рибогосподарських цілей [11].

У списку гранично допустимих граничних концентрацій речовини поділяються на п'ять груп відповідно до ЛОШ: у перших трьох групах речовини поєднуються відповідно до тих самих ЛОШ, що і в переліку санітарно-гігієнічних гранично допустимих концентрацій; четверту групу складають речовини з токсикологічними ЛОШ; п'ятий - з рибогосподарською ЛОШ [9].

При оцінці якості води значення показників (виміряні або розраховані) порівнюються зі стандартами.

Відповідно до риболовецьких норм, усі речовини з однаковим ЛОШ мають загальну дію.

Показники, які нормалізуються без ЛОШ, не мають ефекту підсумовування.

Якщо вимога норм не виконується хоча б одним із показників, водний об'єкт або його площа вважається забрудненою [8].

У разі рибогосподарського використання водного об'єкта норми якості води повинні дотримуватися у всій водоймі, починаючи з контрольної зони, яка в кожному випадку визначається органами охорони навколишнього природного середовища України, але не далі 500 м від місце скидання стічних вод [4].

Якщо природні властивості та склад води не відповідають нормам водокористування, то ці природні властивості та склад води повинні зберігатися в місцях водокористування. Оцінку якості води зручно проводити в табличній формі.

## **1.2. Моніторинг водних екосистем**

Моніторинг - це система постійного спостереження явищ і процесів, що відбуваються в навколишньому середовищі [].

Існує три типи моніторингу:

- фоновий (передбачає систематичні стаціонарні вимірювання, що проводяться за єдиною програмою, стан атмосфери, ґрунту, природних вод та особливості земної поверхні);
- біологічний (орієнтований на систематичну оцінку стану видів рослин і тварин);
- господарський (проводиться для оцінки діяльності окремих сільськогосподарських або промислових підприємств).

### 1.2.1. Біоіндикація

Біомоніторинг або біоіндикація є особливою різновидністю моніторингу.

Біоіндикація – це метод виявлення і оцінки впливу абіотичних і біотичних факторів на живі організми за допомогою біологічних систем, виявлення і визначення антропогенних навантажень за реакціями на них живих організмів і їх спільнот. Це дослідження групи особин одного виду або біотичних спільнот за наявності, станом та поведінкою яких можна зробити висновки про зміни в середовищі, в тому числі про наявність та концентрацію забруднювачів.

Цей метод дедалі поширюється, оскільки має такі переваги:

- вимірювання сумарного ефекту зовнішнього впливу;
- вивчення впливу забруднення на рослини і тварин;
- визначення впливу у просторі й часі;
- можливість застосовувати профілактичні засоби.

### 1.3. Риби як індикатори стану гідроекосистем

На відміну від звичних методів біоіндикації, згідно з якими якість поверхневих вод експертно оцінюється у балах за сумою ознак порушень у підсистемах, у рамках концепції «здоров'я» екосистем обґрунтовуються кількісно змінні інформативні критерії порушень у біологічних системах, а також інтегральні кількісні значення дози впливу, які відображають наслідки комплексного

забруднення вод і ті умови водойм, на фоні яких діють токсичні елементи та сполуки [13].

Подібна інтегральна система критеріальної оцінки якості вод і здоров'я гідроекосистем повинна відповідати таким вимогам: відображувати специфіку забруднення, враховувати кількість найчутливіших індикаторів організменого, популяційного та екосистемного рівнів, враховувати функціональний резерв екосистеми витримувати стрес, зберігати свою структуру, а також відображувати здатність до відновлення системи після пертурбацій [14].

Не існує єдиного універсального критерію відносно оцінок усіх можливих сценаріїв змін стану гідроекосистем. Наприклад, під час оцінювання евтрофування водойм найчіткішу картину формують зміни фітопланктонних угруповань, закислення вод – зообентосу, токсичного забруднення – порушення в організмі риби [12].

Але незмінним залишається той факт, що відобразити «здоров'я» гідроекосистем за дії забруднень та їх комбінованих ефектів, передусім, дозволяє з'ясування резистентності водної та навколоводної флори та фауни [13].

Успішне використання риби як індикаторів стану гідроекосистем [14] зумовлене такими причинами:

1) риби мають тривалий життєвий цикл і через це здатні накопичувати шкідливі речовини протягом значного періоду часу;

2) різні види риби мають неоднакову чутливість до антропогенних токсикантів і тому можуть використовуватись як біоіндикатори різного ступеня антропогенного забруднення водойм;

3) риби мають неоднакову чутливість на різних етапах онтогенезу, що розширює можливості використання цих тварин для біоіндикації.

При цьому розрізняють високочутливі види риби (лососеві (форель, голец), сигові (сиг звичайний, пелядь), судак, пічкур), середньочутливі (гольян, лящ, окунь) та слабкочутливі (головень, сазан, карась) [15].

Нині в Україні відмічається зацікавленість дослідників у вивченні різноманітних підходів до використання риби як індикаторів стану гідроекосистем.



Разом із тим, окремі автори звертають увагу на певні складності цього процесу [13], які зводяться до проблеми вибору «еталона» для порівняння результатів оцінювання та проблеми визначення оптимального рівня антропогенного перетворення гідроекосистем.

Аналізуючи існуючі підходи та методи, автор пропонує п'ять показників популяційного та ценотичного рівнів іхтіофауни, що дозволять судити про різні зміни у водоймі:

- 1) розмірне різноманіття особин популяції;
- 2) розмірно-масова структура популяції;
- 3) співвідношення статей;
- 4) індивідуальна морфологічна мінливість особин та кількість фенотипів;
- 5) видове та таксономічне різноманіття.

У рамках екосистемного інтегрованого підходу, в оцінюванні екологічних наслідків забруднення вод перевага віддається дослідженню риб на рівні організму. Такі світові системи моніторингу як Environmental Monitoring and Assessment Program (EMAP), European Environment Agency (EEA), Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality (ANZECC and ARMCANZ), Environment Canada (EC), та інші за тривалої дії забруднень води, особливо токсичного характеру, використовують відгуки певних функціональних систем організму риб (у відповідних умовах за певний проміжок часу) [13].

З огляду на наведені факти, дослідники продовжують вдосконалювати підходи системних досліджень іхтіопопуляцій на рівні окремих особин і пропонують інформативні засоби контролю гідроекосистем [12].

В умовах інтенсивного забруднення стійкість організму риб визначалась здатністю ефективно метаболізувати та виводити токсичні речовини, які надходили до їх організму [11]. Патологічні зміни в тілі риб дозволили визначити ступінь токсичності водного середовища, оцінити кумулятивні ефекти, а також сформулювати уявлення про потенційну небезпеку групи речовин, що надходять до водойм і для людини [13].

Перерозподіл токсичних речовин між тканинами риб використовується для оцінки термінів, які мали місце після забруднення водойми [11]. Велика група авторів [12] запропонувала дворівневий методичний підхід, який, на їх погляд, дозволяє поєднувати в оптимальному співвідношенні можливість отримання масового іхтіологічного матеріалу та встановлення точного діагнозу. Вони відокремили перший – макрорівень обстеження індивідумів, за яким захворювання виявляються на основі масового візуального обстеження організмів, а попередній діагноз встановлюється за клінічними та патологоанатомічними симптомами отруєнь; другий – макрорівень діагностики включає гематологічні, гістологічні, біохімічні, інструментальні фізіологічні та інші методи.

1.3.1. Цитогенетичний гомеостаз іхтіопопуляцій як показник наявності токсичних забруднень гідроекосистем

Важлива складова гідроекологічних досліджень – моніторинг генотоксичного забруднення водойм, оскільки окремі забруднювачі можуть бути небезпечні в надзвичайно низьких концентраціях, проявляти синергізм і адитивність, виступати як мутагени або промутагени і, при цьому, не фіксуються звичайним хімічним аналізом води. Перші дослідження мутаційних спектрів токсикантів відносять до початку ХХ століття та пов'язують із дослідженнями соматичних клітин: генетичні зміни у соматичних клітинах відображають порушення гомеостазу розвитку та ефективність реакції імунної відповіді організму [15].

За нормальних умов, більшість генетичних порушень елімінується, тому наявність таких порушень – індикатор стресу, який і спричинює появу аномальних клітин та зниження імунного статусу організму. Цитогенетичні порушення діагностуються на хромосомному рівні за допомогою таких високочутливих методів як облік сестринських хроматинових обмінів та хромосомних аберацій, а також мікроядерного тестування. Нині у світовій практиці зазначені підходи широко застосовуються для оцінки «здоров'я» гідроекосистем, причому аналізуються порушення як у клітинах мікроорганізмів [14], так і у соматичних клітинах

організмів більш високих трофічних ланцюгів, тобто представників іхтіофауни гідроекосистем [15].

За відсутності лабораторних умов, у певних випадках для швидкої діагностики генетичної сприйнятливості зручний експрес-метод із використанням мікроядерного тесту. Перевага цього методу – у простоті відбору матеріалу у польових умовах, порівняно незначних часових і матеріальних затратах і можливості опрацювати достатньо великий масив даних [16].

Для досліджень різних видів риб у природних умовах найзручнішим виявляється мікроядерний тест у клітинах периферійної крові, який виявляє амітоз еритроцитів – один із патоморфологічних станів клітин червоної крові, у результаті чого еритроцити стають двоядерними або утворюють одне чи декілька мікроядер [15]. Поява таких клітинних порушень відмічається в морських та прісноводних риб як за дії кумулятивного токсикозу, так і у випадку токсичного стресу [16].

#### 1.4. Токсичне забруднення водного середовища

Токсична дія забруднювачів води заснована на їх взаємодії з біологічними об'єктами - компонентами водних екосистем, на молекулярному рівні [17]. Хімія взаємодії токсикантів та біологічних об'єктів на молекулярному рівні називається механізмом токсичної дії. Формування та розвиток реакцій біологічних об'єктів на дію токсикантів, що призводить до їх пошкодження (тобто дисфункції) або загибелі, називається токсичним процесом. Наслідком токсичної дії забруднюючих речовин на біоти водних об'єктів є розвиток токсичних процесів - інтоксикації (рис. 1.1), що залежить від структури та активності реагентів і субстратів, а також дозового навантаження на біологічні об'єкти [18].

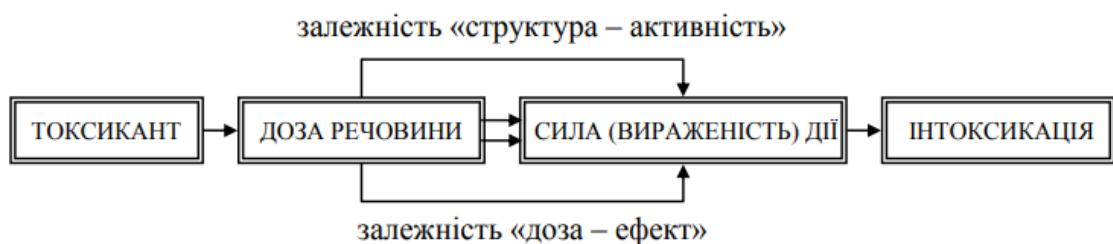


Рис. 1.1. Схема розвитку токсичного процесу

Вплив токсикантів на біоту водойм здійснюється за допомогою декількох основних процесів:

- біофільтрація (планктонні розгалужені ракоподібні, веслоногі ракоподібні-фільтри, двостулкові молюски, риба-сестонофаги);
- біоаккумуляція - поглинання на поверхні тіла, осмотичне проникнення та накопичення в тканинах та органах водних організмів;
- поглинання кореневою системою водних квітучих рослин;
- біомагніфікація (передача через трофічні ланцюги з накопиченням у вищих рівнях, особливо у хижих та бентоїдних риб та рибоїдних птахів).

Описані процеси, з одного боку, відіграють позитивну роль, викликаючи самоочищення водних мас, а з іншого - призводять до прогресуючої інтоксикації водойм. Рівень ураження біологічних систем токсикантами залежить від механізму їх дії. Перш за все, принципи дії токсикантів різні [18].

У процесах, що розвиваються за пороговим принципом, причинно-наслідковий зв'язок між дією речовини та розвитком процесу безумовний: під дією ксенобіотиків у дозах нижче певних рівнів токсичний процес не розвивається, а досягаючи певної дози, процес розвивається. Залежність "дози-ефекту" можна простежити на рівні кожного окремого організму. При цьому, як правило, чим вище доза, тим значніше прояв інтоксикації.

У процесах, що розвиваються на непороговій основі, причинно-наслідкові зв'язки між фактом дії речовини та розвитком токсичного процесу є ймовірнісними: ймовірність утворення ефекту підтримується дією на організм навіть однієї молекули токсиканта однак у деяких організмів процес може не розвиватися, незважаючи на значне збільшення дози речовини [19].

Розвиток інтоксикації та подальшої патології має ланцюговий, підпорядкований, тривалий, як результат - цілісний (системний) характер. Загальною закономірністю розвитку токсичного процесу є різноманітність, багаторівневість та каскадність пошкодження біологічних об'єктів [20].

### 1.4.1. Рівні реагування біоти водойм на токсичне забруднення

Структурно-ієрархічна організація водної біоти (рис. 1.2), яка формується в еволюційному процесі, визначає різні рівні реагування гідробіонтів до шкідливого впливу токсичних речовин, оскільки кожен вищий рівень організації може змінити те, що сталося в нижчі рівні, і, в свою чергу, коригуються вищими рівнями екологічної ієрархії - аж до біосферного [23].

Токсичні ефекти на нижчих рівнях зазвичай вирівнюються на більш високих рівнях живих систем і тому не завжди проявляються у видимих реакцій, хоча вони можуть відігравати значну роль у процесах успадковування генетично обумовлених ознак та створенні потомства з часом. Характер реакцій водних організмів на дію токсичних речовин залежить від їх систематичного положення, екологічної групи, закономірностей філогенезу, спадкової схильності, функціонального стану, віку, стану, біомаси та кількості. Токсичні ефекти проявляються по-різному на генетичному, хромосомному, клітинному, тканинному, організменному та надорганізменному рівнях [21].

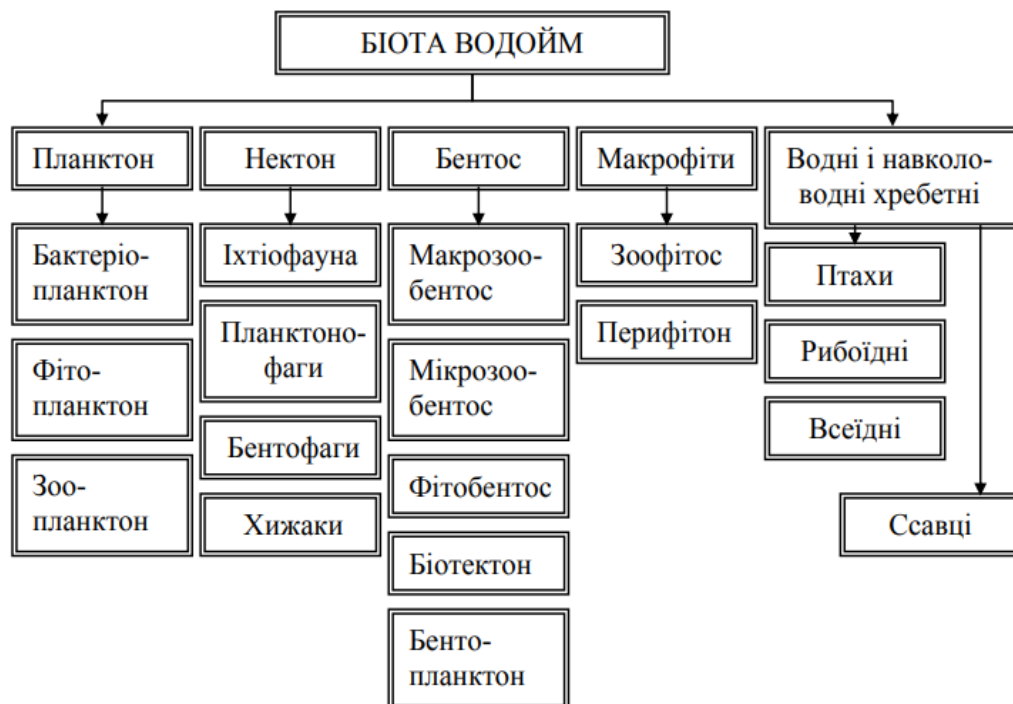


Рис. 1.2. Ієрархічна структура біоти водойм

На генному рівні за дії токсичних реагентів, особливо радіонуклідів, діоксинів, поліциклічних ароматичних вуглеводнів, поліхлорованих біфенілів, важких металів і т.п., відбуваються точкові або структурні мутації. Точкові мутації стосуються окремих одиночних генів і виникають внаслідок заміни в межах гену одних нуклеотидів на інші. Такий ген може бути неактивним і тоді зміни не проявляться фенотипічно. У результаті ж функціонування зміненого гену буде синтезуватися білок з неправильною послідовністю амінокислот і зміненою структурою, що проявиться у порушенні метаболізму. Структурні генні мутації більш складні, ніж точкові, і можуть спричиняти важкі ураження різних функціональних систем, виникнення потвор та загибель гідробіонтів [22].

На хромосомному рівні токсиканти здатні викликати різноманітні аберації – зміни, перебудови структури хромосом у вигляді втрачання певних їх ділянок (центральної чи кінцевих), змін порядку розташування генів у хромосомі на зворотній, подвоєння (дуплікації) окремих ділянок, перенесення ділянки від однієї хромосоми на іншу (транслокації). Якщо у процесі хромосомних аберацій генетичний матеріал не губиться, то розвиваються фенотипічно нормальні особини видів, що зазнали токсичного впливу. Якщо ж відбуваються незбалансовані перебудови хромосом, які змінюють співвідношення генів, то розвиваються особини з клінічними відхиленнями від норми, які проявляються у вигляді модифікацій обмінних процесів, що впливають на ріст і розвиток гідробіонтів, або у неконтрольованих змінах ходу морфогенезу [22].

Геномні зміни за дії забруднюючих речовин виражаються в утраті хромосом, або подвоєнні їхньої кількості (поліморфізм). Розвиток інтоксикаційної патології на клітинному рівні можна зобразити у вигляді наступної схеми (рис. 1.3).

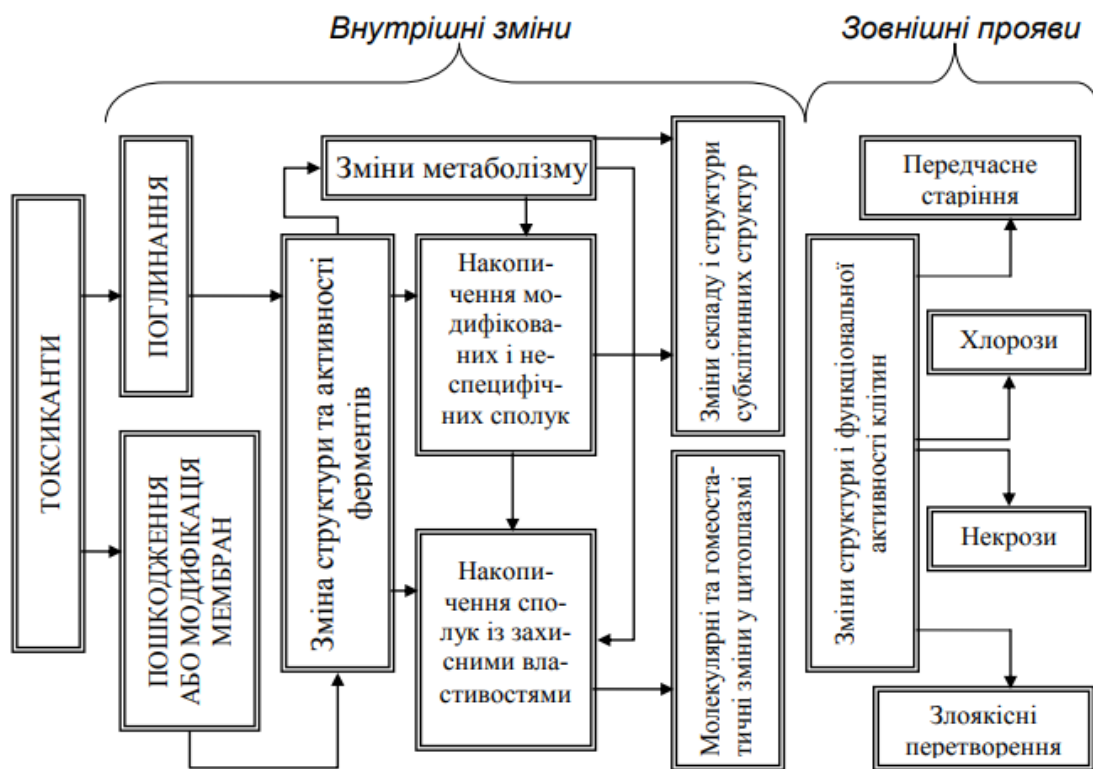


Рис. 1.3. Схема розвитку інтоксикаційних патологій у гідробіонтів на клітинному рівні

На рівні окремих організмів у забрудненому водному середовищі, насамперед, змінюються швидкість і напрям метаболічних процесів, рефлекторні та поведінкові реакції, модифікація адекватних реакцій на зовнішні фактори, порушення взаємодії клітин, тканин та органів, збільшення випадкових та нерегульованих взаємодій, фізіологічних порушень функцій органів та систем, що призводять до руйнування гомеостазу, розвитку патологічних процесів [21].

Показники «патології» рівнів надорганізму характеризуються різним набором параметрів: виснаження видового складу та зменшення біорізноманіття, перебудова груп із змінами домінуючих видів, зменшення чисельності та біомаси популяцій водних організмів [23].

Потрапляючи у водойми, токсичні речовини в основному взаємодіють з планктонними організмами. Вони нерівномірно розподілені між компонентами планктону, особливо у великих кількостях, отруйні забруднювачі можуть накопичуватися в тілах водних організмів-фільтрів. Фільтратори діють як буфер,

який поглинає токсичний удар, зменшуючи тим самим негативний вплив токсикантів на організми на інших трофічних рівнях. В результаті фільтратори першими випадають з планктону, що спричиняє зміну доміантних видів у групі. Зменшення кількості зоопланктону спричинює зменшення інтенсивності споживання планктонних водоростей, що призводить до більш інтенсивного розвитку появи "цвітіння" води. Організми зоопланктону більш чутливі до багатьох токсикантів, ніж водорості, тому первинна продукція в умовах незначного токсичного забруднення може навіть збільшитися через ослаблення пресу зоопланктону на фітопланктон. Одночасно зростають показники руйнування фітопланктону, що призводить до самозабруднення водних об'єктів [21].

При тривалому та сильному забрудненні водних об'єктів відбувається кардинальна перебудова структури планктонних груп. Це регулювання здійснюється в 3 етапи. На першому етапі кількість та показники популяційної біомаси суттєво коливаються; на другому - домінуючі види та субдомінанти відходять на другий план, а види, які раніше були придушені, починають домінувати; на третьому - структура повністю змінюється з тенденцією до зменшення чисельності та біомаси планктонних груп. Якщо дія токсикантів занадто тривала, фітопланктон може повністю зникнути, внаслідок чого фотосинтез припиняється і руйнуються трофічні ланцюги. Ці зміни мають різкий характер [20].

Відновлення планктонних спільнот у водоймі, яка зазнала токсичного впливу, вимагає усунення джерела забруднення та тривалого часу для процесів відновлення [23].

Для донних угруповань такі зміни виражені менш чітко. Донні мули інтенсивно абсорбують токсичні речовини, які взаємодіючи з органічними й іншими компонентами, можуть утворювати комплексні сполуки, які втрачають токсичність (наприклад, комплексні сполуки важких металів). У зв'язку з цим прямий вплив токсикантів на бентонітів значно послаблюється. Нестійкі органічні токсиканти руйнуються мікроорганізмами донних відкладів або частково трансформуються мікро- чи мезобентосними організмами, які живляться мулом (нематоди, олігохети, личинки хірономід). Токсиканти із донних відкладів передаються по трофічних



ланцюгах: мул – донні мікроорганізми – бентосні безхребетні – риби-бентофаги (лящ, сазан, лин, плітка, сом і т.д.). За тривалого надходження токсикантів мул стає токсичним, але виявити це можна лише шляхом біотестування водних витяжок із донних відкладів. Кінцеві ланки бентосних трофічних ланцюгів – риби-бентофаги є носіями потенційної небезпеки отруєння для людини, що споживає їх у якості продуктів харчування [24].

Основні реакції водної екосистеми на токсичний вплив розвиваються також у три фази:

- коливання основних біологічних показників стану екосистеми (видовий склад флори і фауни, планктону і бентосу; чисельність і біомаса гідробіонтів, первинна продукція, кисневий режим) навколо деяких середніх величин без істотних порушень структури біоценозів і глибокої кисневої депресії;

- докорінна перебудова екосистеми, що виражається у зміні структури, а досить часто і складу біоценозів та зміні домінант за помірної кисневої депресії;

- повна структурно-функціональна дезорганізація системи: руйнування основних біоценозів і біотичних зв'язків, зменшення первинної продукції, різке зростання деструкції, глибока киснева депресія, масова загибель тварин, припинення самоочисних процесів [25].

Три основні етапи реагування водних екосистем на токсичні впливи відображені у класифікації рівнів токсичного забруднення – токсобності водойм, запропонованій Л.П.Брагінським, причому рівень оліготоксобності відповідає практично нульовим значенням внутрішньосистемних перебудов; рівень  $\beta$ -токсобності – коливанням основних біологічних показників стану екосистем навколо середніх величин без зміни структури;  $\alpha$ -токсобності – структурно-функціональним перебудовам зі зміною домінантних видів; політоксобності – станові «хаосу» у екосистемі; рівень гіпертоксобності відповідає «екологічній смерті» системи [23].

#### 1.4.2. Реагування на токсичне забруднення тваринних організмів водойм

У водних тварин (безхребетних, нижчих хребетних риб, вищих водних хребетних) найбільш чітко зафіксованою токсичною дією є загибель експериментальних організмів. При хронічному отруєнні низькими концентраціями токсичних речовин виникають різні порушення життєдіяльності, які виражаються в зміні поведінкових реакцій, втраті здатності отримувати зовнішні подразники, дисфункції систем органів, обміну речовин, аномальних біохімічних параметрах, особливо зміні рівня активності певного ферменту або ферментативної системи загалом. Важливим показником хронічного отруєння безхребетних є зниження народжуваності в ряді поколінь, що визначається багаторічними спостереженнями. Втрата здатності до повноцінного розмноження є свідченням отруєння для риб та водних ссавців. Різноманітність реакцій тварин на дію токсичних реагентів зростає із ускладненням рівня їх біологічної організації. Найбільш чітка, конкретна та демонстративна реакція, яку можна зафіксувати, характерна для риб та водних ссавців, що пов'язані зі складною організацією їх сенсорних та регуляторних систем [26].

Загальний розвиток інтоксикації в організмах тварин проходить у три фази: стимулювання процесів життєдіяльності, депресія, смерть. Тривалість і тяжкість фаз є видоспецифічними [27].

#### 1.4.3. Шляхи надходження отрут в організми гідробіонтів

Більшість вчених розглядають живі організми, включаючи всі водні організми, як концентратори хімічних елементів. Навіть Вернадський в 1926 р. нарахував від 17 до 19 хімічних елементів, які можуть накопичуватися в біологічній речовині [19]. Згідно з інтерпретацією М. С. Строганова [20], існує ряд хімічних елементів, які є обов'язковою складовою частиною живих організмів і відіграють у них специфічну біологічну роль. Дещо пізніше Г. С. Коштова [21] зазначив, що з усіх 92 відомих хімічних елементів у живих організмах їх 60. Наприкінці ХХ століття О. М. Виноградов [22] дійшов висновку, що всі живі організми, їх тканини та органи, містять певну кількість усіх відомих і поки невідомих стабільних і нестійких

хімічних елементів. У зв'язку з цим важливою і досить складною проблемою в гідробіології стало визначення шляхів надходження хімічних елементів у тіла водних організмів. Він нерозривно пов'язаний з поняттям метаболізму, який у водних організмах означає всю сукупність процесів, що відбуваються на молекулярному, іонному та атомному рівнях завдяки спроектованим кормовим ресурсам і завдяки речовинам, розчиненим у водному середовищі або суспензіях.

Існує два основних способи потрапляння отрут різного походження в тіла водних організмів:

- безпосередньо з води в процесі біосорбції через дихальну систему та шкіру - парентеральний шлях [23; 31; 35];

- у складі їжі на трофічних ланцюгах через травну систему - пероральна їжа [24].

На додаток до вищезазначених шляхів, деякі дослідники виділили ще один, незалежний шлях, пов'язаний з поглинанням неорганічних сполук, поглинених частинками суспензії [25]. При цьому токсичні речовини, поглинені зваженими частинками, потрапляють в організм водних організмів в результаті процесів фільтрації через травний тракт, де частково утилізуються в умовах змін активної реакції водного середовища та ферментативної активності клітин [26].

Зараз більшість вчених віддають перевагу процесам біосорбції. Так, на думку В. В. Метелева [27], лише невелика кількість отрут потрапляє через шлунково-кишковий тракт риб, переважно токсичні речовини потрапляють в їх організм осмотично. Розвитку таких ідей сприяла робота І. О. Шеханової [28; 29], М. П. Богоявленська [30], Г. С. Карзінкіна [32], Г. Д. Лебедева [33; 34], І. О. Зубченко [23] та ін., які вивчали шляхи надходження та накопичення радіоактивних елементів або мічених атомів в організмах риб. Слід зазначити, що в більшості досліджень такі радіонукліди входили до складу молекул неорганічних сполук і лише в деяких випадках використовували такі органічні речовини, як глюкоза та амінокислоти. Однак було встановлено, що склад молекул принципово не впливав на результати експериментів. Важливим підтвердженням існування біосорбції токсичних речовин водними організмами є взаємозв'язок, встановлений в модельних експериментах з

важкими металами між хімічним складом живих організмів та середовищем їх існування. Виявлено лінійну залежність концентрацій міді, марганцю, цинку, магнію, кобальту, свинцю та інших іонів у воді і ступінь їх накопичення в тканинах та органах водних організмів, у тому числі в залозистому апараті рибних зябер.

На основі таких багаточисельних і тривалих досліджень було розроблено і сформульовано теорію біосорбції для водних організмів [23], згідно якої поверхня тіла гідробіонтів розглядається як тверда, завжди структурована, пориста поверхня, складена полімерними молекулами типу протеїдів і полісахаридів з досить розгалуженими ланцюгами, які містять достатньо великий набір різноманітних атомів (C, O, H, N, S т.д.).

Структуру поверхні ускладнюють кутикула, оболонки самих клітин і міжклітинний простір, війки, джгутики, луска риб і т.д. Крім того, тіло більшості водних тварин покрите шаром слизу, який відіграє роль змазки і бере участь в осморегуляції та виділенні [36] і також розглядається як високоякісний сорбент. Він на 85-90% складається із води, а інші його компоненти – нуклеопротеїди (18 амінокислот), холестерин, ліпофосфати, мінеральні солі, – абсорбувалися ним із води.

Така поверхня характеризується високою абсорбційною активністю. Крім того, гідробіонти у водному середовищі виступають у ролі поверхні фази з її електричними потенціалами: мембранним, абсорбційним і фазовим. За рахунок електричних потенціалів та Ван-дерВаальсових сил на поверхні гідробіонтів виникає вільна енергія, яка може бути перетворена, і як правило, перетворюється на роботу з абсорбції на поверхні тіла гідробіонтів розчинених у середовищі речовин. Це є самовільний процес, спрямований на зменшення вільної енергії фізичної системи і не потребує додаткових енергетичних затрат від біологічних об'єктів. Таким чином, незважаючи на те, що концентрації розчинених у водному середовищі різноманітних речовин, як правило, невисокі і навіть дуже низькі, більшість їх здатні абсорбуватися на поверхні тіла гідробіонтів, концентруючись там до значних величин без затрат енергії живої речовини [33].

Гідробіонти, які рухаються у воді, завжди виявляються оточеними підвищеними концентраціями органічних речовин і пониженими неорганічних, тому молекули води, які покривають (змочують) тіло гідробіонтів, легше заміщуються органічними сполуками, аніж неорганічними [35].

Таким чином, абсорбція органічних токсичних речовин на поверхні тіла гідробіонтів перебігає інтенсивніше, аніж неорганічних. Проте дослідження шляхів міграції у тіло гідробіонтів органічних екзометаболітів до сих пір поки що спеціально не проводились, хоча доведено, що зовнішні метаболічні зв'язки між гідробіонтами різних трофічних рівнів досить суттєві. У літературі [37; 38] наявні дані, що серед ідентифікованих речовин, які виділяються водними організмами у середовище їхнього існування є 13-16 амінокислот, 11 моносахаридів, вітаміни, а також білки, жирні кислоти, полісахариди, нуклеїнові кислоти, сечовина, пуринові і пірамідінові основи.

Оскільки гідробіонти з фізико-хімічної точки зору являють собою досить складне порожнисте тіло, то зрозуміло, що поверхневою абсорбцією діло ніколи, чи майже ніколи, не обмежується, а процес охоплює всю товщу тваринних чи рослинних організмів [34].

Весь процес біосорбції токсичних речовин гідробіонтами можна розбити на 3 етапи:

1) абсорбція абсорбату поверхнею покривних тканин і зябер гідробіонтів, які виступають у ролі поверхні фази;

2) абсорбція абсорбату товщею покривів всього тіла гідробіонтів завдяки наявності міжклітинного простору з послідуною участю кровоносною (для тварин) і провідною (для рослин) систем;

3) взаємодія абсорбату з плазматичними мембранами живих клітин і проникнення завдяки цьому всередину клітин [23].

У зв'язку з цим, накопичення токсичних речовин в організмах гідробіонтів може тривати необмежено довгий час, хоча згідно теорії абсорбції Люнгмюра і Фрейдліха швидкість її висока, а у більшості випадків миттєва. Це говорить про те, що перебуваючи у токсичному середовищі навіть дуже короткий проміжок часу,

гідробіонти не можуть уникнути ушкоджуючої дії токсичних забрудників, хоча на початкових етапах інтоксикації спрацьовують захисні механізми, компенсуючи ушкодження [29].

Найбільш потужний потік токсичних речовин в організми гідробіонтів, і зокрема риб, іде через залозистий апарат зябер, який являє собою активний фільтраційний механізм. Через слизову оболонку зябрових пелюсток і відбувається проникнення в організм розчинених у воді мінеральних сполук. Свідченням цього є інтенсивне надходження і накопичення у їхніх тканинах різноманітних хімічних сполук, зокрема, важких металів [29; 39].

Про достатньо високу інтенсивність проникнення в організм риб мінеральних речовин через зябровий апарат свідчать й експериментальні дослідження швидкості проходження іонів металів через ламели та філаменти зябер – наприклад, швидкість проходження іонів цинку через ламели райдужної форелі у модельному експерименті склала 1,5 нмоль/кг за год., а через філаменти – 1 нмоль/кг за год. [40], що вважається досить суттєвим.

Існує уява про те, що основним місцем проходження токсичних речовин через залозистий апарат зябер виступають його хлоридні клітини [23]. За допомогою світлової та електронної мікроскопії встановлено, що хлоридні клітини мають апікальну мембрану, яка контактує з навколишнім середовищем, причому декілька (дві і більше) хлоридних клітин утворюють комплекс, маючи загальну апікальну ямку. В такому комплексі цитоплазма клітин має вигляд системи сполучених трубочок [28].

З'єднання хлоридних клітин між собою тонше, ніж з підстилаючими їх клітинами. У такому комплексі створюються додаткові парацелюлярні шляхи обміну, розташовані у вузлах сполучення [41]. Оскільки вузлова структура впливає на трансепітеліальну проникливість, то розвиток багатовузлових комплексів хлоридних клітин у прісноводних риб може бути пов'язаний з їхньою транспортною функцією відносно цілого ряду речовин, як це має місце і у залозистому апараті зябер морських риб [31].

Крім того, існує припущення, що деякі токсичні речовини, зокрема і важкі метали, наприклад кадмій, потрапляють у клітини зябрового епітелію прісноводних риб через кальцієві канали у апікальній мембрані [42].

Другорядну роль у надходженні токсичних речовин, у тому числі й іонів металів, з води в організми гідробіонтів науковці відводять шкіряним покривам [43]. Так експериментально доведено, що через шкіряні покриви в організм риб можуть проникати як катіони кальцію, магнію, заліза, цинку, кобальту, стронцію, ітрію, так і аніони сірки, вуглецю, фосфору і т.д. [44].

Отже, водні організми, що здійснюють (на відміну від наземних рослин і тварин) безпосередній обмін речовин з водним середовищем, значною мірою поповнюють з нього баланс життєво необхідних їм хімічних елементів. Проте цим же шляхом до їхнього організму здатні потрапляти і токсичні речовини [42].

Однак, не можна недооцінювати і шлях надходження хімічних елементів в організми гідробіонтів через шлунково-кишковий тракт. Цей шлях також забезпечує потрапляння у живі організми, як біоелементів, так і важких металів, стійких органічних забруднювачів та токсинів, як безпосередньо з води, так і у складі кормів.

Із води через шлунково-кишковий тракт токсичні речовини потрапляють в організм, в основному, морських костистих риб, які, як відомо, з метою компенсації втрати води вимушені пити морську воду, у складі якої і надходить до їхнього організму значна кількість розчинених мінеральних солей [41].

Заслужують на увагу і подібні дослідження, проведені на прісноводних рибах (дволітках коропа), яким у модельному експерименті щодоби вводили пероральним шляхом (за допомогою зонду в передню частину кишківника) розчин сірчаноокислому цинку в дозах 150, 300 і 450 мкг (у перерахунку на катіон) на 1 кг маси тіла. У них вже після 24-х годинної експозиції спостерігалось збільшення вмісту цього біоелемента в тканинах печінки відповідно на 24,8; 36,6 і 39,3% по відношенню до контролю [46]. Одержані авторами дані свідчать про значний ступінь доступності і засвоюваності мінеральних солей організмом риб за їхнього перорального введення у вигляді розчину [43].

Однак щодо доступності для гідробіонтів і рівня засвоєння хімічних елементів зі складу кормів існують суперечливі відомості. Так дослідження Ю.О.Єршова і Т.В.Плетеньової [45] показали, що нікель, який міститься у воді, абсорбується рибами краще, ніж його комплекси, що містяться у кормі. Для абсорбції у цьому випадку використовуються транспортні механізми заліза і кобальту.

Аналогічні показники отримані і для сполук кальцію [47]. Проте за даними Б.В.Краюхіна [48] у травному тракті коропа може засвоюватися і до 40% кальцію, який надходить з кормами.

У шлунково-кишковому тракті добре поглинаються залізо, кобальт, нікель: величина всмоктування для заліза складає 0,1; для кобальту – 0,3; для нікелю – 0,05 від введеної риbam перорально кількості цих елементів. Важливо відмітити, що ці показники змінюються залежно від форми існування речовин у водному середовищі [49].

Певна кількість макро- і мікроелементів може надходити в організми гідробіонтів з донних відкладів. Так, експериментально доведено, що донні мули здатні накопичувати протягом 10-ти діб до 95% радіоактивного марганцю ( $^{54}\text{Mn}$ ), введеного у воду [50], але риучись на дні водойми, короп здатен захоплювати і вводити до свого організму через шлунково-кишковий тракт відносно невелику кількість даного мікроелемента.

За парентерального надходження токсичних речовин до організмів гідробіонтів вони відразу через залозистий апарат зябер потрапляють до загального кровотоку і розносяться кров'ю до різних тканин і органів, забезпечуючи швидку інтоксикацію всього організму. Пероральне ж надходження токсичних речовин передбачає їхню часткову детоксикацію у процесі травлення та біохімічних перетворень, зокрема і у гепатоцитах печінки, що дещо уповільнює та знижує рівень інтоксикації [46].

До клітин тканин і органів гідробіонтів токсичні речовини потрапляють різними способами: у результаті пасивної, полегшеної або активної дифузії, фагоцитозу чи піноцитозу. Проведені глибокі фундаментальні дослідження метаболізму отрут в організмі риб показали, що основні етапи метаболічного шляху



будького хімічного елемента розігруються на рівні клітинної мембрани [51]. Дослідження транспорту іонів, проведені методом іонного потоку, дозволили одержати детальну інформацію про молекулярні основи проходження іонів через біомембрани [52].

За сучасними уявленнями клітинні мембрани розглядаються як індикатори клітинного метаболізму [53].

Багато дослідників вважають, що зміни, які відбуваються у складі білків і ліпідів мембран, їхніх структурних характеристик і функціональної активності, тісно взаємопов'язані і кооперативні. Рідкокристалічна структура білків і ліпідів мембран обумовлює їхню глибоку взаємодію і здатність зв'язувати як специфічні, так і неспецифічні ліганди та змінювати структуру у процесі такого зв'язування.

Однією з основних функцій біологічних мембран є забезпечення вибіркової проникливості для різних речовин, у тому числі і для отрут, які за умови потрапляння у внутрішнє середовище організму, можуть переміщатися до клітин і у зворотньому напрямку [19].

#### 1.4.4. Механізми токсичної дії отрут в організмах гідробіонтів

Дослідження перебігу інтоксикації серед водних організмів найбільш повно проводились на рибах. Це пов'язано з досить високою складністю їх біологічної організації, що дозволяє спостерігати на різних рівнях патологічні зміни, що відбуваються внаслідок отруєння токсичними речовинами.

Взаємодія токсикантів або продуктів їх перетворення в живих організмах із структурними елементами біосистем, що лежить в основі розвитку токсичного процесу, що називається механізмом токсичної дії [36].

За механізмом токсичної дії всі отрути, як зазначалося раніше, поділяються на дві великі групи: місцеві - ті, що викликають дистрофічні та некробіотичні зміни тканини в місці контакту з тілом водних організмів, і резорбтивні - ті, що порушують функціональні системи [27].

Процес інтоксикації в будь-якому живому організмі починається з патогенної дії отрут у місцях їх проникнення (для риб - зябра, слизові оболонки, шкіра), а також рефлекторних реакцій з боку нервової системи. Пізніше, потрапляючи в кров, токсичні речовини, поєднуючись з білками, порушують фізико-хімічні процеси в плазмі та клітинних елементах. Переносячись кров'ю, вони фіксуються в різних тканинах та органах відповідно до сорбційної здатності та біохімічної спорідненості останніх щодо окремих токсикантів [34].

Механізм дії більшості отрут тісно пов'язаний з їх включенням в різні частини біологічних процесів внаслідок фізико-хімічних та хімічних реакцій. Первинні молекулярні взаємодії є пусковим механізмом для будь-якої інтоксикації. Всі зміни після цього супроводжуються комплексом процесів і відповідними реакціями біологічної системи на вторгнення токсикантів. Весь спектр цих відповідних реакцій, від фізіологічної адаптації та компенсації порушених функцій до розвитку інтоксикацій різного ступеня обумовлений взаємодією отрути з хімічними структурами організму. Однак цей "пусковий механізм" розробляється, модифікується і доповнюється різними типами регуляції взаємодії організму з хімічними факторами навколишнього середовища [46].

Токсичний процес, ініційований фізико-хімічними реакціями, як правило, зумовлений розчиненням токсикантів у певних середовищах (водних або ліпідних) клітинах або тканинах організму. Це суттєво змінює фізико-хімічні властивості середовища розчинника (рН, в'язкість, електропровідність, міцність міжмолекулярних взаємодій тощо). Особливістю цієї взаємодії є відсутність залежності якості впливу від хімічних властивостей молекул токсикантів. Так діють на тканини всі кислоти, луги, сильні окислювачі, деякі органічні розчинники та високомолекулярні сполуки [46].

Частіше в основі токсичної дії лежать хімічні реакції токсикантів з певними структурними компонентами живих систем.

Структурна складова біологічної системи, з якою токсична речовина взаємодіє хімічно, називається її «рецептором» (термін, придуманий в 1913 році Полом Ерліхом). Рецепторами токсичних речовин у водних організмах можуть бути:

ферменти; транспортні білки; гормони, або їх окремі ділянки (зони реакції); нейромедіатори; антитіла та ін. Отрути здатні приймати функцію аналогів реакційних субстратів для вищезазначених сполук, які в більшості випадків блокують виконання своїх функцій, а в деяких випадках стимулюють їх активність, викликаючи дисбаланс обмінних процесів [ 36].

Рецептори можуть бути "німими" та активними. "Німий" рецептор є структурним компонентом біологічної системи, взаємодія якого з токсичною речовиною не викликає формування реакції. Активний рецептор є структурним компонентом біологічної системи, взаємодія якого з токсикантом ініціює токсичний процес. Для нього частіше використовують термін "ціль" [32; 37].

Завданнями токсичного впливу отрут на водні організми можуть бути:

- структурні елементи міжклітинного простору;
- структурні елементи клітин тіла;
- структурні елементи систем регуляції клітинної діяльності.

#### 1.4.5. Біологічна акумуляція токсикантів у водних екосистемах

Далеко не завжди масова загибель гідробіонтів визначається факторами, які раптово і стихійно втручаються у водні екосистеми (аварійні скиди токсичних речовин, ливневі стоки, змиви отрутохімікатів і т.д.). В умовах незначного але систематичного забруднення водойм токсикантами, навіть у межах їхніх гранично допустимих концентрацій, також можливий розвиток токсичного процесу. У такому випадку ми маємо справу з кумулятивним ефектом [48].

Практично всі гідробіонти, як рослинні, так і тваринні організми різної складності організації, здатні тривалий час накопичувати токсичні речовини. У риб отрути акумулюються у печінці, селезінці, нирках, жировій тканині, важкі метали можуть відкладатися у шкірі, кістках, м'язах, зябрах. У молюсків токсиканти накопичуються мантийною порожниною, у нозі та гепатопанкреасі, деякі – у м'язах. У вищої водної рослинності депонування багатьох отрут спостерігається у корінні.

Для виявлення місць локалізації токсичних речовин визначають коефіцієнти їхнього розподілу, тобто співвідношення вмісту у різних тканинах [50].

У критичні за функціональним навантаженням на організм періоди накопичені токсиканти виводяться у кров'яне русло, розносяться током крові до тканин і органів, викликаючи гостре отруєння і загибель гідробіонтів. Таке явище отримало назву кумулятивного токсикоза [51].

Механізм виникнення кумулятивних токсикозів полягає в наступному: за хронічного впливу низьких концентрацій отрут на гідробіонтів до їхнього організму надходить  $x$ -кількість токсичного агента, а виводиться або руйнується за той же проміжок часу  $y$ -кількість. Якщо  $x > y$ , то в організмі протягом кожної доби певна кількість токсичного агента –  $z$  ( $z = x - y$ ), залишається. Така кількість отрути сама по собі не викликає ознак інтоксикації, але по мірі її накопичення в організмі, наприклад, протягом 10 або 20 і т.д. діб, її кількість буде складати  $10z$  або  $20z$  і т.д., а така кількість вже здатна викликати розвиток інтоксикації [49; 50]. Виведення токсичних речовин із організму гідробіонтів відбувається активно на перших етапах інтоксикації. Далі швидкість виведення знижується внаслідок адаптивних змін метаболічних процесів [51]. У цей період і можливе депонування токсикантів у тканинах та органах гідробіонтів (рис.1.1).

Акумулюватися здатен будь-який токсичний агент, швидкість виведення якого нижче швидкості його надходження до живого організму [52].



Рис. 1.1. Динаміка вмісту токсичних речовин в тканинах і органах гідробіонтів протягом періоду отруєння: 1 – м'язи, 2 – органи виділення

В залежності від фізико-хімічних властивостей досліджуваної речовини може мати місце матеріальна або функціональна акумуляція, а в окремих випадках і та, й інша [53].

Матеріальна акумуляція представляє собою депонування отруйних речовин у певних органах (печінка, селезінка, нирки) або тканинах, що призводить до збільшення їхньої маси. У цьому випадку показник відношення маси органу, наприклад, печінки чи селезінки, до загальної маси тіла, так званий індекс печінки чи селезінки, у разі його відхилення від норми у бік збільшення свідчить про наявність матеріальної акумуляції отруту [45].

За функціональної акумуляції після кожного надходження отрути до організму зберігається слідова реакція в ураженій функціональній системі, яка сумуючись з кожною наступною, призводить до прояву токсичного ефекту. Функціональна акумуляція виникає частіше, ніж матеріальна. Більшість клітинних і ензиматичних отрут діє шляхом функціональної акумуляції. Наприклад, фосфорорганічні пестициди, які є ензиматичними отрутами і характеризуються високою токсичністю для риб, за хронічної дії малими концентраціями можуть призвести до розвитку функціональної акумуляції [47].

Для того, щоб відбулося гостре отруєння необхідний «поштовх» із зовнішнього середовища – стрес-фактор. Таким стрес-фактором може бути різке підвищення температури води, різка зміна режиму течій, а також циклічні сезонні зміни в самому організмі риб, пов'язані з активними витратами енергії, наприклад, нерестові міграції. У цьому випадку відбувається мобілізація внутрішніх енергетичних ресурсів, токсиканти надходять у кров і викликають аутоінтоксикацію (самоотруєння). Чим більший вік має риба, тим більше накопичено токсикантів у її організмі, тому у таких випадках частіше відмічається загибель плідників [52].

## 1.5. Цитогенетичні показники

### 1.5.1. Мікроядерний тест

Мікроядерний тест – метод, що дозволяє оцінити рівень порушення генетичного матеріалу у конкретної особини в результаті сумарної дії різних токсикантів. Хронічна дія генотоксинів на організм риб призводить до порушення цитогенетичної стабільності і накопичення хромосомних аберацій та геномних мутацій в клітинах організму. Переваги мікроядерного тесту для скринінгу мутагенних ефектів водного середовища були вивчені на гемопоетичних системах риб таких як: периферійна кров, зяберні дуги, селезінка, печінка, спинний мозок, тимус [47].

Мікроядерний тест застосовується як метод детекції аберацій, викликаних поведінкою хромосом в анафазі і застосовується в соматичних клітинах різних організмів. Тест заснований на підрахунку “мікроядер”, сформованих з хромосомного матеріалу в результаті поодиноких розривів (кінцева делеція), або об’єднання фрагментів різних хромосом (транслокацій), які “відстали” і не були включені в ядро дочірніх клітин під час телофази.

Численні дослідження показали, що в еритроцитах периферійної крові різних порід коропа, як у польових, так і лабораторних умовах часто зустрічаються мікроядра внаслідок впливу різних генотоксинів. Всі вони відображають несприятливий токсикологічний стан серед представників аквакультури [48].

Мікроядра (МЯ) - це невеликі тільця, існуючі в клітці окремо від основного ядра (ядер) або пов'язані з ними хроматиновим мостом. Відомо, що МЯ являють собою невеликі утворення, що складаються з фрагментів хромосом. На стадії телофази ці фрагменти можуть включатися в ядра дочірніх клітин або утворювати одиночні або множинні мікроядра в цитоплазмі. Так мікроядра, що несуть хромосомні фрагменти, виникають після прямих розривів ними ДНК, реплікації на пошкодженій ДНК-основі, репресії синтезу ДНК. Мікроядра, які включають цілі хромосоми, утворюються внаслідок порушень веретена поділу, кінетохора або інших частин мітотичного апарату. Їх виникнення пов'язують, як правило, з такими

типами ушкодження геному як ацентричні фрагменти хромосом або цілі хромосоми, що відстали в анафазі або телофазі мітозу від веретена поділу і не ввійшли в дочірні ядра [48].

Ліміти показника клітин з мікроядрами в межах 0,1-3,8 промілей вказують на задовільну оцінку стабільності хромосомного апарату риб. Показники зменшення стабільності хромосомного апарату у зв'язку з віком відображають загальну тенденцію до накопичення мутацій протягом життя. У риб, судячи по коефіцієнту варіабельності деяких цитогенетичних характеристик, найбільш стабільними по цим показникам є популяції 2-х -річного віку [49].

Мікроядра в еритроцитах риб формуються шляхом конденсації фрагментів хромосом, або цілих хромосом, що не потрапили в основне ядро протягом анафази внаслідок розриву ДНК, гістонових білків, або руйнування ниток веретена поділу. Багаточисельні дослідження показали, що в еритроцитах периферійної крові риб, як у польових, так і лабораторних умовах часто зустрічаються мікроядра внаслідок впливу різноманітних генотоксинів. Даний метод є чутливим не лише для скринінгу фізичних та хімічних мутагенів, але і для біологічних. Результати мікроядерного тесту при дослідженні впливу гострої форми філометроїдозу на частоту мікроядер в еритроцитах коропа показали, що на сьому добу міграції личинки у дослідної групи кількість мікроядер в еритроцитах збільшилась до  $11,5 \pm 0,51$ , в той час як у контрольної групи становила  $6,1 \pm 0,42$ , що говорить про високу специфічність даного тесту до біологічних мутагенів.

Висунуто припущення, що не мітотичне утворення мікроядер – це шлях видалення з ядра дефектного хроматину. В дослідженнях Ізюмової Ю. Г. виявлено, що кількість клітин з МЯ знаходиться в зворотній кореляційній залежності ( $R \pm m_r = -0,58 \pm 0,17$ ;  $P < 0,001$ ) по відношенню до клітин з іншими ознаками різного ступеню деструкції ядер, таких як хроматиноліз, каріоліз, каріорексис (розпад генетичного матеріалу ядра на гранули). Всі вони відображають несприятливий токсикологічний стан серед представників аквакультури. Облік цитогенетичних аномалій у клітинах периферійної крові можна використовувати на початкових стадіях інтоксикації, причому клітинами мішенями будуть, в першу чергу, еритроцити.

Процес утворення мікроядер в лімфоцитах має складну природу. З одного боку, це може бути результат хромосомних аберацій і відставання хромосом в процесі мітотичного поділу, з іншого боку це – дефектами веретена поділу та багатополіусними мітозами. Лімфоцити – клітини імунної системи, належать до лейкоцитів групи агранулоцитів. Забезпечують гуморальний та клітинний імунітет, регулюють діяльність клітин інших типів. Лімфоцити, на відміну від інших формених тілець крові, наприклад, еритроцитів, можуть ділитися в різних лімфоїдних органах – тимусі, селезінці, лімфатичному органі та ін.. За розміром та розташуванням мікроядер в цитоплазмі лімфоциту їх класифікують наступним чином:

- мікроядра “стандартного” типу, невеликого розміру, добре оформлені і знаходяться близько від основного ядра, або на деякій відстані від нього, іноді навіть на периферії клітини;

- мікроядра “основного” типу, що не відрізняються за розміром від основного ядра, часто в безпосередній близькості один до одного (двоядерні лімфоцити);

- у окремих випадках – неоформлений хромосомний матеріал або ціла хромосома в цитоплазмі клітини.

Причини, що викликають порушення в процесі поділу і призводять до утворення двоядерних лімфоцитів та з мікроядрами, можна пов'язати з факторами, які мають статокінетичну дію (порушення у фазах мітозупов'язаних з пошкодженням веретена поділу і нерозходження хромосом). У окремих дослідженнях показано, що такі порушення можуть бути пов'язані з широким спектром чинників, починаючи від дії важких металів і закінчуючи вірусними інфекціями.

Тому в сучасних умовах господарювання застосування мікроядерного тесту на ставових рибах дасть можливість встановити чутливість геномів різних видів до дії мутагенів в конкретних умовах розведення та оцінити генотоксичність рибогосподарських водойм, з метою подальшої оптимізації господарської діяльності.



### 1.5.2. Апоптоз

Апоптоз – генетично запрограмована загибель клітини та елімінація клітин не здатних до розвитку і нормальної життєдіяльності, що здійснюється завдяки запуску спеціальної програми послідовної активації ряду ферментів. Одним із сигналів запуску апоптозу є “виявлення” пошкоджень ДНК в точках клітинного циклу.

Характерними морфологічними ознаками апоптичної загибелі клітини є зжимання клітин і конденсація цитоплазми, руйнування клітинного ядра, ущільнення хроматину і міжнуклеосомна фрагментація ДНК, кінцевий розпад клітини з “відшнуровуванням” пухирців, так званих апоптичних тілець. Клітини, які підлягали апоптозу, розпізнаються макрофагами та іншими фагоцитарними клітинами і швидко знищуються. Шляхом апоптозу елімуються трансформовані клітини, які виникли при канцерогенезі, вірусних інфекціях або незворотних пошкоджень ДНК. Як відмічають дослідники, апоптоз є високо регульованою формою програмованої клітинної загибелі з характерними морфологічними, біохімічними і генетичними ознаками, в результаті якої досягається кінцева мета – загибель дефектної клітини.

Механізми регуляції апоптозу дуже складні і практично не змінилися в процесі еволюції, що дає підставу судити про фундаментальну біологічну роль цього процесу. Апоптоз захищає організм від персистенції пошкоджених і цитотоксичних кліток, які можуть бути потенційно небезпечними для організму. Припускають, що апоптична загибель більшості Т-лімфоцитів пов'язана з їх міграцією в результаті антигенної дії, тобто апоптоз Т-клітин представляється авторами як механізм антигенкерованої селекції лімфоцитів. А пролонгацію патогенних процесів пов'язують з підвищенням виживання Т-лімфоцитів і втратою ними здатності до апоптозу, що проявляється в уповільненні процесів фрагментації ДНК цих клітин.

Розрізняють три стадії генетично запрограмованого механізму апоптозу: індукції (сигнальна), активації шляхів реалізації (контролю і виконання) і деградації (структурних змін). Апоптоз має позитивну кореляцію з концентрацією

канцерогену. Він включається тоді, коли репараційні системи не справляються з об'ємом пошкоджень спадкових структур клітини.

### 1.5.3. Амітоз

Амітоз - це поділ соматичних клітин, що відбувається без спіральних хромосом і без утворення веретена (на відміну від мітозу, де відбувається прямий поділ міжфазного ядра клітини, а згодом і цитоплазми) [51].

Під час амітозу ядерце видовжується, зашнуровується, а потім ядро розтягується. У деяких випадках в ядрі є перегородка, яка ділить його на дві частини. Поділ ядра іноді супроводжується поділом цитоплазми [52].

Існує кілька форм амітозу:

- 1) рівномірний, коли утворюються два рівні ядра;
- 2) неоднорідні, коли утворюються нерівні ядра;
- 3) фрагментація, коли ядро розпадається на безліч дрібних ядер однакового або різного розміру [53].

## 1.6. Висновки до розділу

З'ясовано, що успішне використання риб як індикаторів стану гідроекосистем зумовлене деякими причинами: риби мають тривалий життєвий цикл і через це здатні накопичувати шкідливі речовини протягом значного періоду часу; різні види риб мають неоднакову чутливість до антропогенних токсикантів і тому можуть використовуватись як біоіндикатори різного ступеня антропогенного забруднення водойм; риби мають неоднакову чутливість на різних етапах онтогенезу, що розширює можливості використання цих тварин для біоіндикації.

Для досліджень різних видів риб у природних умовах найзручнішим виявляється мікроядерний тест у клітинах периферійної крові, який виявляє амітоз еритроцитів – один із патоморфологічних станів клітин червоної крові, у результаті чого еритроцити стають двоядерними або утворюють одне чи декілька мікроядер.



## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Матеріали та місце відбору проб для дослідження

Об'єктом дослідження були мазки крові корошових риб двох порід. Матеріал був зібраний навесні 14 квітня 2019 року та восени 6 вересня 2019 року.

Дослідження рівня цитогенетичних порушень за використанням мікроядерного тесту у груп корошових української рамчастої та лускатої порід в клітинах периферійної крові були проведені на базі державного підприємства «Дослідного господарства Львівської дослідної станції» Інституту рибного господарства Національної академії аграрних наук України» у селі Великий Любін, Львівської обл. (рис.2.1).



Рис. 2.1. Місце відбору проб с. Великий Любін

#### 2.2. Порядок проведення мікроядерного тесту периферійної крові

Для об'єктивної оцінки нестабільності хромосомного апарату необхідно розглядати комплекс цитогенетичних характеристик у різних клітинних типах,

оскільки міжгрупові відмінності за частотами зустрічальності еритроцитів із мікроядрами не завжди співпадають із відмінностями по лейкоцитах із мікроядрами або двоядерних лейкоцитах [50].

Виконання мікроядерного тесту периферійної крові виділеної з представників рамчатої та лускатої порід коропів проводили за схемою яка наведена на рис. 2.2.



Рис. 2.2. Схема проведення мікроядерного тесту

Проведений в ході досліджень мікроядерний тест складався з наступних етапів:

1. Забір крові риб проводили за допомогою ін'єкційного шприцу з підшкірної хвостової артерії. При взятті проб крові місце проколу обробляли 70% спиртом для видалення слизу, що містить фермент тромбокіназу.

2. Невеличку краплю взятої крові наносили на предметне скло на відстані 1-1,5 см від його кінця. Потім взяли шліфоване скло та встановили його до поверхні предметного скла під кутом 30-45° і обережно підводили тильним боком до

краплини крові, в результаті чого вона розтікалась (рис. 2.3). Потім ковзним рухом шліфованого скла вперед кров рівномірно розподілили у вигляді мазка по предметному склу. Правильно приготовлений мазок має бути рівномірним, поступово сходити нанівець, не мати розривів.

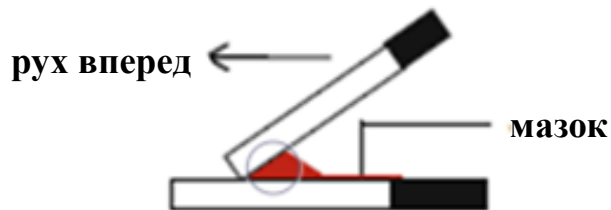


Рис. 2.3. Приготування мазку крові

3. Готовий мазок підсушити на повітрі до зникнення вологого блиску.

4. Сухий мазок фіксували у стаканчику із метиловим спиртом 5-10 хв. Після закінчення фіксації препарат виймали зі спирту пінцетом, розміщували вертикально на фільтрувальному папері та очікували випаровування спирту.

5. Фарбували мазки в два етапи:

- розчином метиленового синього з дистильованою водою (1:5). Фіксований мазок розміщували у чашках Петрі з фарбою на 10-15 хвилин. Після закінчення фіксації препарат виймали з фарби пінцетом, промивали в дистильованій воді та чекали його повного висихання на повітрі;

- азур-еозином за Романовським (з додаванням буферу) з розрахунку 10-12 крапель фарби на 10 мл дистильованої води. Фіксований мазок розміщували у чашках Петрі з фарбою на 15-20 хвилин. Після закінчення фіксації препарат виймали з фарби пінцетом, промивали в дистильованій воді та чекали його повного висихання на повітрі.

6. Мікроскопування виготовленого мазка при збільшенні у 1000 разів бінокулярного мікроскопу «Primo Star Zeiss» (рис.2.4).



Рис.2.4. Бінокулярний мікроскоп “Primo Star Zeiss”

7. При підрахунку клітин враховувались всі види мікроядер та ядерного матеріалу. Результати підрахунків виражали в проміле.

Ще одним важливим етапом цитодиференціації клітин багатоклітинних організмів є апоптоз, частоти виникнення якого також обраховувалися.

### **2.3. Висновки до розділу**

В ході виконання експериментальної частини дипломної роботи вихідним матеріалом слугували зразки периферійної крові коропа. Кровотворна система риб дуже чутлива до змін стану навколишнього середовища, тому мікроядерний тест в клітинах периферичної крові дозволяє оцінити рівень порушень генетичного матеріалу у конкретної особи в результаті сумарної дії різних токсикантів.

## РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

### 3.1. Характеристика досліджуваної водної екосистеми

Метою роботи був аналіз результатів досліджень якості води рибницького ставу рибгоспу «Великий Любін» (Львівська обл.) при вирощуванні лускатих та рамчастих коропів. Якість води, яка визначається її хімічним складом, дає змогу більш повно зрозуміти біохімічні процеси, які відбуваються у водоймі. Джерелом живлення досліджуваного вирощувального ставу є річка річка Верещиця.

Кисневий режим рибницького ставу був загалом задовільним, вміст розчиненого у воді кисню перебував у межах припустимих норм (5,4-6,2 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>). Результати проведеного хімічного аналізу води представлено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Гідрохімічні показники вирощувального ставу ДГ Львівської дослідної станції «Великий Любін», 2019 р.

| Показники   | річка <u>Верещиця</u><br>(вересень) | Дослідний став<br>(квітень) | Дослідний став<br>(вересень) | НЗ ставової<br>води |
|---|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------|
| Водневий показник, рН   | 7,7                                 | 8,4                         | 7,1                          | 6,5-8,5             |
| Перманганатна окиснюваність,<br>мгО/дм <sup>3</sup>                           | 4,3                                 | 9,7                         | 9,0                          | до 15,0             |
| Лужність, мг-екв./дм <sup>3</sup>   | 4,9                                 | 3,6                         | 3,9                          | 3,0-6,0             |
| Амонійний азот, NH <sup>4+</sup> , мгN/дм <sup>3</sup>                        | 0,12                                | 0,07                        | 0,05                         | до 2,0              |
| Нітриди, NO <sup>2-</sup> , мгN/дм <sup>3</sup>                               | 0,040                               | 0,000                       | 0,000                        | до 0,1              |
| Нітрати, NO <sup>3-</sup> , мгN/дм <sup>3</sup>                               | 0,00                                | 0,00                        | 0,00                         | до 2,0              |
| Мінеральний фосфор, PO <sup>4 3-</sup> ,<br>мгP/дм <sup>3</sup>               | 0,30                                | 0,37                        | 0,36                         | до 0,7              |
| Загальне залізо, Fe <sup>2++</sup> Fe <sup>3+</sup> ,<br>мгFe/дм <sup>3</sup> | 1,25                                | 0,57                        | 0,40                         | до 1,0              |
| Кальцій, Ca <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>                                | 52,0                                | 40,0                        | 38,0                         | до 70,0             |
| Магній, Mg <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>                                 | 27,3                                | 26,5                        | 22,1                         | до 30,0             |
| Натрій+Калій, Na <sup>++</sup> K <sup>+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>            | 78,8                                | 64,7                        | 72,7                         | до 50,0             |
| Гідрокарбонати, HCO <sup>3-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>                        | 317,1                               | 237,0                       | 242,0                        | до 300,0            |
| Хлориди, Cl <sup>-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>                                 | 15,7                                | 13,2                        | 5,5                          | до 70,0             |
| Сульфати, SO <sup>4 2-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>                             | 135,0                               | 110,0                       | 150,0                        | до 60,0             |
| Загальна твердість, мг-екв./дм <sup>3</sup>                                   | 4,7                                 | 4,7                         | 4,0                          | 5,0-7,0             |
| Мінералізація, мг/дм <sup>3</sup>   | 620,0                               | 487,4                       | 520,8                        | до 1000             |



Концентрація іонів водню (рН) є одним із найважливіших показників якості вод, який впливає на хімічну рівновагу багатьох елементів і має велике значення для хімічних і біологічних процесів. Згідно з одержаними результатами досліджень середовище в усіх відібраних пробах води даного господарства було слабколужним (рН = 7,1–8,4), що є оптимальним для проходження біохімічних процесів у ставах та вирощування риби. Вміст легкоокиснюваних органічних сполук, який визначається показником перманганатної окиснюваності, у воді утримувався на рівні 4,3 мгО /дм<sup>3</sup> у каналі та 9,7 мгО/дм<sup>3</sup> в обох ставах, що вказує на відсутність органічного забруднення ставів. Концентрація біогенних елементів у воді невисока, але саме ці елементи визначають рівень біопродуктивності водних об'єктів і, таким чином, обумовлюють якість води. До біогенних належать мінеральні речовини, які найбільш активно беруть участь у життєдіяльності водних організмів: це сполуки азоту (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), фосфору (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-</sup>), заліза (Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>). Нітрити та нітрати в даних пробах відсутні. Іон амонію з'являється у воді внаслідок розчинення в ній аміаку – продукту розкладу органічних азотовмісних речовин. Іон (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) нестійкий, він швидко окиснюється до нітритів та нітратів. Як свідчать дані таблиці – ставова вода даного рибного господарства не забруднена амонійним азотом.

Вміст фосфору у воді має сезонний характер коливань і залежить від співвідношення інтенсивності процесів фотосинтезу та біохімічного розкладу органічних речовин. Мінеральний фосфор, як один з важливих біогенних елементів, зафіксовано в усіх пробах із максимальним показником в ставі (вересень) – 0,37 мгР/дм<sup>3</sup>, а мінімальним – 0,30 мгР/дм<sup>3</sup> у річці (табл. 3.1). Вміст заліза в річці є в достатній кількості (1,25 мгFe/дм<sup>3</sup>), а в ставовій воді його кількість в 2 рази знижується – 0,57 мгFe/дм<sup>3</sup>. Вода в ставах даного господарства відповідає помірній твердості, яка коливалася в межах від 4,0 до 4,7 мг-екв./дм<sup>3</sup>. Подібну динаміку спостерігали і за вмістом кальцію у воді ставу, який набував значення 40,0 мг/дм<sup>3</sup>. Для води досліджуваного ставу характерний невисокий вміст хлоридів, проте, вміст сульфатів як у воді каналу, так і безпосередньо у рибницькому ставу знаходився на

досить високому рівні, не завдаючи токсичного впливу на вирощування риби. За класифікацією О. Альокіна, вода рибницьких ставів належить до гідрокарбонатного класу групи натрію, тому що серед аніонів переважали гідрокарбонати, а серед катіонів – іони натрію та калію. Вода середньої мінералізації, з сумою іонів на рівні 620,0 мг/дм<sup>3</sup> у річці та 487,4–520,8 мг/дм<sup>3</sup> – у ставу навесні та восени (табл. 3.1). Середня літня температура становить 18,5–19,5 °С, а взимку у січні – 5–6 °С.

Стан рибницьких ставів дослідної станції «Великий Любін» при вирощуванні різновікових груп лускатих та рамчастих коропів в цілому був задовільним. Гідрохімічний режим рибницького ставу, знаходився в межах нормативних значень і була сприятливою для вирощування риби. Згідно з класифікацією О. О. Альокіна, вода рибницьких ставів належить до гідрокарбонатного класу групи натрію. Величина водневого показника (рН) була на рівні 7,1-8,4, вміст органічних речовин не перевищував 9,3 мгО/дм<sup>3</sup>, що вказує на відсутність органічного забруднення ставу.

### **3.2. Результати мікроскопування мазків крові**

Мікроскопування проводили за допомогою біокулярного мікроскопу “Primo Star Zeiss” зі збільшенням у 1000 разів.

У мазках крові було виявлено та підраховано частоту еритроцитів з мікроядрами (ЕМЯ) (рис. 3.1), двоядерних лейкоцитів (ДЛ) (рис.3.2.), одноядерних лейкоцитів з мікроядрами (ЛМЯ) (рис.3.3.), апоптозних клітин (АП) (рис.3.4), амітозних еритроцитів(АМ) (рис.3.5). Одержані дані розраховували в промілях (в ‰).

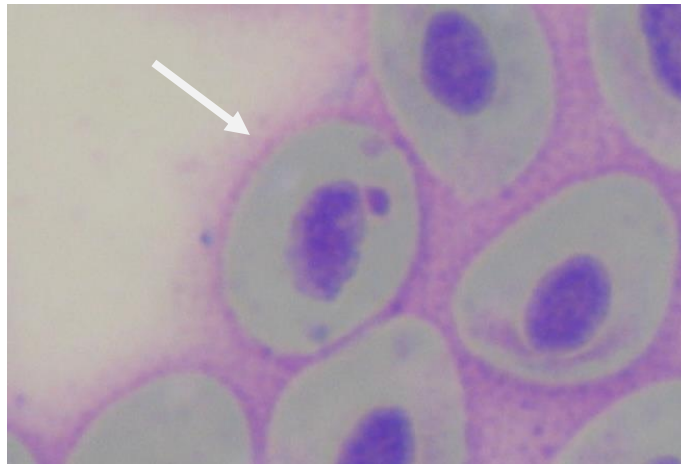


Рис.3.1. Еритроцити з мікроядром в периферичній крові

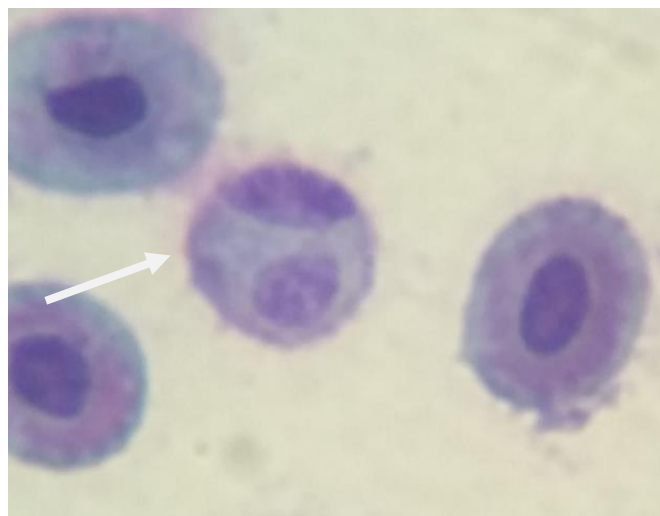


Рис.3.2. Двоядерні лейкоцити

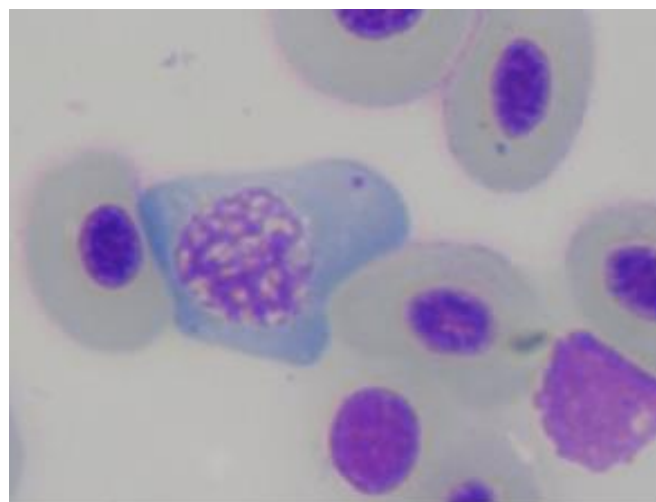


Рис.3.3. Лейкоцит з мікроядром

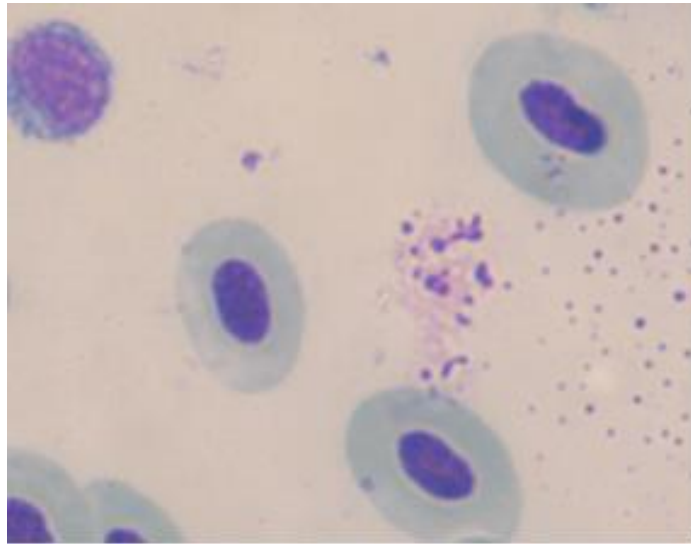


Рис.3.4. Апоптоз



Рис.3.5. Еритроцити які діляться (амітоз)

### **3.3. Визначення частоти зустрічальності цитогенетичних аномалій у клітинах периферичної крові коропових риб**

Результати підрахунку клітин крові із цитогенетичними аномаліями у двох досліджуваних групах коропа від 12.04.2019 р. наведено у табл. 3.1. та проілюстровано на рис. 3.8.

Таблиця 3.1

Частоти зустрічальності цитогенетичних аномалій у клітинах периферичної крові двох груп любінського коропа (лускатого та рамчастого типу), ‰

| № пор.                     | Еритроцити із мікроядрами | Лейкоцити із мікроядрами | Двоядерні лейкоцити   | Апоптоз               | Амітоз                |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Любінський лускатий короп  |                           |                          |                       |                       |                       |
| 1                          | 3                         | 1                        | 0                     | 1                     | 0                     |
| 2                          | 1                         | 1                        | 2                     | 1                     | 0                     |
| 3                          | 4                         | 2                        | 1                     | 1                     | 0                     |
| 4                          | 0                         | 3                        | 3                     | 0                     | 0                     |
| 5                          | 4                         | 1                        | 3                     | 1                     | 0                     |
| 6                          | 5                         | 3                        | 1                     | 0                     | 0                     |
| 7                          | 1                         | 1                        | 0                     | 0                     | 0                     |
| 8                          | 0                         | 0                        | 1                     | 1                     | 1                     |
| 9                          | 5                         | 0                        | 3                     | 1                     | 0                     |
| 10                         | 4                         | 1                        | 1                     | 0                     | 0                     |
| Середнє                    | $2,7 \pm 0,4\text{‰}$     | $1,3 \pm 0,2\text{‰}$    | $1,7 \pm 0,3\text{‰}$ | $0,6 \pm 0,1\text{‰}$ | $0,1 \pm 0,1\text{‰}$ |
| Любінський рамчастий короп |                           |                          |                       |                       |                       |
| 1                          | 4                         | 2                        | 4                     | 1                     | 0                     |
| 2                          | 4                         | 1                        | 5                     | 1                     | 0                     |
| 3                          | 3                         | 1                        | 4                     | 1                     | 0                     |
| 4                          | 5                         | 1                        | 3                     | 0                     | 0                     |
| 5                          | 4                         | 2                        | 5                     | 1                     | 0                     |
| 6                          | 3                         | 2                        | 4                     | 0                     | 1                     |
| 7                          | 3                         | 1                        | 5                     | 0                     | 0                     |
| 8                          | 3                         | 3                        | 2                     | 0                     | 1                     |
| 9                          | 6                         | 2                        | 6                     | 1                     | 0                     |
| 10                         | 4                         | 1                        | 2                     | 0                     | 0                     |
| Середнє                    | $3,9 \pm 0,4\text{‰}$     | $1,5 \pm 0,2\text{‰}$    | $4,0 \pm 0,5\text{‰}$ | $0,5 \pm 0,1\text{‰}$ | $0,2 \pm 0,1\text{‰}$ |

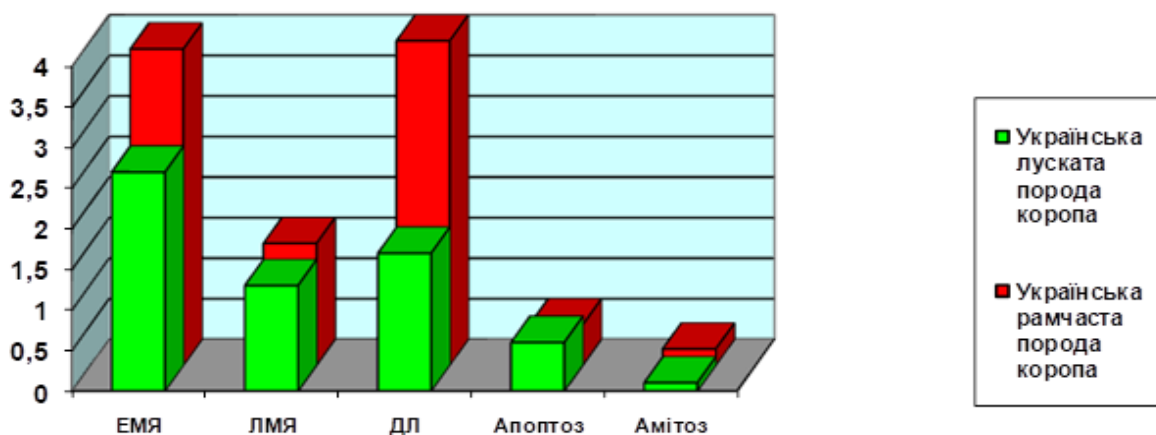


Рис.3.8. Частоти виникнення різних цитогенетичних аномалій у двох досліджуваних групах коропа від 12.04.2019 р.

Результати підрахунку клітин крові із цитогенетичними аномаліями у двох досліджуваних групах коропа від 06.09.2019 р. наведено у табл. 3.2 та проілюстровано на рис. 3.9.

Таблиця 3.2

Частоти зустрічальності цитогенетичних аномалій у клітинах периферичної крові двох груп любінського коропа (лускатого та рамчастого типу), ‰

| № пор.                    | Еритроцити із мікроядрами | Лейкоцити із мікроядрами | Двоядерні лейкоцити   | Апоптоз               | Амітоз      |
|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------|
| Любінський лускатий короп |                           |                          |                       |                       |             |
| 1                         | 1                         | 1                        | 0                     | 1                     | 0           |
| 2                         | 0                         | 1                        | 2                     | 0                     | 0           |
| 3                         | 2                         | 2                        | 1                     | 1                     | 0           |
| 4                         | 3                         | 0                        | 0                     | 0                     | 0           |
| 5                         | 1                         | 0                        | 3                     | 1                     | 0           |
| 6                         | 3                         | 0                        | 1                     | 1                     | 0           |
| 7                         | 2                         | 0                        | 0                     | 1                     | 0           |
| 8                         | 0                         | 0                        | 1                     | 0                     | 0           |
| 9                         | 0                         | 0                        | 0                     | 1                     | 0           |
| 10                        | 1                         | 3                        | 1                     | 0                     | 0           |
| Середнє                   | $1,3 \pm 0,3\text{‰}$     | $0,7 \pm 0,3\text{‰}$    | $0,9 \pm 0,5\text{‰}$ | $0,6 \pm 0,1\text{‰}$ | $0\text{‰}$ |

0  
Продовження таблиці 3.2

| Любінський рамчастий короп |                       |                       |                       |                       |                       |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1                          | 9                     | 0                     | 3                     | 4                     | 1                     |
| 2                          | 5                     | 1                     | 1                     | 4                     | 0                     |
| 3                          | 4                     | 0                     | 4                     | 1                     | 0                     |
| 5                          | 6                     | 1                     | 4                     | 1                     | 0                     |
| 6                          | 4                     | 1                     | 7                     | 1                     | 0                     |
| 7                          | 7                     | 1                     | 0                     | 3                     | 0                     |
| 8                          | 5                     | 1                     | 0                     | 3                     | 0                     |
| 9                          | 6                     | 3                     | 6                     | 1                     | 0                     |
| 10                         | 1                     | 1                     | 4                     | 1                     | 1                     |
| Середнє                    | $4,7 \pm 0,5\text{‰}$ | $0,9 \pm 0,3\text{‰}$ | $2,9 \pm 0,4\text{‰}$ | $1,9 \pm 0,3\text{‰}$ | $0,2 \pm 0,1\text{‰}$ |

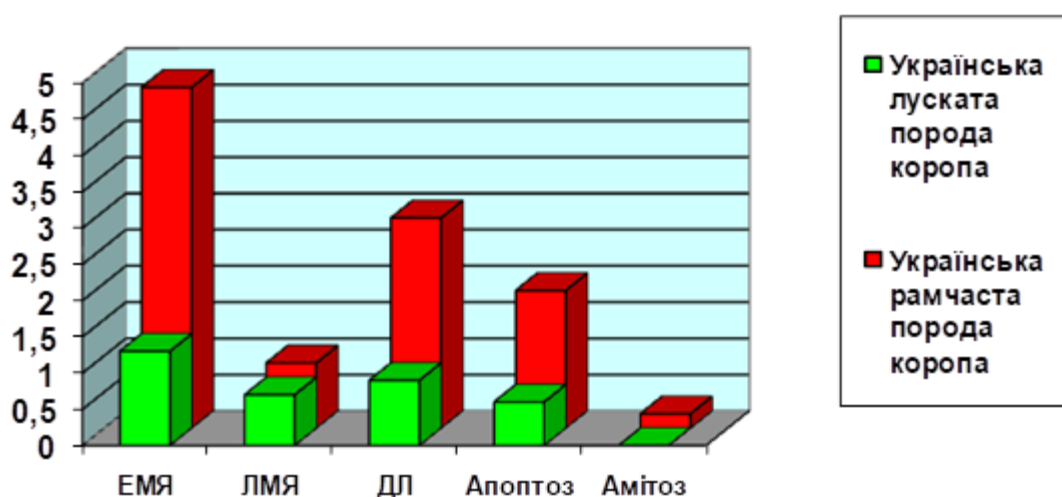


Рис. 3.9. Частоти виникнення різних цитогенетичних аномалій у двох досліджуваних групах коропа від 06.09.2019 р.

Далі в ході дипломної роботи було розраховано середні значення частот зустрічальності різних цитогенетичних аномалій у мазках периферичної крові коропів двох груп за 2019 рік ( у ‰), які превставлені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Середні значення частот зустрічальності різних цитогенетичних аномалій у мазках периферичної крові коропів двох груп за 2019 рік ( у ‰)

| Рік                       | К-сть особин | ЕМЯ           | ЛМЯ           | ДЛ            | АП            | АМ            |
|---------------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Любінський лускатий короп |              |               |               |               |               |               |
| 2019 (весна)              | 10           | $2,7 \pm 0,4$ | $1,3 \pm 0,2$ | $1,7 \pm 0,3$ | $0,6 \pm 0,1$ | $0,1 \pm 0,1$ |

|                             |    |           |           |           |           |           |
|-----------------------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 2019 (осінь)                | 10 | 1,3 ± 0,3 | 0,7 ± 0,3 | 0,9 ± 0,5 | 0,6 ± 0,1 | 0         |
| Любінський рамчастий коропа |    |           |           |           |           |           |
| 2019 (весна)                | 10 | 3,9 ± 0,4 | 1,5 ± 0,2 | 4,0 ± 0,5 | 0,5 ± 0,1 | 0,2 ± 0,1 |
| 2019 (осінь)                | 10 | 4,7 ± 0,5 | 0,9 ± 0,3 | 2,9 ± 0,4 | 1,9 ± 0,3 | 0,2 ± 0,1 |

Частоти зустрічальності лейкоцитів з мікроядрами у групах знаходилися на високому рівні весною у любінського лускатого ( $1,3 \pm 0,2\%$ ) та ( $1,5 \pm 0,2\%$ ) у рамчастих коропів.

Спостерігалися статистично вірогідні відмінності у двох груп українських коропів за частотами зустрічальності еритроцитів з мікроядрами ( $P < 0,05$ ;  $t_s = 2,3$ ) та двоядерних лейкоцитів ( $P < 0,01$ ;  $t_s = 3$ ).

Отримані дані свідчать про те, що розглянуті групи риб, які відтворюються в одному і тому самому господарстві, відрізняються одна від одної за такими характеристиками дестабілізації хромосомного апарату, як частота зустрічальності ЕМЯ та ДЛ.

Результати досліджень рамчастого коропа показали, що еритроцити з мікроядрами, лімфоцити з мікроядрами, двоядерні лімфоцити та частоти апоптозу демонструють в моніторингових дослідженнях різну ступінь чутливості клітин периферійної крові еритроїдного та лейкоцитарного ряду до дії генотоксичних агентів. Було встановлено, що в двох групах рамчастого коропа найвищим рівнем еритроцитів з мікроядрами характеризувалися коропи любінського рамчастого типу за 06.09.2017 р. ( $4,7 \pm 0,5$ ). Дане явище можна пояснити нерегульованістю обмінних процесів у тварин, що призвело до реалізацій значної кількості мутацій. Але також варто відзначити, що дана група характеризується найвищим рівнем індивідуального поліморфізму за частотою ЕМЯ, так особини № 9 мала 6, №1 мали 9,0 ЕМЯ. Значна кількість клітин периферійної крові з мікроядрами, за умови невеликої кількості апоптозів, може бути пов'язана з толерантністю геномів досліджуваних тварин до даного типу пошкодження генетичного матеріалу, в зв'язку з чим дані клітини не піддаються апоптозу.



Міжгрупові відмінності за частотами зустрічальності еритроцитів із мікроядрами не завжди співпадають із відмінностями за лейкоцитами із мікроядрами та двоядерними лейкоцитами. Враховуючи кількість клітин еритроїдного та лімфоїдного ряду з цитогенетичними порушеннями в межах груп коропа можна припустити, що досліджені групи риб характеризуються різним ступенем чутливості до дії мутагенів.

Для проведення цитогенетичного аналізу було взято дві групи дворічок строкатого товстолобика в кількості по 12 особин в кожній групі з державного виробничого сільськогосподарсько-рибоводного підприємства «Лиманське» Харківської обл. та дослідного підприємства «Галицький» Івано-Франківської обл..

Результати цитогенетичного аналізу показали, що товстолобик досліджуваних рибних господарств характеризується відносно низькими значеннями цитогенетичних порушень як в клітинах еритроцитів, так і в лейкоцитах (рис. 3.10).

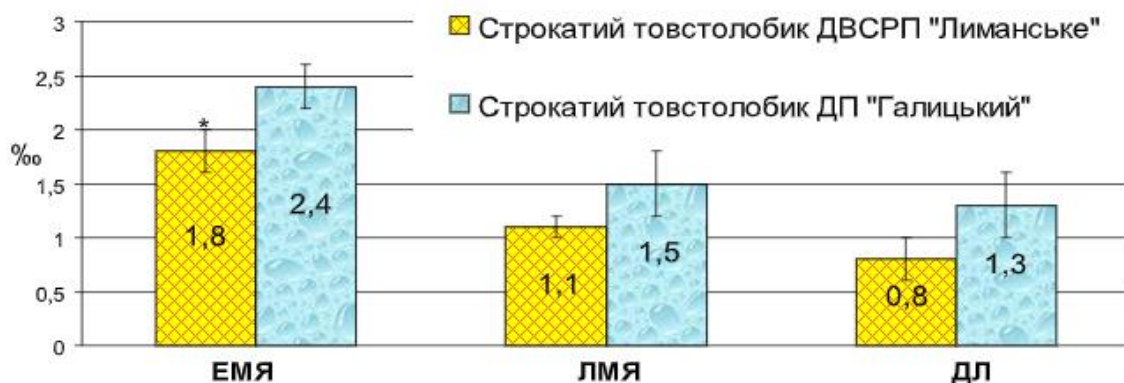


Рис.3.10. Рівень цитогенетичних показників дворічок строкатого товстолобика різних рибогосподарств

Встановлено, що група товстолобиків ДВSRП «Лиманське» характеризується нижчим рівнем ЕМЯ ( $1,8 \pm 0,2\%$ ), ЛМЯ ( $1,1 \pm 0,1\%$ ), ДЛ ( $0,8 \pm 0,2\%$ ). Статистично достовірні міжгрупові відмінності виявлено за частотою ЕМЯ ( $P < 0,05$ ). За частотою лімфоцитів з мікроядрами та двоядерних лімфоцитів суттєвих міжгрупових відмінностей не виявлено, проте оцінюючи сумарне значення цитогенетичних порушень в клітинах даного ряду, можна говорити про те, що на імунну систему

групи з ДП «Галицький» здійснюється більший тиск зовнішніх чинників. Дослідження Т. Каваса в трьох різних зонах Середземного моря на клітинах периферійної крові сірої кефалі (*Mugil cephalus*) показали, що кількість клітин з мікроядрами значно вище в зоні, де зафіксовано високий рівень ароматичних вуглеводнів [73]. Ще одним підтвердженням доцільності використання мікроядерного тесту як біомаркеру забруднення водного середовища є результати мікроядерного аналізу в еритроцитах периферичної крові риби голянь (*Pimephales promelas*) у місці скидання відходів нафтохімічного комплексу де у риб було зафіксовано значне зростання цитогенетичних порушень [72].

Також важливим показником цитодиференціації клітин риб є апоптоз, частоти якого ми також враховували (табл. 3.4). На думку дослідників [75, 76], апоптоз є високорегульованою формою запрограмованої загибелі клітин з характерними морфологічними, біохімічними та генетичними ознаками, результатом якої є кінцева мета - загибель генетично дефектної клітини.

Таблиця 3.4.

Рівень апоптозу в клітинах периферійної крові строкатих товстолобиків  
ДВСРП «Лиманське» та ДП «Галицький»

| № особи                                 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | M±m,<br>‰ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|-----------|
| Строкатий товстолобик ДВСРП «Лиманське» | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4  | 4  | 4  | 3,6±0,2   |
| Строкатий товстолобик ДП «Галицький»    | 3 | 4 | 6 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 4,7±0,3   |

Встановлено, що група строкатого товстолобика ДП «Галицький» характеризується не лише вищими значеннями за результатами мікроядерного тесту, але і за частотою апоптозу ( $4,7 \pm 0,3\%$ ).

У риб апоптоз відіграє надзвичайно важливу роль у забезпеченні розвитку та функціонування імунної системи та має позитивну кореляцію з концентрацією канцерогенів у навколишньому середовищі. Тому, на наш погляд, відносно високі значення апоптозу в групі строкатого товстолобика ДП «Галицький» є результатом елімінації генетично дефектних клітин таким способом та свідченням менш

сприятливих умов розмноження в цьому господарстві порівняно з ДВSRП «Лиманське».

Загалом низькі значення цитогенетичних порушень у групах дворічного товстолобика за результатами мікроядерного тесту та аналізу частоти апоптозу свідчать про нижчий інтегрований генотоксичний ефект екзогенних та ендогенних факторів і, відповідно, про сприятливіші умови розмноження в фермерське господарство "Лиманське" Харківська обл. порівняно з ДП «Галицький» Івано-Франківської області.

### **3.4. Висновки до розділу**

Визначено основні цитогенетичних показники (еритроцити з мікроядрами - ЕМЯ, двоядерні лейкоцити - ДЛ, одноядерні лейкоцити з мікроядрами - ЛМЯ, апоптозні клітини - А і «амітозні» еритроцити) в клітинах периферійної крові за використання мікроядерного тесту.

Встановлено, що рамчастий короп статистично достовірно характеризується вищим рівнем цитогенетичних показників за кількістю ЕМЯ ( $3,9 \pm 0,2$  ‰). Спостерігали зниження кількості мікроядерних лейкоцитів ( $0,9 \pm 0,3$  ‰) та зростання апоптозів ( $1,9 \pm 0,3$  ‰). Виявлено, що при вирощуванні коропів в однакових умовах, групи лускатого коропа характеризуються нижчим рівнем дестабілізації генетичного апарату порівняно з рамчастим за всіма досліджуваними показниками.

Провівши порівняльний аналіз люблінських коропів з строкатими товстолобиками з державного виробничого сільськогосподарсько-рибоводного підприємства «Лиманське» Харківської обл. та дослідного підприємства «Галицький» Івано-Франківської обл., було з'ясовано, що кращим місцем для розведення коропових риб є база державного підприємства «Дослідного господарства Львівської дослідної станції» Інституту рибного господарства Національної академії аграрних наук України» у селі Великий Любін, Львівської обл.

## РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ

### 4.1 Небезпечні та шкідливі виробничі фактори при роботі у лабораторії

Проаналізувавши умови праці під час експериментальної частини дипломної роботи в лабораторії, ми можемо виявити низку шкідливих та небезпечних виробничих факторів, що впливають на здоров'я та ефективність людини. Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 працівник лабораторії зазнав дії фізично-хімічних небезпечних виробничих факторів. До фізичних належать підвищена температура повітря в робочій зоні, підвищений рівень шуму на робочому місці, недостатнє освітлення робочої зони. [54].

До хімічної безпеки належать хімічні речовини, що використовуються працівником згідно з ГОСТ 12.0.003-74 за характером впливу на організм людини поділяються на токсичні хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори, подразнюючі хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори.

- Підвищена температура повітря робочої зони. Джерелом цього фактора є термостати, автоклави, духовки, дистилятори та електроплити. У теплу пору року робота цих пристроїв призводить до підвищення температури повітря до 34-38 ° С при відносній вологості повітря 40-60%, що негативно впливає на організм робітника [55].

- Підвищений рівень шуму на робочому місці. Основними джерелами шуму в лабораторії є електричний термостат сухого повітря TS-80М, електрична сушильна шафа, побутовий холодильник. Нормативний рівень звуку згідно з ДСН 3.3.6.037-99 для приміщень, де виконуються висококваліфіковані роботи, вимірювальні та аналітичні роботи, становить 50 дБА [56].

- Недостатнє освітлення робочої зони. Це може бути спричинено відсутністю або недостатністю природного світла, нераціональним розташуванням світильників

та ламп штучного освітлення тощо. Нормативні значення освітленості робочих місць для різних видів робіт та відповідних зорових навантажень визначаються ДБН В.2.5.-28-2006 "Природне та штучне освітлення".

- Токсичні хімічні небезпечні і шкідливі виробничі фактори. До цієї групи хімічних факторів належить спирт метиловий, що використовувався для фіксування препарату під час виконання експериментальної частини дипломної роботи. Метиловий спирт належить до 3-го класу безпеки, а його ГДК у повітрі робочої зони (за ГОСТ 12.1.005-88) становить 0,5 мг/м<sup>3</sup>.

- Подразнюючі небезпечні і шкідливі виробничі фактори. До цієї групи хімічних факторів належать дезинфікуючі та мийні засоби, що використовуються для миття та дезинфекції обладнання та поверхонь.

#### **4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при роботі у лабораторії**

Зниження рівня впливу підвищеної температури. Нормалізація несприятливих мікрокліматичних умов у лабораторії здійснюється із застосуванням комплексу заходів та методів, до яких належать: будівельно-планувальні, організаційно-технологічні, санітарно-технічні та інші заходи колективного захисту. Для запобігання перегріванню та переохолодженню робітників використовуються засоби індивідуального захисту, медичні та біологічні тощо [57].

Оптимальна температура, значення якої відповідають вимогам ДСН 3.3.6.042-99 на робочому місці, досягається завдяки раціональному плануванню приміщень та оптимальному розміщенню обладнання з теплом, холодом та вологою. Для зменшення теплових навантажень на робітників передбачена максимальна механізація, автоматизація та дистанційне управління технологічними процесами та обладнанням [58].

Для зменшення впливу підвищених температур у приміщеннях з великими площами зашкленних поверхонь передбачені заходи захисту від перегріву під прямими сонячними променями в теплий період року (орієнтація віконних прорізів

схід - захід, встановлення жалюзі тощо). Коли температура внутрішніх поверхонь огорожувальних конструкцій перевищує допустимі значення, робочі місця повинні знаходитися на відстані не менше 1 м від них [56].

Природна вентиляція (аерація) використовується у виробничих приміщеннях із надлишком (явного) тепла. Аераційні ліхтарі та шахти розташовані безпосередньо над основними джерелами тепла на одній осі. У разі неможливості або неефективності аерації встановлюють механічну загальнообмінну вентиляцію. За наявності поодиноких джерел тепла обладнання обладнане місцевою витяжною вентиляцією у вигляді локальних витяжок, витяжних парасольок і т. д. У малогабаритних приміщеннях використовуються системи кондиціонування з індивідуальним регулюванням температури та обсягу подаваного повітря під час робіт [59].

Для підтримки комфортних умов праці в теплу пору року існує система кондиціонування повітря. Усі вищезазначені вентиляційні системи дозволяють підтримувати температуру та вологість повітря відповідно до вимог ДСН 3.3.6.042-99 Теплоізоляція передбачена в сушильній шафі та термостаті, щоб уникнути теплового опромінення лаборантів [60].

Контроль параметрів мікроклімату здійснюється за допомогою ряду вимірювальних приладів: температури повітря - термометра; відносна вологість - психрометр; швидкість руху повітря - анемометри; інтенсивність теплового випромінювання - актинометр або через температуру поверхні обладнання, виміряну дистанційно; барометричний тиск - барометр [61].

Зменшення наслідків підвищеного шуму. Відповідно до ГОСТ 12.1.029-80 для захисту від сильного шуму в лабораторії можна використовувати як колективні, так і індивідуальні заходи та засоби захисту [60]. Призначення засобів індивідуального захисту від шуму - перекрити найбільш чутливі канали проникнення звуку в організм - вуха. Такі засоби дозволяють одночасно запобігти розладу всієї нервової системи від дії інтенсивного подразника, яким є шум. Засоби захисту від шуму включають навушники, протишумові вставки, шумопоглинаючі шоломи [59].

Коллективний захист від шуму в лабораторії може бути досягнутий за рахунок зменшення шуму у джерела; шумозаглушення на шляху його розподілу та організаційно-технічні заходи [57].

Найбільш оптимальними заходами захисту від шуму, які можна використовувати в лабораторії, є організаційно-технічні засоби, що включають дотримання правил технічної експлуатації, планові профілактичні огляди та ремонти, а також віддалене розташування центрифуг та холодильників від робочих місць. Крім того, для боротьби з шумом у лабораторії пропонується ввести додаткові акустичні заходи - звукоізоляцію та звукопоглинання (встановлення звукоізоляційних кришок) [56].

Вимірювання та аналіз шуму проводиться за допомогою інтегруючого шумоміра 00026 "Роботрон".

Для створення сприятливих умов для зорової роботи освітлення робочих приміщень повинно відповідати таким умовам:

- рівень освітленості робочих поверхонь повинен відповідати гігієнічним нормам для даного виду робіт;
- слід забезпечити рівномірність і часову стабільність рівня освітленості в приміщенні, відсутність різких контрастів між освітленістю робочої поверхні та навколишнього простору, відсутність різких тіней на робочій поверхні;
- в полі зору об'єкта не повинен створювати сліпучий блиск;
- штучне світло, що використовується на підприємствах, за своїм спектральним складом має бути близьким до природного;
- не створювати небезпечних та шкідливих факторів (шум, теплове випромінювання, небезпека ураження електричним струмом, пожежі та вибуху);
- бути надійним, простим в експлуатації та економічним.

ДБН В.2.5-28-2006 встановлює нормативні значення для природного, штучного та комбінованого освітлення.

Щоб уникнути потрапляння хімічних речовин в організм людини, необхідно дотримуватися правил безпеки в хімічних лабораторіях. Також як додатковий запобіжний захід застосовуються засоби індивідуального захисту.

Щоб уникнути або зменшити шкідливий вплив хімічних речовин на організм дослідника, слід суворо дотримуватися таких заходів безпеки праці:

- перед початком робіт провести навчання на виробництві з підрядниками;
- спостерігати за повною герметичністю систем;
- здійснювати систематичний нагляд за роботою вентиляційних систем;
- роботи слід проводити лише у спеціальному одязі та спеціальному взутті з обов'язковим використанням засобів індивідуального захисту (спецодяг з кислотостійких тканин, бавовни, льняної тканини та гумових рукавичок, а для захисту очей - спеціальні окуляри тощо);
- забезпечити всі робочі місця необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин.

Спецодяг, взуття та засоби індивідуального захисту повинні повністю захищати людину від шкідливого впливу отруйних речовин [59].

#### 4.2.1. Розрахунок освітлення у лабораторії

Освітлення промислового виробництва є актуальною проблемою, оскільки від освітлення залежить правильність дослідження та отримання надійних результатів. Найпоширенішим методом є метод використання світлового потоку. Призначений для розрахунку загального рівномірного освітлення горизонтальних поверхонь за відсутності великих затінюючих предметів з урахуванням світла, відбитого стінами і стелею.

У методі коефіцієнта використання світлового потоку джерела розрахунок виконується за формулою (4.1):

$$F = \frac{E_n \cdot S \cdot Z \cdot K}{N \cdot n \cdot \eta}, \quad (4.1)$$

де, F – світловий потік лампи, лм;

$E_n$  – нормована освітлюваність, лк;

S – освітлювана площа, м<sup>2</sup>;



$K$  – коефіцієнт запасу, що враховує погіршення характеристик джерел при експлуатації;

$Z$  – коефіцієнт мінімальної освітленості;

$N$  – число світильників;

$n$  – кількість ламп у світильнику;

$\eta$  – коефіцієнт використання світлового потоку.

Коефіцієнт використання світлового потоку визначається по індексу приміщення  $i_n$  та коефіцієнтам віддзеркалення стелі, стін і підлоги по спеціальній таблиці.

Індекс приміщення розраховується за формулою (4.2) :

$$i_n = \frac{a \cdot b}{h(a + b)}, \quad (4.2)$$

де,  $a$  – довжина приміщення;

$b$  – ширина приміщення;

$h$  – висота розташування світильників.

Для розрахунку освітлення задаємо параметри приміщення:  $a = 6,1$  м,  $b = 5,5$  м,  $h = 2,6$ .

За формулою (4.2) визначаємо показник приміщення:

$$i_n = \frac{a \cdot b}{h(a + b)} = \frac{6,1 \cdot 5,5}{2,6 \cdot (6,1 + 5,5)} = 1,1$$

Для освітлення виберемо світильники серії ЛСП 01.

Прийнявши коефіцієнт віддзеркалення стелі рівним 50 %, по довіднику визначимо коефіцієнт використання світильника:  $\eta = 48$  %.

За формулою (4.1) знаходимо кількість світильників:

$$N = \frac{E_n \cdot S \cdot Z \cdot K}{F \cdot n \cdot \eta}, \quad (4.3)$$

Визначаємо коефіцієнти формули (4.3):

$E_n = 300$  лк (для середньої точності робіт при комбінованому освітленні);  
 $S = a \cdot b = 6,1 \cdot 5,5 = 33,55$  м<sup>2</sup>;  $Z = 1,1$  - коефіцієнт мінімальної освітленості для

люмінесцентних ламп;  $K = 1,25$  - коефіцієнт запасу для газонаповнених ламп;  $n = 2$  - кількість ламп у світильнику ЛСП 01;  $F = 3200$  лм - світловий потік лампи ЛБ 40 (по довіднику).

За формулою (4.3) знаходимо:

$$N = \frac{E_n \cdot S \cdot Z \cdot K}{F \cdot n \cdot \eta} = \frac{300 \cdot 33,55 \cdot 1,1 \cdot 1,25}{3200 \cdot 2 \cdot 0,48} \approx 4,5$$

Приймаємо для рівномірного освітлення 5 світильників в 3 ряди.

#### **4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки при роботі у лабораторії**

Причини пожеж та загорянь у гідрохімічній лабораторії можуть бути наступними:

- несправний пристрій або порушення режиму роботи систем опалення, вентиляції та кондиціонування;
- несправний пристрій або перевантаження електроустановок та мереж;
- самозапалювання та самозаймання речовин та матеріалів при неправильному зберіганні чи використанні;
- необережне поводження з вогнем (куріння у невстановлених місцях, необережне ведення вогневих робіт, залишення без нагляду електронагрівачів тощо).

До небезпечних факторів пожежі належать:

- відкритий вогонь або іскри;
- підвищена температура повітря, предметів тощо;
- токсичні продукти згоряння;
- дим (високодисперсний аерозоль з твердими частинками);
- знижена концентрація кисню;
- вибух.

Загальні вимоги до систем протипожежної охорони регулюються міждержавними стандартами системи стандартів охорони праці ГОСТ 12.1.004-91 та ГОСТ 12.1.010-76 та спеціальною нормативно-технічною документацією.

Для запобігання пожежі необхідно:

- використовувати електричні споживачі, шнури живлення яких мають триполюсну вилку з запобіжним з'єднанням заземлювального проводу;
- не підключати до електромереж споживачів, шнури живлення яких мають пошкоджену ізоляцію;
- не підключати до електричних споживачів, які пошкоджені або небезпечно підключені до шнура живлення, вилок, розеток та подовжувачів;
- не використовувати для опалення приміщень нестандартне (саморобне) електронагрівальне обладнання або лампи розжарювання;
- при використанні споживачами, які мають окремий незалежний провід заземлення, перед підключенням до електромережі для перевірки наявності та надійності підключеного проводу до відповідних клем;
- не замінювати пошкоджені електричні запобіжники, електричні лампи, не ремонтувати електричні споживачі та електромережу;
- не залишати без нагляду працюючих споживачів;
- наприкінці робочого дня вимкніть вимикач на споживачі та від'єднайте шнур живлення від мережі. Пам'ятайте, що при від'єднанні штепсельної вилки від розетки її слід утримувати за корпус, а не тягнути за шнур живлення, оскільки один з проводів може бути витягнутий і піддаватися дії електричного струму.

Для забезпечення пожежної та вибухобезпеки важливо підтримувати необхідний тепловий режим обладнання шляхом природної або механічної вентиляції, а також радіаторів спеціального призначення. Потрібно вжити низку заходів для забезпечення пожежогасіння. Сюди входять будівництво димових люків для видалення та обмеження розповсюдження диму, що виникає під час пожежі, будівництво спеціальних сходів, що забезпечують доступ до будівель, споруд та джерел води. Вогнегасники (піна, рідина, газ) застосовуються для гасіння пожеж [61].

У разі пожежі рекомендуються такі дії:

- вивести людей та майно із небезпечної зони;
- викликати пожежну охорону;

- вжити заходів щодо локалізації пожежі;
- по можливості вжити заходів до гасіння пожежі.

Вибухобезпека забезпечується встановленням мінімальної кількості вибухонебезпечних речовин, що використовуються в лабораторіях; використання обладнання, призначеного для вибухового тиску; застосування систем активного зменшення вибуху та засобів запобігання [59].

Для запобігання виникненню пожеж та вибухів необхідно виключити можливість утворення вибухонебезпечного середовища, підвищення температури та тиску середовища вище гранично допустимих значень горючості [57].

#### **4.4. Висновки до розділу**

Проаналізувавши умови праці при виконанні експериментальної частини дипломної роботи у лабораторії можна виділити ряд шкідливих та небезпечних виробничих факторів, які впливають на здоров'я і працездатність людини. Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 на працівника у лабораторії діяли фізичні та хімічні небезпечні виробничі фактори.

## РОЗДІЛ 5

### ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

#### **5.1. Моніторинг стану водних екосистем з використанням сучасних цифрових та інформаційних технологій**

Інтелектуальне управління водними ресурсами буде одним з ключових питань політики XXI століття, оскільки постачання мільйонів людей прісною водою все в більшій мірі знаходиться під загрозою. Економічне зростання, кліматичні умови і зростання населення - все це позначається на доступності водних ресурсів. Положення погіршується зважаючи на деякі наслідки зміни клімату, таких як тривалі посухи і екстремальні погодні явища [62].

Одним з основних завдань в галузі сталого розвитку, що стоїть як перед розвиненими, так і перед країнами, що розвиваються, є забезпечення надійного доступу всього населення до водопостачання і послуг санітарії. Це означає, що водними ресурсами необхідно управляти з обережністю. Своєчасна наявність інформації про умови в конкретній ситуації є вирішальним фактором для прийняття рішень в галузі управління водними ресурсами [63].

Для отримання в режимі реального часу інформації про використання води, для відстеження та прогнозування рівня води в річках, а також для виявлення нових джерел питної води можуть інноваційними способами використовуватися такі технології, як дистанційне зондування з супутника в поєднанні з мережею семантичних датчиків і географічними інформаційними системами (ГІС) [62].

Датчики та мережі зв'язку на основі веб-додатків дають можливість зацікавленим сторонам в області водопостачання отримувати практично в режимі реального часу інформацію про фізичні та природні зміни показників, таких як температура, рівень вологості ґрунту і кількість опадів [64].

"Розумні" вимірювальні технології також можуть забезпечувати приватним особам, комерційним підприємствам і компаніям, які займаються водопостачанням,

практично в режимі реального часу інформацію про їх власне водокористування, таким чином підвищуючи їх поінформованість про споживання, допомагаючи виявляти витoki та пропонуючи посилення контролю над попитом на водні ресурси [65].

Інформаційно-комунікаційні технології (ІКТ) є стратегічним чинником в процесі розробки інноваційних способів вирішення проблем нестачі води. Спрощуючи збір і аналіз даних про стан навколишнього середовища, ІКТ дозволяють дослідникам і кліматологам створювати більш точні моделі прогнозів погоди. Основні області, в яких ІКТ можуть відігравати ключову роль в управлінні водними ресурсами, представлені нижче [62].

Оцінка стану водних ресурсів та прогнозування погоди:

- Дистанційне зондування із супутників;
- Наземні сенсорні системи на місцях;
- Географічні інформаційні системи;
- Сенсорні мережі та інтернет.

Управління активами мережі розподілу водних ресурсів:

- Виявлення підземних ресурсів і їх електронна маркування;
- "Розумні" трубопроводи;
- Своєчасний ремонт / оцінка ризиків в режимі реального часу.

Створення систем раннього оповіщення і задоволення потреб у водопостачанні в містах майбутнього:

- Збір дощової / зливової води;
- Боротьба з паводками;
- Кероване поповнення запасів ґрунтових вод;
- "Розумне" регулювання подачі;
- Системи знань про процеси.

Своєчасна іригація в сільському господарстві та озелененні:

- Географічні інформаційні системи;
- Сенсорні мережі та інтернет.

Оскільки водні ресурси обмежені, органи управління водним господарством повинні мати можливість оцінювати поточний стан запасів води, щоб знати, як задовольняти потребу в водних ресурсах в майбутньому. Тому оцінка стану водних ресурсів стає все більш важливою справою для підприємств комунального водопостачання [63].

Системи ІКТ на основі радіотехнологій, такі як телеметричні датчики, є одним з основних джерел інформації про стан атмосфери Землі і навколишнього середовища. Технології дистанційного зондування в поєднанні з супутниковими системами радіозв'язку, глобальними системами визначення місцезнаходження (GPS) і ГІС допомагають знаходити нові джерела прісної води, створювати моделі зон басейнів водозбору і аналізувати проблеми навколишнього середовища [64].

Наукове прогнозування «метеорозумів» і моніторинг клімату отримують величезну вигоду від розвитку ІКТ, в першу чергу від системи Всесвітньої служби погоди Всесвітньої метеорологічної організації (ВМО). Система Всесвітньої служби погоди складається з трьох основних компонентів [65]:

Глобальна система спостереження веде високоякісні стандартизовані спостереження за атмосферою і поверхнею моря з усіх частин земної кулі і з космосу. В основі цієї системи лежить використання телеметричних датчиків (активних і пасивних) наземного і супутникового базування, використовуваних метеорологічними супутниковими службами, супутниковими службами дослідження Землі та допоміжними метеорологічними службами радіозв'язку. Ці служби відіграють важливу роль в справі моніторингу клімату та прогнозування погоди [65].

Глобальна система електровз'язку забезпечує в режимі реального часу обмін даними метеорологічних спостережень, аналізу, попередженнями та прогнозами між національними метеорологічними та гідрологічними службами [64].

Глобальна система обробки даних і прогнозування забезпечує метеорологічний аналіз, попередження і прогнози, які генеруються мережею Всесвітніх метеорологічних центрів і спеціалізованими регіональними метеорологічними центрами [64].

Сектор радіозв'язку МСЕ (МСЕ-R) як організація, що здійснює на міжнародному рівні управління використанням спектру, розподіляє необхідні радіочастоти для забезпечення вільної від перешкод використання цієї функції на основі радіотехнологій та систем радіозв'язку (наземних і космічних), які використовуються для моніторингу і прогнозування стану навколишнього середовища (включаючи воду) і клімату, прогнозування погоди, раннього попередження про бідування і їх виявлення [65].

Смуги частот, виділені службам радіозв'язку використовуються системами моніторингу навколишнього середовища, зазначені в Регламенті радіозв'язку, що має статус міжнародного договору. 7-а Дослідницька комісія МСЕ-R (Наукові служби) веде дослідження і розробляє серію Рекомендацій і Звітів МСЕ-R з дистанційного зондування (RS), які застосовуються для розробки і експлуатації систем радіозв'язку, що займаються моніторингом зміни клімату [63].

7-а Дослідницька комісія спільно з ВМО також розробила довідник МСЕ / ВМО "Використання радіочастотного спектру в метеорології: прогнозування і моніторинг погоди, клімату і якості води". В цьому довіднику дається опис сучасних радіотехнологій, приладів і методів, використовуваних системою Всесвітньої служби погоди [64].

Робота по стандартизації, що проводиться дослідними комісіями МСЕ-R, має ключове значення для розробки і використання:

- систем радіозв'язку (супутникових та наземних), які можуть використовуватися в надзвичайних ситуаціях для передачі інформації про стихійні і антропогенні лиха;

- метеосупутників, які стежать за розвитком природних явищ, таких як урагани і тайфуни;

- радарних систем, які відстежують метеоумови (наприклад, торнадо і грози) і такі явища, як виверження вулканів і лісові пожежі;

- допоміжних метеорологічних систем на основі радіотехнологій, які збирають і обробляють метеорологічні дані [65].



Визнаючи, що радіочастотний спектр є ключовим ресурсом дистанційного зондування, проведеного Глобальною системою спостереження, Всесвітня конференція радіозв'язку 2007 року (ВКР-07) розподілила додатковий спектр службам радіозв'язку, зайнятим спостереженнями за навколишнім середовищем, і запропонувала МСЕ-R провести нові дослідження для подальшого розвитку додатків і систем дистанційного зондування відповідно до Резолюції 673 (ВКР-07) "Використання радіозв'язку для застосувань спостереження Землі" [63].

З метою вдосконалення моніторингу стану навколишнього середовища МСЕ створює і зміцнює партнерські відносини з ВМО та іншими установами Організації Об'єднаних Націй, міжнародними та національними організаціями, а також неурядовими організаціями та організаціями приватного сектора, що займаються моніторингом зміни клімату [65].

В рамках Сектора стандартизації МСЕ (МСЕ-Т) 15-а Дослідницька комісія розробила специфікації домашніх мереж для продуктів "розумних" електромереж під маркою МСЕ-Т G.hnem. Ця марка є новим проектом "Пов'язані зі створенням домашніх мереж аспекти управління енергопостачанням", до здійснення якого приступили в січні 2010 року МСЕ-Т і Група по спільній координаційній діяльності в домашніх мережах (JCANH). Основна мета цього проекту полягає у визначенні побутових мережевих пристроїв малої складності для автоматизації побуту, контролю в житлових приміщеннях, електромобілів і додатків "розумних" електромереж. Серед додатків "розумних" електромереж, які отримують користь від цієї марки, такі:

- програми управління попитом на основі комунальних служб через широкосмугові інтернет-з'єднання або системи розвинутої інфраструктури вимірювань (AMI);
- дистанційне виявлення і усунення несправностей для мінімізації витрат;
- підтримка систем управління попитом в режимі реального часу, які забезпечують користувачам компенсацію в залежності від їх споживання;
- гнучкий контроль над пристроями для зниження енергоспоживання в періоди пікового навантаження [64].

У лютому 2010 року МСЕ-Т створив Оперативну групу по "розумним" електромережам для визначення потенційного впливу на розробку стандартів в цій галузі (наприклад, ІКТ та зміна клімату) і розгляду питань майбутніх досліджень в підтримку розвитку "розумних" електромереж [65].

Для управління ресурсами компаніям, які займаються водопостачанням, потрібно мати карти мереж розподілу води. Наявність таких карт в електронному форматі, а не на папері дозволяє компаніям, які займаються водопостачанням, проводити аналіз більш високого рівня і реагувати швидше. З огляду на те, що вже ведеться робота по стандартизації мови географічної розмітки (GML) і геопросторової сітки, інформацію про розподіл води також можна надавати через інтернет за допомогою мобільних засобів. Це дозволяє працівникам на місцях мати більш оперативний доступ до інформації про експлуатацію і технічне обслуговування [64].

Міста, розташовані в низинах поблизу морського узбережжя або дельти річок, стикаються з небезпекою паводків. Ці райони часто захищені водоутримуючою системою (дамбами) [63].

Системи раннього попередження відіграють важливу роль у пом'якшенні ризиків завдяки ранньому виявленню умов, які можуть призвести до небезпеки, і надання в режимі реального часу інформації під час таких подій. Датчики також можуть бути корисні для моніторингу структурної цілісності насипів і дамб. Здатність прогнозувати, чи зможе водоутримуюча система витримати зростаючий натиск води, що піднімається, дуже важлива, для того щоб в разі потреби мати достатньо часу для великомасштабної евакуації населення. Наприклад, в Нідерландах працюють над будівництвом "розумних" дамб (дамби з вбудованою мережею бездротових датчиків) [65].

Шляхом оцифрування, отриманої з супутників дистанційного зондування інформації про географію і гідрологію Землі, можна проаналізувати дані по таких аспектах, як структура гірських порід, землекористування і водозбірні басейни, в контексті стану рівня ґрунтових вод і кількості опадів. Це дозволяє складати зведені карти із зазначенням підходящих місць для будівництва штучних споруд

поповнення запасу ґрунтових вод. Наприклад, у 2008 році за рахунок керованого поповнення запасів ґрунтових вод в Австралії іригаційні ресурси поповнилися на 45 гігалітрів, а ресурси міського водопостачання - на 7 гігалітрів [64].

Інтелектуальна технологія подачі води може дати можливість компаніям комунального водопостачання точніше відстежувати водокористування на рівні споживачів і впроваджувати плани встановлення цін на воду для заохочення економного використання. Замість того щоб отримувати рахунки за воду в кінці кварталу або місяця, споживачі зможуть відстежувати своє споживання води в режимі реального часу і таким чином мати можливість набагато раніше приймати заходи в разі витоків [63].

Країни, що розвиваються втрачають до 50 відсотків очищеної води в результаті протікання в системі розподілу води або крадіжки. Таку втрату можна було б запобігти, використовуючи більш досконалі методи обліку. У розвинених країнах установка в будинку лічильника, що дозволяє жителям бачити, скільки води вони використовують, може знизити споживання приблизно на 10 відсотків [64].

Використання ІКТ також може сприяти більш раціональному водоспоживанню виробничими підприємствами. Кожне виробниче підприємство, будь то сталеливарний завод, виробництво паперу, видобуток нафти або виробництво мікросхем, в тому чи іншому обсязі використовує воду в своїй роботі. Технічна вода необхідна тим компаніям, які її застосовують. Наприклад, на багатьох промислових підприємствах потрібні системи водяного охолодження [63].

Правильна робота системи водоохолодження забезпечує мінімізацію впливу загальних експлуатаційних витрат, пов'язаних зі споживанням води та електроенергії, хімічними продуктами і скиданням відпрацьованих вод. Програмне забезпечення процесу може використовуватися для управління автоматизованими системами і системами контролю, включаючи системи контролю турбіни, які допомагають поліпшити показники роботи підприємства і таким чином оптимізувати водоспоживання. Ці системи також постачають в режимі реального часу інформацію про стан на поточний момент, посилаючи сигнали попередження про потенційно небезпечні події [63].

На світове сільське господарство припадає приблизно 70 відсотків усього водокористування. Знання точного часу поливу і потрібного обсягу використаної води є ключем до запобігання втрат води. На посівах і в ґрунті можливе розміщення бездротових датчиків для моніторингу рівнів вологості і вмісту вологи в ґрунті. Такі датчики можуть автоматично приводити в дію систему зрошення на основі виникаючих потреб [65].

При наявності інтернет-з'єднання датчики, які відстежують такі дані, як вміст вологи в ґрунті, утримання вологи посівами, інформацію про погоду і характеристики рослин, дозволяють дистанційно керувати системою. Така мережа датчиків також застосовується при озеленювальних роботах і догляді за спортивними спорудами, наприклад на футбольних полях і полях для гольфу [64].

ІКТ можуть принести істотну користь водоохоронним органам при оцінці і моніторингу стану водних ресурсів, а також при прогнозуванні річкових потоків і забезпечення раннього попередження про надзвичайні ситуації, пов'язаних з водою, наприклад повеней [63].

Зокрема "розумні" технології дозування подачі води будуть мати велике значення для визначення споживання води в режимі реального часу, виявляючи протікання на рівні споживача і змушуючи споживачів свідоміше ставитися до споживання води. Коло ведення Оперативної групи МСЕ-Т по "розумним" електромережам цілком може бути розширено шляхом включення в нього технологій дозованої подачі води. З огляду на розробки датчиків "під'єднуй і працюй", семантичної мережі датчиків, георешітки, географічного тривимірного моделювання та засобів рухомого зв'язку, в цій області є величезний потенціал для водоохоронних органів, і можуть з'явитися нові області для роботи зі стандартизації 16-й Дослідницької комісії МСЕ-Т у співпраці з іншими органами стандартизації, такими як Відкритий геопросторовий консорціум (OGC). Консорціум World Wide Web (W3C) та Інститут інженерів з електротехніки та електроніки (IEEE) [63].

Наприклад, 5-а Дослідницька комісія МСЕ-Т (Навколишнє середовище та зміна клімату) могла б працювати в тісному контакті з ISO та Мережею водного сліду (WFN), щоб займатися розробкою типових стандартів, які дозволять країнам

зрозуміти, як їх політика управління водними ресурсами впливає на водні та енергетичні "сліди". Це питання безпосередньо пов'язане з новим Питанням 23 5-й Дослідницької комісії МСЕ-Т "Використання ІКТ для забезпечення можливості адаптації країн до зміни клімату" [64].

Щоб досягти цілей розвитку тисячоліття з водопостачання, країни, що розвиваються могли б використовувати кошти ГІС для прийняття більш продуманих рішень в галузі управління водними ресурсами. Але у багатьох з цих країн не вистачає коштів і ноу-хау для стратегічного застосування засобів ГІС. Це ще один прояв "цифрового розриву" [63].

## **5.2. Висновки до розділу**

Таким чином, можна зробити висновок, що використання інформаційно-комунікаційних технологій спрощує збір, нагромадження та аналіз даних, що, у свою чергу, підвищує ефективність управління природними ресурсами середовища.

## ВИСНОВКИ

1. Визначено основні цитогенетичних показники (еритроцити з мікроядрами - ЕМЯ, двоядерні лейкоцити - ДЛ, одноядерні лейкоцити з мікроядрами - ЛМЯ, апоптозні клітини - А і «амітозні» еритроцити) в клітинах периферійної крові за використання мікроядерного тесту.

2. Встановлено, що рамчастий короп статистично достовірно характеризується вищим рівнем цитогенетичних показників за кількістю ЕМЯ ( $3,9 \pm 0,2 \%$ ) в порівнянні з лускатим коропом. Спостерігали зниження кількості мікроядерних лейкоцитів ( $0,9 \pm 0,3\%$ ) та зростання апоптозів ( $1,9 \pm 0,3\%$ ).

3. Виявлено, що при вирощуванні коропів в однакових умовах, групи лускатого коропа характеризуються нижчим рівнем дестабілізації генетичного апарату порівняно з рамчастим за всіма досліджуваними показниками.

3. Встановлено, що група строкатого товстолобика ДП “Галицький” характеризується не лише вищими значеннями за результатами мікроядерного тесту, але і за частотою апоптозу ( $4,7 \pm 0,3\%$ ).

4. Встановлено, що група строкатих товстолобиків ДВСРП “Лиманське” характеризується нижчим рівнем за всіма цитогенетичними показниками порівняно з групою ДП “Галицький”. Статистично достовірні міжгрупові відмінності виявлено за частотою ЕМЯ ( $P < 0,05$ ) та апоптозів ( $P < 0,01$ ).

5. Встановлено, що у весняний період досліджувані групи коропів характеризувались вищими значеннями цитогенетичних показників. Отже результати досліджень показують, що мікроядерний тест на рибах є біомаркером фізіологічного стану об'єктів аквакультури та може використовуватися для моніторингу генотоксичності водних екосистем в різні сезони.

## СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сніжко С.І. Оцінка та прогнозування якості природних вод. / Сніжко С.І.. - Київ: Ніка-Центр, 2001. - 262 с.
2. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями / В.Д. Романенко, В.М. Жукинський, О.П. Оксіюк та ін. - К.: Символ - Т, 1998. - 28 с.
3. Інструкція про порядок розробки та затвердження гранично допустимих скидів (ГДС) речовин у водні об'єкти зі зворотними водами: Затв. наказом Мін. охорони навколишнього природного середовища України 15.12.94 р. № 116. - К., 1994. - 79 с.
4. Біохімічні механізми апоптозу: навч. посібник / Остапченко Л.І., Синельник Т.Б., Рибальченко Т.В., Рибальченко В.К. - К.: ВПЦ «Київський університет», 2010. - 312 с.
5. Майборода А. А. Апоптоз – гены и белки / А. А. Майборода // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – № 3, 2013. – С. 130 – 135 с.
6. Statistical analysis of data in mutagenicity assays: rodent micronucleus assay // M. Hayashi, S. Hashimoto, Y. Sakamoto // Environmental Health Perspectives. -1994. -V. 102 (1). -P. 49-52.
7. Matter B. Trenimon-induced chromosomal damage in bone-marrow cells of six mammalian species, evaluated by the micronucleus test // B. Matter, W. Schmid // Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. -1971.- 12(4). - R. 417-425.
8. Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень. Теорія, методи, практика використання. - Львів: Світ, 1995. - 438 с.
9. Романенко В.Д. Основи гідроекології / В.Д. Романенко - К.: Обереги, 2001. - 726 с.
10. Вернадский В.И. Биосфера / В.И.Вернадский - Т.1, Т.2. - Л., 1926.

11. Строганов Н.С. Действие сточных промышленных вод на водные организмы / Н.С.Строганов, А.Т.Пажитков - М.: МГУ, 1941. - 88 с.
12. Коштянец Х.С. Основы сравнительной физиологии. Т.1 / Х.С.Коштянец - М.-Л., 1951. - 524 с.
13. Виноградов В.П. Введение в геохимию океана / В.П.Виноградов. - М.: Наука, 1967. - 212 с.
14. Карпюк М.И. Теория биосорбции водных животных (научные основы и практическое использование) / М.И.Карпюк, И.А.Зубченко, А.Ф.Сокольский - Астрахань, 2002. - 333 с.
15. Романенко В.Д. Роль отдельных органов в механизмах регуляции обмена цинка у рыб / В.Д.Романенко, Т.Д.Малыжева, Н.Ю.Евтушенко // Гидробиол. журн., 1985. - Т.21. №3. - С.57-62.
16. Бурдин К.С. Основы биологического мониторинга / К.С.Бурдин. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. - 158 с.
17. Филенко О.Ф. Загрязнение металлами / О.Ф.Филенко, В.Г.Хоботьев // Общая экология, биоценология, гидробиология, 1976. - Вып.3. - С.110-145.
18. Метелев В.В. Водная токсикология / В.В.Метелев, А.И.Канаев, Н.Г.Дзасохова. - М.: Колос, 1971. - 247 с.
19. Шеханова И.А. Биологические и рыбохозяйственные аспекты нормирования содержания радиоактивных веществ в водной среде / И.А.Шеханова - М., 1975. - 32 с.
20. Шеханова И.А. Радиоэкология рыб / И.А.Шеханова - М: Наука, 1983. - 208с.
21. Богоявленская М.П. Изучение кальциевого обмена с целью использования Са45 в качестве метки для рыб / М.П.Богоявленская // Рыбное хозяйство. - М., 1959. - 55 с.
22. Matthiessen P., Brafield A.E. The effect of dissolved zink of the gills of the stickleback *Gasterosteus aculeatus* (L.) // J. Fish. Biol., 1973. - 5. №5. - P. 607-613.
23. Карзинкин Г.С. Использование радиоактивных изотопов в рыбном хозяйстве / Г.С.Карзинкин - М.: Пищепромиздат, 1962. - 72 с.



24. Лебедева Г.Д. Пути поступления  $^{65}\text{Zn}$  в организм пресноводных бентосоядных рыб / Г.Д.Лебедева, Г.А.Кузнецова // Биол. науки, 1967. - С.62-65.
25. Лебедева Г.Д. Основные пути миграции  $^{89}\text{Sr}$  в организм бентосоядной рыбы в условиях пресноводного водоема / Г.Д.Лебедева // Радиобиология, 1962. - Т.2, вып.1. - С.43-49.
26. Yedeler A. Anreicherung und Elimination von Zink in Pflanzensedimenten und Fischfleisch // Dipl. Arb. Berich. Biologil. München, 1977. - S.24-25.
27. Кизеветтер И.В. Биохимия сырья водного происхождения / И.В. Кизеветтер - М.: Пищепромиздат, 1973. - 423 с.
28. Хайлов К.М. Экологический метаболизм в море / К.М.Хайлов - К.: Наукова думка, 1971. - 252 с.
29. Хайлов К.М. Включение растворенных органических метаболитов в питание животных / К.М.Хайлов, В.А.Вайчюлис // Биохимическая трофодинамика в морских прибрежных экосистемах. - К.:Наукова думка, 1974. - С.66-93.
30. Zadovnik N. The uptake of the isotope  $^{65}\text{Zn}$  by the fish Pagelfood // Bull. scient. Cons. Acad. Sci. et arts. RSTI, 1968. - A 13, №7. - P.239- 243.
31. Spry D.J., Wood C.M. The influence of dietary and waters borne Zinc on heat-stable metal ligands in rainbow-trout, *Salmo gairdneri* Rich.: quantification by  $^{109}\text{Cd}$  radioassay and evaluation of the assay // J.Fish.Biol., 1989. - 35, №4. - P.557-576.
32. Серков В.М. Структурные и функциональные особенности хлоридных клеток жаберного эпителия дальневосточной красноперки *Trybolodon brandti* (сем. Cyprinidae), адаптированных к воде различной солености / В.М.Серков, М.С.Корниенко // Научные труды I Съезда физиологов стран СНГ. Сочи, Дагомыс (18–23 сентября 2005 г.). - М.: Медицина-здоровье, 2005. - С. 97.
33. Verbost P.M., Van Rooil J., Flik G. at al. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport // J. Exp. Biol., 1989. - 145:185 - P. 197.
34. Карандеева О.Г. Процессы, обеспечивающие осморегуляцию у водных беспозвоночных / О.Г.Карандеева // Физиология морских животных. - М.: Наука, 1966. - С. 176-232.

35. Truhaut R. Ecotoxicology - a new branch of toxicology // Ecological toxicology research (Eds. by A.D. McIntyre and C.F. Mills), 1975, Proc. NATO Science Comm. Conf., Quebec, May 6-10, 1974, Plenum Press, New York. 323 pp.
36. Ершов Ю.А. Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю.А.Ершов, Т.В.Плетнева - М.: Медицина, 1989. - 272 с.
37. Романенко В.Д. Роль отдельных органов в механизмах регуляции обмена цинка у рыб / В.Д.Романенко, Т.Д.Малыжева, Н.Ю.Евтушенко // Гидробиол. журн., 1985. – Т.21. №3. – С.57-62.
38. Tomijama T., Ishio S., Kobayashi K. Absorption by *Carassius auratus* of  $^{45}\text{Ca}$  contained in *Rhizodrilus limasus*. Res. // Effects and influences Nuclear Bomb Test Explosions. 2. Ueno, Tokyo. – 1956. – P.13-19.
39. Краюхин Б.В. Физиология пищеварения пресноводных костистых рыб / Б.В.Краюхин – М.-Л.: Изд.АН СССР, 1963. – 129 с.
40. Остроумов С.А. Биологические эффекты поверхностно-активных веществ в связи с антропогенными воздействиями на биосферу / С.А.Остроумов - М.: МАКС-Пресс, 2000. – 116 с.
41. Foulquier L., Assalin D., Grauby A. Absorption et desorption du manganese par *Cyprinus carpio* (L.) eludices a Faide du manganese / International Assotiation of Theoretical and Applied Limnology, 1972. - Vol.18. – P.54.
42. Риш М.А. Биологическая роль микроэлементов / М.А.Риш – М.: Наука, 1983. – 17 с.
43. Bernhardt J., Neumann E. Analysis of gated flux from or into sealed membrane Fragments // J. theor. Biol., 1986. – P.649-661.
44. Бурлакова Е.Б. The Effect of Inhibitors of Radical Reactions of Lipid Oxidation on Electrical Activity of Isolated Neuron of the Edible Snail / Бурлакова Е.Б., Греченко Т.Н., Соколов Е.Н., Терехова С.Ф. // Биофизика, 1986. - Т.31, № 5. – С.921-923.
45. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов / А.А.Болдырев – М.: Изд-во Моск.ун-та, 1985. – 208 с.
46. Голиков С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н.Голиков, И.В.Саноцкий, Л.А.Тиунов. – Л.:Медицина, 1986. – 280с.

47. Куценко С.А. Основы токсикологии / С.А.Куценко – Санкт-Петербург, 2002. – 395 с.
48. Беспалова Л.Е. Водна токсикологія: навчальний посібник / Л.Е.Беспалова, В.В.Оліфіренко, А.В.Рачковський – Херсон: ВЦ «Колос», 2011. – 131 с.
49. Ялынская Н.С. Накопление микроэлементов и тяжелых металлов в растениях рыбоводных прудов / Н.С.Ялынская, А.Г.Лопухин // Гидробиологический журнал, 1993. – Т.29, №5. – С.40-45.
50. Лукьяненко В.И. Токсикология рыб / В.И.Лукьяненко – М.: «Пищевая промышленность», 1967. – 216 с.
51. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология / В.И.Лукьяненко – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 320 с.
52. Филенко О.Ф. Основы водной токсикологии / О.Ф.Филенко, И.В.Михеева – М.: Колос, 2007. – 144 с.
53. Романенко В.Д. Основи гідроекології / В.Д.Романенко - К.: Обереги, 2001. – 726 с.
54. Міждержавний стандарт ГОСТ 12.0.003-74 (1999) ССБТ Опасные и вредные производственные факторы. Классификация.
55. ГОСТ 12.0.003-74. Система стандартов безопасности труда. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация.
56. Постанова № 42 від 01.12.99 - Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень ДСН 3.3.6.042-99.
57. ДСН 3.3.6.037-99. Санітарні норми виробничого шуму, ультразвук та інфразвук.
58. ГОСТ 12.1.029-80 “Система засобів безпеки праці. Засоби і методи захисту від шуму. Класифікація”.
59. ДБН В.2.5-28-2006 Природне і штучне освітлення.
60. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях / С. Г. Дроздов, Н. С. Гарин, Л.С. Джинджоян, В.М. Тарасенко. – АМН СССР. – М.: Медицина, 1987. – 256 с.

61. Запорожець О.І., Протосерейський О.С., Франчук Г.М., Боровик І.М. Основи охорони праці. Підручник. – К.: Центр учбової літератури, 2009. – 264 с.
62. Адаменко О.М. Екологічний аудит територій: Підручник /О.М. Адаменко, Л.В. Міщенко Л.В. – Івано - Франківськ: Факел, 2000. - 342 с.
63. Красовський Г.Я. Інформаційні системи тематичної обробки геоданих в завданнях моніторингу довкілля і природних ресурсів на регіональному рівні /О.М. Трофимчук, Г.Я. Красовський// Матеріали наради «Можливості супутникових технологій і сприянні вирішення проблем Харківщини». – Харків, 2009, – С. 65-68.
64. Триснюк В.М. Екологія Гусятинського району /В.М. Триснюк. – Тернопіль: Тернограф, 2004.-219с.
65. Гуменюк Г.Б. Сезонна міграція міді, кобальту, кадмію та свинцю в екосистемі Тернопільського ставу / Г.Б. Гуменюк, В.В. Грубінко // Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія: період. наук. зб. Київ. ун-ту. – К.: Ніка-Центр. – 2001. – Т.2. – С. 745-753.
66. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность [Н. Н. Ильинских, В. В. Новицкий, Н. Н. Ванчугова и др.]. – Томск : Изд-во ТомГУ, 1992. - 272 с.
67. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future / J. A. Heddle, M. C. Cimino, M. Hayashi [et al.] // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 1991. – Vol. 18, iss. 4. – P. 277– 291.
68. Архипчук В. В. Исследования в области цитогенетики рыб и биотестирования : [сборник научных трудов] / В. В. Архипчук ; сост. : М. В. Малиновская, В. И. Архипчук. – К. : Реликвии, 2008. – 536 с.
69. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes / Clarice Torres de Lemos , Patrícia Milan Rödel , Nara Regina Terra [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety . – 2007. – Vol. 66, Iss. 3 . – P. 391– 401.
70. Serap Ergene-Gozukara. Cytogenetic Analysis of a Mediterranean Gobiid Fish *Gobius paganellus* L. from Turkey / Serap Ergene-Gozukara, Tolga Cavas // Folia biologica (Kraków). – 2002. – Vol. 50, № 1–2. – P. 5–8.

71. Кузина Т. В. Анализ патологических форм эритроцитов крови судака (*Stizostedion lucioperca*) Волго-Каспийского канала / Т. В. Кузина // *Фундаментальные науки и практика*. – 2010. – Т. 1, № 1. – С. 37–41.
72. Изюмов Ю. Г. Количество микроядер в эритроцитах периферической крови плотвы *Rutilus rutilus* и леща *Abramis brama* Рыбинского и Горьковского водохранилищ / Ю. Г. Изюмов, М. Г. Таликина, Ю. В. Чеботарева // *Биология внутренних вод*. – 2003. – № 1. – С. 98–101.
73. Fish as bioindicators to assess the effects of pollution in two southern Brazilian rivers using the Comet assay and micronucleus test / V. M. Andrade, J. Silva, F. R. Silva [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2004. – Vol. 44. – P. 459–468.
74. Tolga Cavas. Micronucleus test in fish cells: a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment / Tolga Cavas, Serap Ergene-Gozukara // *Environmental and Molecular Mutagenesis*. – 2005. – Vol. 46, № 1. – P. 64–70.
75. Давыдов О. Н. Патология крови рыб / Давыдов О. Н., Темниханов Ю. Д., Куровская Л. Я. – К. : ИНКОС, 2006. – 206 с.
76. Варга О. Ю. Что такое апоптоз и что дает знание о нем / О. Ю. Варга, В. А. Рябков // *Экология человека*. – 2006. – № 7. – С. 28.
77. Williams G. T. Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death / G. T. Williams, C. A. Smith // *Cell*. – 1993. – Vol. 74, № 5. – P. 777–779.