

**МЕТОДИКА САНІТАРНОЇ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ
МОРСЬКИХ РИБНИХ ПРОДУКТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ
БІОТЕСТ-ОБ'ЄКТІВ**

Маменко О.М., д. с.-г. н., професор,
Харківська державна зооветеринарна академія
Болдирєв Д.А., к. с.-г. н., мол. наук. співробітник,
Болдирєв А.Д., заст. директора,
Гуріна Л.М., науковий співробітник
*Кримська дослідна станція (м.Сімферополь) ННЦ «Інститут
експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»*

Анотація. Санітарна оцінка рибної продукції базується на оцінці впливу випробуваної рибної продукції на індивідуальні лінії лабораторної культури гідробіонтів. В якості біотест-об'єкта використовували галабіонтного рачка *Artemia salina* (L). Критерієм токсичності проби рибної продукції є загибель гідробіонтів в порівнянні випробуваної пробою і контролем. При цьому виділяли наступні стадії токсичності: гостру, яка настає через 24 години, підгостру (48-72 години) і хронічну (96 годин), що й відображає швидкість реакції біотестів на зовнішній вплив.

Ключові слова: біотест-об'єкт, артемія, рибна продукція, гостра, підгостра, хронічна стадія, дослід, контроль.

Актуальність теми та досліджень. Якість риби та інших водних організмів характеризується їх хімічним складом, фізичними та органолептичними властивостями, а також біологічною цінністю.

Застосування в практиці непрямих методів (хімічних та фізичних) часто показує результати, що не співпадають з даними біологічної оцінки, проведеної безпосередньо на живому організмі. Використання солонувато-водної коловертки *Brachionus plicatilis* Muller і галобіонтного рачка *Artemia salina* (L) для токсико-біологічної оцінки обумовлено тим, що в більшості випадків цей біотест-організм реагує на вплив хімічних і біологічних факторів адекватно вищим тваринам.

Переваги методу з біотест-об'єктами цих видів гідробіонтів перед аналогічними методами з використанням вищих тварин полягають в наступному:

- вищі тварини споживають лише той продукт, який їм необхідний. Коловертки і рачки артемії можуть використовувати додаткову або надмірну їх потребам кількість продукту, що впливає на них ззовні;

- через більш високу інтенсивність обміну речовин коловертки і рачки артемії швидше реагують на шкідливі включення;
- можлива одночасна постановка великої кількості проб;
- простота, низька вартість, компактність, професійна нешкідливість методу, дозволяє легко виявити основні токсиканти по біотесту.

Методи біотестування засновані на використанні біотест-об'єктів, за допомогою яких можна адекватно оцінити наявність токсикантів в рибній продукції. Гідробіонти, котрих використовують як біотест-об'єкти, чутливі до всіх гідрохімічних показників, в тому числі і до мінерального складу вод (солоності). Використання при біотестуванні морської рибної продукції олігогалобів в якості тест-об'єктів призводить до спотворення результатів морської рибної продукції. Необхідний пошук біотест-об'єктів, що підходять для оцінки якості риби, виловленої з морського середовища різних рівнів солоності (мінералізації), тобто гідробіонтів евригалінії, які відповідають, критеріям вибору видів-індикаторів для методів біотестування (біоіндикації).

Мета цих досліджень є вдосконалення методичної бази біотестування токсичного забруднення рибної продукції, здійснюваного в рамках моніторингових досліджень. Удосконалення методичної бази біотестування у разі розширення кола біотест-об'єктів, що відповідають основним критеріям видів - біоіндикаторів. Врахування специфіки оцінки якості виловленої риби з різних зон солоності і зон змішування морських і річкових вод дозволяє отримати якісну та достовірну інформацію.

Методику розроблено вперше на основі власних досліджень, а також даних літератури, при цьому враховані нормативно-методичні документи та стандарти, що мають зв'язок з досліджуваною проблемою.

МЕТОДИКА САНІТАРНОЇ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ МОРСЬКИХ РИБНИХ ПРОДУКТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕСТ-ОБ'ЄКТІВ.

1. ГАЛУЗЬ ЗАСТОСУВАННЯ

Дані рекомендації встановлюють методи біотестування та вимоги до порядку проведення та оцінки токсичного забруднення рибної продукції в складі системи моніторингу.

Рекомендації також можуть бути використані в якості методичного посібника спеціалістами ветеринарної медицини, санітарної служби, біологами і екологами.

2. НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

У цих методичних рекомендаціях є посилання на такі нормативні документи:

ГОСТ 7631-85 «Риба, морські ссавці, морські безхребетні і продукти їх переробки. Правила приймання, органолептичні оцінки якості, методи

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

відбору проб для лабораторних випробовувань».

ГОСТ 7636-85 «Риба, морські ссавці, морські безхребетні і продукти їх переробки, методи аналізу».

ГОСТ Р 50380-2005 «Риба, нерибні об'єкти і продукція з них. Правила приймання і методи відбору проб».

МБТ 5061-89 «Медико-біологічні вимоги і санітарні норми якості продовольчої сировини і харчових продуктів».

ДСТУ 3403-96 «Продукція рибної промисленности. Класифікація. Номенклатура показателів якості».

МР 4.4.4-108-2004 Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 539 від 02.07.2004. Порядок та періодичність контролю продовольчої сировини та харчових продуктів за показниками безпеки, методичні вказівки №5 от 08.2007/1232.

ДСТУ 2284-93 «Рыба живая. Общие технические условия».

2.2.Посилання на інші стандарти (технічні умови) наведено в підрозділах.

3. ДОВІДКОВІ МАТЕРІАЛИ (додатки А; Б; В; Г; Д)

4. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

4.1. Оцінку токсичного забруднення риб і інших гідробіонтів проводять методами біотестування з використанням набору біотестів (методик), що містять різні тест-об'єкти і показники.

4.2. В якості тест-об'єктів для оцінки токсичного забруднення рибної продукції використовують гідробіонтів тваринного походження, котрі за своїми екологічними особливостями належать виключно до груп мезо- та полігамних видів. Екологічна валентність видів гідробіонтів в залежності від середовища існування в додатку (А).

4.3. Набір біотестів (методик) повинен включати різні тест-об'єкти, бажано, представників різного трофічного і системного рівня, наприклад: мікроводорості, інфузорії, коловертки, рачки, риби і т.д.

Реакція тест-об'єктів з різною чутливістю до одного і того ж впливу дає можливість отримувати більш об'єктивну оцінку токсичного забруднення.

4.4. Набір біотестів (методик) різних тест-реакцій одного тест-об'єкту повинен включати декілька показників токсичності. Наприклад, використовуючи коловерток, оцінюють їхню харчову активність, плодючість, загибель. Відгук тест-реакцій, що володіють різною чутливістю одного тест-об'єкту на один і той же вплив, показує можливість токсичного забруднення.

4.5. За результатами біотестування проб рибної продукції і інших гідробіонтів на основі реєстрації показників токсичності тест-об'єкту токсичність проби оцінюють за критерієм, встановленим для кожного біотесту.

Загальну оцінку токсичного забруднення проби встановлюють за біотестом, що проявив найбільш високу чутливість.

4.6. Біотестування рибної продукції проводять з метою експрес-діагностики та для вирішення оперативних завдань для перевірки відповідності якості встановленим нормам. При моніторингових спостереженнях на основі систематизованих даних біотестування оцінюють токсичність рибної продукції із різних зон вилову.

4.7. Контрольна проба гідробіонтів не повинна проявляти токсичного (хронічного і тим більше гострого) перебігу дії на тест-об'єкти, що використовуються для біотестування.

4.8. В процесі біотестування рибної продукції і інших гідробіонтів, визначають відсутність чи наявність токсичної (гострої, підгострої, хронічної) дії піддослідного зразка (проби) для біологічних об'єктів, без ідентифікації забруднюючих речовин і їх кількісних характеристик.

4.9. Біотестування рибної продукції ґрунтовано на визначенні показників токсичності рибної продукції (дослід) і їх відмінності (різницю) від контрольної проби, котра містить завідомо нетоксичне м'ясо гідробіонтів.

4.10. Біотестування токсичності риб і інших гідробіонтів, виловлених із різних зон засоленості, змішування морської і річкової води з використанням тест-об'єктів, що належать групам мезо- і полігалінних видів, спрямовано на отримання екологічно якісної біологічної інформації.

5. ВІДБИР, ЗБЕРІГАННЯ І ПІДГОТОВКА ПРОБ РИБНОЇ ПРОДУКЦІЇ ДЛЯ БІОТЕСТУВАННЯ.

5.1. Проби рибної продукції відбирають з урахуванням вимог ГОСТу 7631-85 «Риба, морські ссавці, морські безхребетні і продукти їх переробки. Правила приймання, органолептичні оцінки якості, методи відбору проб для лабораторних випробувань».

5.2. Підготовка проб для дослідження: із області спини 10-ти екземплярів риб відбирають м'ясо без шкіри (обсягом не менше 150-250 г). Його перемелюють на м'ясорубці 3-4 рази, перемішують і гомогенізують. Потім відважують 10-20 г гомогенізату, помішають в фарфорову ступку і ретельно розтирають. Підготовку проб від інших гідробіонтів здійснюють аналогічним чином, відбираючи від кожної досліджуваної партії по 30 примірників рапанів, устриць і крабів, 50 мідій.

5.3. Ємності повинні бути з матеріалів, що не містять токсичних домішок (флакони, мікроакваріуми).

5.4. Ємності необхідно маркувати.

5.5. Аналіз проби з визначення токсичності проводять не пізніше 24 годин після відбору проб.

5.6. У разі неможливості досліджень (зазначених у п. 5.5), проби поміщають в холодильник і охолоджують до - 10°C - 15°C та зберігають до

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

двох місяців.

5.7. Консервування проб хімічними речовинами не допускається.

5.8. Середовищем розведення досліджуваного матеріалу служить 5% розчин морської солі, розведений дистильованою водою рН 7,0-7,5. Підготовлений розчин розливають в колби по 150-200мл і стерилізують в автоклаві при 0,5 атм 30 хвилин або роздрібно в апараті Коха 3 дні поспіль по 30 хвилин. У середовищі розбавлення біотест-об'єкти не розмножуються, але зберігають життєздатність протягом 30-45 днів.

5.9. Перед біотестуванням вимірюють концентрацію кисню, значення рН, солоності середовища розведення, а також перевіряють на наявність токсикантів. У випадку, якщо ці параметри не забезпечують нормальної життєдіяльності гідробіонтів, дані біотестування будуть некоректними.

5.10. З урахуванням солоності відібраного зразка для біотестування, вибирають тест-об'єкт, відповідний до своїх екологічних особливостей даної солоності.

6. БІОТЕСТ З ЗАГИБЕЛІ МОЛОДІ І СОЛОНУВАТОВОДНИХ ГІДРОБІОНТІВ

6.1. Принцип методу.

Метод заснований на оцінці впливу випробовуваної рибної продукції на індивідуальній лінії лабораторної культури гідробіонтів. В якості тест-об'єктів використовують молодь солонуватоводної коловертки *Brachionus plicatilis* Muller і галобіонтного рачка *Artemia salina* (L), отриманих з відкладених яєць. Вплив випробовуваної проби рибної продукції у водному середовищі виявляє відмінності реакції молоді біотестів гідробіонтів. Показником загибелі молоді служить кількість примірників гідробіонтів, загиблих у випробовуваному зразку.

Гостру, підгостру і хронічну токсичну дію випробовуваної проби встановлюють в ході одного експерименту. Гостру токсичну дію визначають за час експозиції 24 години, підгостру - 48-72 години, хронічну - 96 годин. Критерієм токсичності є збільшення загибелі гідробіонтів на 25% і збільшення порівняно з контролем.

6.2. Засоби вимірювань, допоміжні пристрої, реактиви, матеріали.

6.2.1. Культура солонуватоводної коловертки *Brachionus plicatilis* Muller. Опис основних характеристик виду дано в додатку В.

Культура галобіонтного рачка *Artemia salina* (L). Опис основних характеристик виду та отримання культури дано в додатку Г та Д.

6.2.2. Мікроскоп за ГОСТ 8074-82.

6.2.3. Склянки місткістю 0,2 - 0,5 дм³ за ГОСТ 25336-82.

6.2.4. Піпетки капілярні (обрізані з обох сторін пастерівські піпетки) або очні піпетки з витягнутим носиком за ГОСТ 29230-91.

6.2.5. Мікроакваріуми (флакони з-під антибіотиків місткістю 10 см³) або конвалюти з-під ліків.

6.2.6. Мідь (І І) сірчаноокисла 5-водна х.ч. за ГОСТ 4165-78.

6.2.7. Калій двуххромовоокислий за ГОСТ 4220-75.

6.2.8. Пекарські дріжджі або суспензія протококкових мікроводоростей.

6.3. Підготовка до біотестування.

Отримання молоді гідробіонтів і артемій проводять згідно з додатком Д.

Перевірка придатності молоді гідробіонтів, що використовуються в ході біотестування, не потрібна. Перед отриманням молоді проводять перевірку відкладених яєць

6.4. Проведення біотестування.

Для біотестування піпеткою відбирають коловерток і артемій по одній в кожний флакон. Випробування проводять в 4 повторах, тобто сорок гідробіонтів розташовують у 40 флаконах на кожну серію (дослід і контроль). В дослідні мікроакваріуми для коловерток додають 2-4 см³ п'ятивідсоткової морської солі і наважку випробуваного зразка рибної продукції, а для коловерток в ємність додають 20-40 см³ п'ятивідсоткової аптекарської морської солі. У контрольні зразки додають вірогідно чисту морську продукцію, що не містить токсичних речовин.

Флакони залишають в приміщенні при природному освітленні, уникаючи прямих сонячних променів. На другу добу молодь годують, додаючи по краплі суспензії протококкових водоростей або розчин пекарських дріжджів.

6.5. Реєстрація показника загибелі молоді гідробіонтів.

Облік показника загибелі молоді коловерток або артемій проводять протягом 4 діб за допомогою мікроскопа, використовуючи збільшення кратне 10X10. Спостереження за загибеллю в першу добу проводять з інтервалом 1, 3, 5, 24 годин, а в наступну добу - 2 рази на день. Показником загибелі молоді є збереження нерухомості тест-об'єктів після барботування середовища бульбашками повітря капілярною піпеткою.

6.6. Обробка результатів, розрахунки та оцінка токсичного забруднення.

Оцінку токсичного забруднення випробовуваної проби морської рибної продукції проводять за показником загибелі молоді. У випробовуваної проби досліду і контролю результат розраховують за формулою:

$$X = N_{\text{м}} / N_{\text{вих}} \times 100 \quad (1)$$

де, X - показник загибелі молоді коловерток або артемій, %

N_м - кількість молоді, яка загинула в серії, екземплярів

N_{вих} - вихідна кількість молоді в серії, екземплярів

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

Збільшення загибелі молоді у дослідній серії в порівнянні з контролем розраховують за формулою:

$$A = X_o - X_k \quad (2)$$

де, А - збільшення загибелі молоді, %

X_o - показник загибелі молоді в досліді, %

X_k - показник загибелі молоді в контролі, %

Збільшення показника загибелі молоді гідробіонтів в експериментальній серії в порівнянні з контролем на 25% і більше свідчить про наявність токсичної дії випробовуваної рибної продукції.

Оцінку токсичного забруднення проби рибної продукції проводять за характером токсичної дії (гострий, підгострий, хронічний) випробовуваної проби, яка впливає на біотести і викликає відповідно загибель молоді в залежності від експозиції:

- Збільшення загибелі молоді гідробіонтів в порівнянні з контролем на 50% і більше відсотків через 24 години після впливу, засвідчує про гостру токсичну дію;

- Збільшення загибелі молоді гідробіонтів в порівнянні з контролем на 50% і більше через 72 години після впливу свідчить про підгостру токсичну дію випробовуваної проби рибної продукції;

- Збільшення загибелі взятої у експерименті молоді гідробіонтів на 50% і більше через 96 годин після впливу свідчить про хронічну дію випробовуваної проби рибної продукції.

Якщо проба надає гостру токсичну дію в даній концентрації, то для цього проводять біотестування на серії розбавлень, при яких знижують токсичність в 2, 10, 50 і 100 разів.

6.7. Метрологічна характеристика методу.

Діапазон збільшення загибелі молоді солонуватоводної коловертки *Brachionus plicatilis* Muller і молоді галобіонтного рачка *Artemia salina* (L) складає від 1% до 100%. Внутрішньолабораторна прецизійність - 25%.

7. РЕКОМЕНДОВАНА СХЕМА ОЦІНКИ ТОКСИЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ПРОБ РИБНОЇ ПРОДУКЦІЇ ЗА НАБОРОМ БІОТЕСТ З ВИКОРИСТАННЯМ ГІДРОБІОНТІВ

7.1. Оцінка токсичного забруднення.

Оцінку токсичного забруднення проб рибної продукції проводять за характером токсичної дії, що спричиняє випробовувана проба. Вголос висловлюють: проба «надає або не надає (гостру, підгостру, або хронічну) токсичну дію».

7.2. Оцінка токсичного забруднення проб рибної продукції за набору біотестів.

Оцінка токсичного забруднення проб рибної продукції за набором біотестів заснована на принципі, прийнятому в токсикології: при наявності

в одному з використаних біотестів токсичної дії всю пробу вважають токсичною.

7.3. Біотест для експрес-інформації.

Біотест загибелі молоді гідробіонтів, що застосовуються для експрес-інформації, проводять спочатку.

7.4. Самостійні токсикологічні експерименти.

Біотести загибелі молоді гідробіонтів використовують і як самостійні токсикологічні експерименти.

7.5. Інформація щодо оцінки токсичного забруднення рибної продукції.

Використання одночасно всього зазначеного набору біотестів з використанням функціональних і біологічних показників тест-об'єктів, що відповідають за своїми екологічними особливостями солоності проб рибної продукції, дозволяє отримувати якісну інформацію з оцінки токсичного забруднення риб і гідробіонтів.

8. ПОДАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОТЕСТУВАННЯ

Результати біотестування проб рибної продукції представляють згідно з додатком Е.

9. ВИМОГИ БЕЗПЕКИ, ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

При виконанні робіт слід дотримуватися загальних вимог з техніки безпеки робіт у лабораторіях. Особливих вимог щодо екологічної безпеки не пред'являється.

10. ВИМОГИ ДО КВАЛІФІКАЦІЇ ОПЕРАТОРА

До виконання робіт з біотестування допускаються особи, які мають ветеринарну, медичну, біологічну і екологічну освіту, мають досвід роботи в галузі токсикології не менше трьох років.

ДОДАТОК А

(Довідкові)

ЕКОЛОГІЧНА ВАЛЕНТНІСТЬ ВИДІВ ГІДРОБІОНТІВ

Особи кожного виду можуть існувати тільки в певній межі мінливості окремих елементів середовища. Діапазон коливань фактора, який може витримувати вид, називається його екологічною валентністю. Види з широкою екологічною валентністю позначають як еврібіонтні (eury - широкий), з вузькою (stenos - вузький) - як стенобіонтні. Види з дуже високим ступенем еврібіонтності називають убиквістами. Ступінь екологічної валентності виду тим ширше, чим мінливіше його середовище. З цієї причини прибережні мешканці морів і зон змішаних річкових і морських вод, як правило, більш еврітермні і еврігалінні, ніж мешканці відкритої зони, де температурні і сольові умови стійкіше. За весь період існування життя прісноводні організми, що виносяться в моря, не утворили морських форм; в

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

свою чергу з морських організмів, що потрапляють в річки, не виникають прісноводні форми. Незважаючи на величезні адаптивні потенції гідробіонтів соленосний бар'єр виявився практично нездоланим при розселенні гідробіонтів. Крім зазначених двох груп гідробіонтів існує третя група - специфічно солонуватоводні види, як правило, є стеногалінні. Слід зазначити, що кількість морських видів різко знижується з падінням солоності до 5-7%, а число прісноводних - з її підвищенням понад цю межу. У розглянутому інтервалі видове різноманіття дуже невелике і в основному представлено специфічними солонуватоводними формами. Це явище дуже характерне і отримало назву «парадокса солонуватоводних вод». Класифікація природних вод в залежності від солоності представлена в таблиці № 1 А.

Значні зміни солоності в зонах змішування прісних і морських вод дозволяють існувати в цих біотопах гідробіонтів, здатних адаптуватися до чинника солоності. Перевагу отримують евригалінні морські види, що здатні адаптуватися до зниження солоності, і евригалінні прісноводні види, здатні адаптуватися до підвищення солоності. Відзначено, що евригалінність переважної більшості гідробіонтів обмежена бар'єром в 5-8%, який отримав назву «критичної солоності». По обидві сторони від цієї зони розвиваються різні фауністичні комплекси, по-різному протікають обмінні процеси в цілих організмах і тканинах. Існуванням сольового бар'єру пояснюється незмішуваність морської і прісноводної фауни. Цікаво відзначити, що у деяких прісноводних форм найбільша чисельність спостерігається при солоності 3-5%, а при переході морських форм в опріснену воду, відбувається їх здрибнення, зменшення плодючості при одночасному збільшенні розмірів яєць.

Таблиця 1 А

КЛАСИФІКАЦІЯ ПРИРОДНИХ ВОД ЗА ГРАДАЦІЄЮ СОЛОНА

ТИП ВОД	Градація СОЛОНА, %
ПРІСНОВОДНІ	менше 0,5
ОЛІГОГАЛІННІ	5,0+0,5
МІКСОГАЛІННІ	30,0+0,5
МІКСОГАЛІННІ, в т.ч. МІКСОМЕЗАГОЛІННІ	18,0+5,0

ДОДАТОК Б

(ДОДАТОК)

ХАРАКТЕРИСТИКА солонуватоводної коловертки

***Brachionus plicatilis* Muller**

За систематизованим положенням коловертки відносяться до нижчих черв'яків (кл. Rotatoria). *Brachionus plicatilis* Muller - солонуватоводний вид, що зустрічається як в континентальних водоймах, так і в морських прибережних водах (2). Він евригалінник і евритерменник. Тіло коловертки

складається з голови, тулуба, покритого м'яким панциром і ноги. На передньому кінці голови - коловертільний апарат з віями, який служить для плавання і захоплення їжі. Коливанням вілок харчові частинки можуть залучатися або (при надлишку або невідповідності їжі) відштовхуватися, їжею коловертток служить мікропланктон (мікроводорості і бактерії), але при його відсутності можуть використовувати інші види корму, наприклад, дріжджі.

Життєвий цикл *Brachionus plicatilis* Muller протікає за схемою, характерною для моногонотних коловертток, і складається з трьох періодів: одностатевого розмноження, двостатевого розмноження та періоду спокою. Період одностатевого розмноження починається з вилуплення аміктичних (партеногенетичних) самок з кладкою яєць. Аміктичні самки не здатні до запліднення і виробляють та виношують диплоїдні (2N) аміктичні яйця, з яких вилуплюються або аміктичні самки, або (в залежності від умов) міктичні самки, які здатні до одностатевого або двостатевого розмноження. У першому випадку самки виношують гаплоїдні (1N) міктичні яйця, з яких розвиваються самці. У разі запліднення міктичної самки відкладаються диплоїдні яйця, з яких після латентного періоду вилуплюються аміктичні самки. Міктичні і аміктичні самки, присутні одночасно, зовні відрізняються за наявності певного типу яєць. При змішаному розмноженні в популяції коловертток є самці і самки всіх категорій: тьовенильні, аміктичні, міктичні, запліднені в пострепродуктивному періоді - сенильні.

ДОДАТОК В

(довідкове)

ХАРАКТЕРИСТИКА ГАЛОБІОНТНОГО РАЧКА *ARTEMIA SALINA* (L)

За систематизованим положенням *Artemia salina* (L) (далі-артемія) відноситься до групи жаброногів (*Anosteca*) загону ластоногих (*Euphyllopoda*), що входять до підкласу *Euphyllopoda*, класу *Crustacea*. Артемія є звичайним широко поширеним видом, населяє водойми з різною солоністю (від солонуватих до ультрагалінних). Вона зустрічається у водоймах степової смуги європейської частини України. Артемія є теплолюбним видом. Зростання і дозрівання рачків відбувається при помірних і високий температурах. Оптимальна температура +25°C +28°C, але легко переносить і може існувати при +35°C +37°C.

Рачок артемія має витягнуте сегментоване тіло, чітко поділене на головний, грудний, черевний відділ і Фурко-хвостову частину. На голові є невеликі науплиальні очі, два невеликі сидять на стеблинках складні очі, антенулли і антени, ротові частини. Грудний відділ складається з 11 сегментів, кожен з яких несе пару ластоподібних розширених ніжок. Черевний

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

відділ складається з 8 сегментів і позбавлений кінцівок.

Доросла артемія досягає довжини від 10 до 20 мм і ваги від 10 до 12 мг. Забарвлення рачка визначається характером споживаної їжі, а також розчиненого у воді кисню. Харчуються артемії мікроводоростями, бактеріями, детритом.

Артемії роздільностатеві. Самці дрібніші за самок. Зовні самців легко відрізнити за характерним крюковидним органом захоплення, що утворюється з антен головної частини тіла. Самки мають виводковий мішок, розташований за торакальними ніжками. Статевої зрілості досягає за 18-30 днів. Самки чергують живородіння з кладкою яєць. Діапаузуючі яйця дуже стійкі до умов навколишнього середовища. Діаметр діапаузуючих яєць від 0,22 до 0,29 мм, середня маса становить 0,0002 мг, вони не прозорі, колір варіює від світло-сірого до темно - бурого. Кожна самка вимітає від 7 до 340 яєць з інтервалом 5-11 діб в залежності від умов проживання. Середня плодючість самок 50-60 яєць. У стані діапаузи яйця переносять повне висихання, різкі перепади температури, нагрівання до 80°C, зберігають життєздатність протягом багатьох років. Максимальний термін зберігання не більше 10 років. Використовувані в практиці аквакультури товарні яйця артемії, що володіють високою і швидкою схожістю, знаходяться не в здатності діапаузи. Вони виведені з неї спеціальною обробкою і знаходяться в стані криптобіозу.

ДОДАТОК Г

(довідкове)

ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДКЛАДЕНИХ ЯЄЦЬ ГІДРОБІОНТІВ

Відкладені яйця гідробіонтів є однією із стадій життєвого циклу. Аміктичні самки з партеногенетичними яйцями складають основу здорової, що швидко розмножується, популяції. Міктичні яйця самців і аміктичні не дають тривалої стадії спочивання, і молодь в залежності від температури з'являється через кілька годин. Перехід до двостатевого розмноження є ознакою переходу в період спокою.

Відкладені яйця збирають у водоймі або з культиваторів в умовах аквакультури, де яйця знаходяться в придонному шарі детриту. Порцію детриту слід осадити на газ № 76, висушити на газі, потім помістити в холодильник на 1-2 місяці, щоб яйця могли промерзнути при температурі мінус 5-10°C.

Після переміщення шматочка висушеного детриту з замороженими яйцями в солону воду, через певний час (в залежності від температури, освітленості і т.д.) з яєць викльовується молодь коловерток. Зручно також користуватися відкладеними яйцями, відмитими від детриту, що перебувають у сипучому вигляді, як яйця артемії.

Яйця артемії в даний час широко використовують в акваріумістиці. Цисти артемії можна не тільки збирати в природних водоймах, але й придбати у відповідних магазинах вже очищені і у великій кількості. Умови викльову вимагають температури 28°C, цілодобового освітлення та обов'язкової аерації.

Для вибору умов інкубації відкладених яєць бажано знати, в яких умовах отримані яйця: в штучних, в аквакультурі, або зібрані в природних водоймах. Важливо знати солоність води та її склад: сульфатного або хлоридного типу. При інкубації яєць з сульфатної водойми слід використовувати розчин, що складається із суміші хлористого і сірчанокислого натрію в співвідношенні 3:1.

ДОДАТОК Д

(обов'язкове)

Таблиця 1Д

**РЕЗУЛЬТАТИ БІОТЕСТУВАННЯ ПРОБ ВОДИ З
ВИКОРИСТАННЯМ МОЛОДІ СОЛОНУВАТОВОДНИХ
ГІДРОБІОНТІВ**

№ проби	Відбір проб риб, місце	Дата проведення біотестування	Збільшення загибелі молоді, % від контролю	Оцінка токсичності забруднення проби
1	2	3	4	5

Примітка - в графі «Оцінка токсичності забруднення проби» пишуть: «Має» або «Не має» гостру (або підгостру, або хронічну) токсичну дію.

Література

1. Бакаева Е.Н. Эколого-биологические основы жизнедеятельности коловраток / Е.Н. Бакаева, Е.Н. Макаров - Ростов-на-Дону: СКНЦ ВШ, - 1999. - 285с.

2. Ивлева И.В. Биологические основы и методы массового культивирования кормовых беспозвоночных/ И.В. Ивлева. - М.: Наука, 1969. - 170с.

3. Кокова В.Е. Непрерывное культивирование позвоночных/ В.Е. Кокова.-Новосибирск: Наука, 1982. - 256с.

4. Вехов Н.В. Особенности жизненного цикла *Artemia salina* (L) в мелких пересыхающих озерах (Черноморский заповедник и его окрестности. Украина) / Н.В. Вехов, Т.П. Вехова // Экология. - 1994. - № 6. - с.53-61.

МЕТОДИКА САНИТАРНОЇ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТІ МОРСКИХ
РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
БИОТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Маменко А.М., д. с.-х. н., професор ХГЗВА,

Болдырев Д.А., к. с.-х. н., мл. науч. сотр.,

Болдырев А.Д., зам. дир.,

Гурина Л.М., науч. сотрудник

Крымская опытная станция ННЦ «ИЭКВМ», г. Симферополь

Аннотация. Санитарная оценка рыбной продукции базируется на определении влияния испытуемой рыбной продукции на индивидуальные линии лабораторной культуры гидробионтов. В качестве биотест-объекта использовали галабионтного рачка *Artemia salina* (L). Критерием токсичности пробы рыбной продукции является гибель гидробионтов в сравнении испытываемой пробой с контролем. При этом выделяли следующие стадии токсичности: острую, которая наступает через 24 часа; подострую (48-72 ч.) и хроническую (96 ч.), что и отображает быстроту реакции биотестов на внешнее влияние.

Ключевые слова: биотест-объект, артемия, рыбная продукция, острая, подострая, хроническая стадия, опыт, контроль.

METHOD OF SANITARY EVALUATION OF MARINE FISH
PRODUCT TOXICITY BY BIOTEST OBJECTS

Mamenko O.M., Boldyrev D.A., Boldyrev A. D., Gurina L.M.

Summary. The sanitary assessment of fish products is based on the assessment of hydrobionts the impact of the test fish products on the individual lines of the laboratory culture of aquatic organisms. The galabiontic crustacean *Artemia salina* (L) was used as a bioassay object. The criterion for the toxicity of the fish product sample is the death of hydrobionts as compared with the test sample and the control one. The following stages of toxicity were detected: the acute one, which comes 24 hours after, the subacute stage (48-72 hours) and the chronic one (96 hours) that displays the speed of the bioassay reaction to the external influence.

Key words: bioassay-object, artemia, fish products, acute, subacute chronic stage, research, control.
