



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **149979** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/18** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2021 02664</b>	(72) Винахідник(и): <b>Горин Оксана Ігорівна (UA), Фальфушинська Галина Іванівна (UA), Боднар Оксана Ігорівна (UA), Ковальська Галина Богданівна (UA), Хатіб Іхаб (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>21.05.2021</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>23.12.2021</b>	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>22.12.2021, Бюл.№ 51</b>	(73) Володілець (володільці): <b>ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027 (UA)</b>

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ КОРИГУЮЧОЇ ЗДАТНОСТІ МІКРОВОДОРОСТЕЙ ЩОДО ЗАБРУДНЕННЯ СЕРЕДОВИЩА ПЕСТИЦИДАМИ

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки коригуючої здатності мікробіодоростей щодо забруднення середовища пестицидами включає визначення мінімального набору показників ушкодження біомолекул у гепатоцитах смугастого даніо *D. Rerio*. На основі відсоткового обчислення показників ушкодження біомолекул у тканинах даніо після експозиції тварин в присутності пестицидів або зразків води з природних водойм, забруднених стоками з полів, та екстракту водоростей протягом 14 діб та порівняння їх з контролем оцінюють коригуючий потенціал мікробіодоростей щодо пошкоджень, завданих пестицидами нецільовим водним організмам. При цьому результати визначення показників пошкоджень уніфікують, обраховуючи відхилення від контрольних значень та інтегрують за формулою: ІІУБ (інтегральний індекс ушкодження біомолекул) = (Утворення оксирадикалів + Рівень окисних модифікацій протеїнів + 0,1 \* Рівень ТБК-активних продуктів + 0,1 \* Рівень фрагментації ланцюгів ДНК) - Загальна антиоксидантна активність.

UA 149979 U



Корисна модель належить до напрямку оцінки ефективності очистки природних вод від агрохімікатів (пестицидів) з використанням мікроорганізмів (одноклітинні водорості) і може бути використана у водному та сільському господарстві, агропромисловому комплексі та інших галузях народного господарства для реабілітації екосистем, відновлення ефективного водопостачання, покращення якості води і екологічного стану водних об'єктів.

Проблема зменшення токсичного ефекту від забруднення пестицидами та утилізації надлишкових кількостей відомих та неідентифікованих сільськогосподарських отрутохімікатів, які зберігалися на різних складах та сховищах, є надзвичайно актуальною. Одну з найбільших небезпек становлять пестициди та їх метаболіти через свою здатність накопичуватися та зберігатися у природному середовищі протягом десятиліть, навіть при внесенні їх у дозованих кількостях відповідно до правил застосування. У природних умовах всі хімічні сполуки, які використовуються як пестициди, в тій чи іншій мірі схильні до деструкції біотичними факторами та іншими процесами. Серед біотичних факторів провідна роль у процесі розкладу пестицидів належить мікрофлорі ґрунту. На сьогодні відома велика група штамів грибів, бактерій, актиноміцетів, водоростей, які здатні розкладати пестициди до нетоксичних сполук. До розкладання розчинних пестицидів переважно залучаються бактерії, а малорозчинних мікрогриби. Тривалість деструкції пестицидів мікроорганізмами коливається від кількох днів до місяців, залежно від хімічного складу речовини, виду мікроорганізмів, властивостей ґрунтів (температура, аерація і т.д.). Актуальною залишається проблема очищення вод та зменшення токсичного ефекту, який спричиняють на нецільові організми залишки пестицидів, які вимиваються з полів.

Серед усіх відомих способів дезактивації токсичних органічних сполук найбільш перспективними є біотехнологічні методи. Переваги таких способів дезактивації пояснюються різноманітністю ферментних систем мікроорганізмів та лабільністю метаболізму, що дозволяє розкладати широкий спектр хімічно стійких сполук.

Українськими авторами запропоновано удобрювальний біопрепарат "ФОСФОЕНТЕРИН" (Патент України № 12537 U, авт. Каменєва І.О. та ін), на основі штаму фосфатмобілізуючих бактерій *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3, кукурудзяного екстракту, меляси та крейди. Він підсилює очисну спроможність мікрофлори ґрунту від пестицидів та застосовується головним чином для удобрювання ґрунту. Недоліком препарату є його низька здатність до деструкції пестицидів та неможливість використання у водних екосистемах.

Відомий сорбційний матеріал для очищення ґрунту від пестицидів, який містить глауконіт (Патент РФ № 2410170, авт. Огурцова Л.В. та ін.). Препарат включає глауконітвмісну речовину, біологічно активний анаеробний мул з адаптованою анаеробною мікрофлорою біодеструкторів та кислотний стимулятор. Недоліком такого сорбенту є низька ефективність очищення і значні витрати.

Також відомий спосіб деструкції пестицидів з використанням препарату на основі адаптованої асоціації мікроорганізмів, виділеної із зараженого пестицидом ґрунту (Патент РФ № 2448786, авт. Громова В.С. та ін.). Цей препарат застосовують в умовах аерації і при додатковому внесенні до забрудненого об'єкту гумату калію. Спершу одержують деструкуючий агент (асоціацію мікроорганізмів) шляхом культивування на елективному живильному середовищі: целюлзорозкладаючі мікроорганізми, азотобактер, гетеротрофні бактерії, вуглеводнеокислюючі мікроорганізми, мікрогриби, дріжджі та актиноміцетами. Недоліком цього способу є обмежена сфера застосування: препарат може бути використаний тільки при очищенні ґрунтів від хлорорганічних пестицидів.

Відомий також бактеріальний препарат для очищення ґрунту на основі штаму *Alcaligenes latus*, який розкладає поліхлоровані біфеніли (Міжнародна заявка № WO 99/41356, авт. Биков В.І.). Однак він не може бути використаний для деструкції інших пестицидів.

Російськими вченими розроблено мікробний препарат для розкладання пестицидів сім-триазинової групи (Міжнародна заявка № WO 99/41356). Біопрепарат являє собою асоціацію штамів бактерій родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, іммобілізованих на сорбенті (наприклад, подрібненому торфі). Препарат одержують шляхом культивування вихідної культури мікроорганізмів на мінеральному середовищі. Вихідну культуру конгломерату мікроорганізмів виділяють з суміші біологічно активного ґрунту та 20-30 % подрібненої соломи, в яку додається індуктор - пестицид сім-триазинової групи. Суміш інкубують 1-2 місяці при температурі 26-28 °С. Як мінеральне середовище використовують зволожений до 50-70 % торфо-солом'яний субстрат. Недоліком такого біосорбційного матеріалу є можливість застосування його для знешкодження пестицидів тільки сім-триазинової групи, низька здатність до біодеструкції та нефункціонування в анаеробних умовах.

Найближчим аналогом є спосіб покращення природної якості води та ефективності роботи спеціальних об'єктів водозабезпечення шляхом створення природно-штучного біомеліоративного комплексу (Патент України № 101959 U, авт. Щербак В.І. та ін.). Для цього проводиться комплексна обробка водойм мікроорганізмами та вселення риб-меліораторів, який відрізняється тим, що передбачається альголізація водойм суспензією зеленої мікроводорості штаму *Chlorella vulgaris* ИФР № С. - 111, *Chlorella vulgaris* (BIN), *Arthrospira platensis*, *Acutodesmus obliquus*, *Dunaliella salina*, *Spirulina* з коефіцієнтом пропускання 1,5-8 % в кількості 17-28 л на 1 млн м<sup>3</sup> води в глибоководній частині та 14-26 л/га в мілководній частині водойм з глибиною не більше 5 м. Недоліком цього способу є його акцент на відновленні біорізноманіття, без врахування токсичних ефектів, спричинених політантами.

Застосування мікроводоростей з метою очищення води започатковано ще в середині ХХ сторіччя. Зокрема одним з таких методів є біоремедіація водойм суспензією хлорели, яка базується на альголізації водойм штамом зеленої мікроводорості *Chlorella vulgaris* BINi використовується такими вітчизняними рибоводними господарствами, як, наприклад, Візирський ставок № 2 КП "Візирське джерело", Рекреаційний комплекс "Три Карасі" (Шарило Ю.Є. 2020). Механічне внесення хлорели очищує воду, насичує її киснем, відновлює популяцію фіто- та зоопланктону, проте не відображає динаміки викликаних змін, що ускладнює оцінку ефективності проведених заходів.

Використання водоростей (*Caulerpa prolifera*) в альгофільтрах (Патент РФ № 149981, Дементьев Д.В.) покращує якість води в акваріумах з товстолобом (зростає насичення киснем, зменшується вміст PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).

Недоліком цього методу є відсутність інформування стосовно коригуючого впливу цього пристрою на риб.

Також відомий спосіб визначення якості води, який полягає в тому, що в досліджувану воду поміщають сухі водорості, які мають здатність відновлювати свою життєдіяльність при переміщенні їх в воду після впливу на неї знакозмінним струмом (Патент РФ № 2123692, Соловйов О.О. та ін.). Замір амплітуди коливань водоростей вказує на рівень токсичності води. Проте цей метод відображає лише ступінь токсичності водного середовища, без врахування коригуючого потенціалу самих водоростей.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу оцінки коригуючої здатності мікроводоростей щодо забруднення середовища пестицидами на основі визначення мінімального набору показників ушкодження біомолекул у гепатоцитах корошових риб. На підставі інтегрального аналізу нами було вибрано мінімальний набір показників, які є визначальними для специфічної ідентифікації стану молекулярних систем організму (Falfushynska et al., 2020, Боднар та ін. 2020). Спосіб може бути застосований для оцінки коригуючої здатності мікроводоростей щодо забруднення середовища пестицидами шляхом використанням тест-системи на основі молекулярно-біохімічних реакції смугастого данію.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі оцінки коригуючої здатності мікроводоростей щодо забруднення середовища пестицидами, що включає визначення мінімального набору показників ушкодження біомолекул у гепатоцитах смугастого данію *D. rerio*, згідно з корисною моделлю, на основі відсоткового обчислення показників ушкодження біомолекул у тканинах данію після експозиції тварин в присутності пестицидів або зразків води з природних водойм, забруднених стоками з полів, та екстракту водоростей протягом 14 діб та порівняння їх з контролем оцінюють коригуючий потенціал мікроводоростей щодо пошкоджень, завданих пестицидами нецільовим водним організмам; при цьому результати визначення показників пошкоджень уніфікують, обраховуючи відхилення від контрольних значень та інтегрують за формулою: ІІУБ (інтегральний індекс ушкодження біомолекул) = (Утворення оксирадикалів + Рівень окисних модифікацій протеїнів + 0,1 \* Рівень ТБК-активних продуктів + 0,1 \* Рівень фрагментації ланцюгів ДНК) - Загальна антиоксидантна активність.

На основі визначення показників ушкодження біомолекул у тканинах смугастого данію *Danio rerio* у порівнянні з контролем (виражених у відсотках від контрольних показників) та визначення рівня токсичного впливу навколишнього середовища оцінюють коригуючий потенціал мікроводоростей щодо пошкоджень, завданих пестицидами нецільовим водним організмам. Результати визначення показників пошкоджень уніфікують, обраховуючи відхилення від контрольних значень та інтегрують за формулою: ІІУБ (інтегральний індекс ушкодження біомолекул) = (АФО + ОМП + 0,1 \* ТБК-АП + 0,1 \* фл ДНК) - ЗАА.

Отримані результати переносять на шкалу токсичності водного середовища та, порівнюючи з ІІУБ для даного забруднювача, роблять висновок про коригуючу здатність мікроводоростей.

	Токсичність водного середовища			
	Низька	Середня	Висока	Критична
	0	50	100	150
	Інтегральний індекс ушкодження біомолекул (ІІУБ)			
				200

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином: дорослих особин даню *Danio rerio* експонують протягом 14 діб в присутності пестицидів або зразків води з природних водойм, забруднених стоками з полів, та екстракту водоростей, паралельно закладаючи контрольну групу без жодних додаткових впливів. Після закінчення експозиції виділяють тканину печінки і готують 10 % гомогенат для дослідження. У зразках тканин визначають вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів за рівнем ТБК-АП (ТБК-АП), окисних модифікацій протеїнів (ОМП), утворення оксирадикалів (ОР), фрагментацію ланцюгів ДНК (фл ДНК) та загальну антиоксидантну активність (ЗАА).

На основі порівняння одержаних значень з контрольними роблять висновок про коригуючий потенціал мікробіодоростей щодо забруднення середовища пестицидами.

Для характеристики рівня перекисного окиснення ліпідів вимірюють утворення ТБК-активних продуктів в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (Лушак та ін., 2004). Для цього 10 % гомогенат тканин у К-фосфатному буфері, рН 7,4 змішують з 10 % трихлороцтовою кислотою, центрифугують протягом 15 хв при 5000×g. До одержаного надосаду додають по 1,5 мл 0,7 мМ розчину ТБК у 0,1 М НСІ і витримують 20 хв на киплячій водяній бані. Як контроль використовують проби, що містять замість надосаду буферний розчин для виділення.

Утворення ТБК-активних продуктів обчислюють за інтенсивністю поглинання забарвленого комплексу при 532 нм проти контролю на реактиви за молярним коефіцієнтом екстинкції комплексу  $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  і виражають у нмоль/г тканини.

Визначення окисних модифікацій протеїнів проводять за їх здатністю утворювати 2,4-динітрофенілгідрозони за присутності 0,1 М розчину 2,4-динітрофенілгідрозину в 2 М НСІ. До одержаного осаду додають по 1 мл попередньо профільтрованого 0,1 М розчину 2,4-динітрофенілгідрозину (ДНФГ) в 2 М НСІ (в контрольний зразок - 1 мл 2 М НСІ), інкубують 1 год. при 37 °С та центрифугують 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний в результаті цього осад тричі промивають 3 мл 5 % розчину трихлороцтової кислоти та центрифугують в попередньому режимі. Після останнього промивання до одержаного осаду додають 5 мл 8 М розчину сечовини та нагрівають у киплячій водяній бані протягом 15-20 хв до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів реєструють при 370 нм проти контролю. Концентрацію ОМП обчислюють на основі молярного коефіцієнта екстинкції ( $2,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ):  $\text{ОМП} = D_{370} \times d \times 1000 / (\epsilon \times C_{\text{протеїну}})$ , де  $D_{370}$  - екстинкція проби,  $d$  - розведення,  $\epsilon = 21 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  - мілімолярний коефіцієнт екстинкції динітрофенілгідрозонів при 370 нм.

Фрагментацію ланцюгів ДНК визначають як розриви ланцюгів депротейнізованої ДНК методом лужного осадження в 10 % суспензії ізольованих клітин печінки коропа в 50 мМ трис-ЕДТА буферному розчині рН 8,0, що містить 0,5 % натрію додецил сульфат (SDS) при хвилі збудження (ex.)=360 нм та випромінювання (em.)=450 нм на флуоресцентному мікропланшетному рідері або спектрофотометрі (Olive et al., 1988). 50 мкл суспензії ізольованих клітин змішують з 0,5 мл 50 мМ трис-ЕДТА буферу рН 8,0, що містить 0,5 % SDS. Після цього відбирають 250 мкл гомогенату та додають 250 мкл суміші 2 % SDS+10 мМ ЕДТА + 40 мМ NaOH+10 мМ трис. Через 1 хв до інкубаційної суміші додають 125 мкл 0,2 М KCl та інкубують протягом 10 хв при 60 °С. Після термообробки проби переносять в морозильну камеру на 20 хв, після чого центрифугують 15 хв при 6000 g. Для дослідження відбирають 100 мкл супернатанту, а також 100 мкл осаду, розчиненого в 1 мл гарячої води (65 °С). Вміст ДНК (депротейнізованої форми та в осаді) визначають за допомогою барвника Hoescht (Sigma) в присутності 0,4 М NaCl, 4 мМ натрій холату та 0,1 М трис (рН 9,0), для запобігання проникнення слідових кількостей SDS у супернатант. Для приготування калібрувального розчину використовують комерційний препарат ДНК (Sigma) 1 мг/мл в 10 мМ трис-ЕДТА буферу, рН 8,0. Флуоресценцію реєструють при хвилі збудження (ex.) = 360 нм та випромінювання (em.) = 450 нм одразу та через 15 хв інкубації в темряві.

Для визначення утворення оксирадикалів змішують 250 мкл 10 % гомогенату (1:10 v/v) з буферним розчином, що містить 0,32 М сахарози, 20 мМ HEPES (рН 7,4), 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,5 мМ фенілметилсульфоніл флуорид (Viarengo et al., 1997). Одержану суміш центрифугуємо при 12000×g та 4 °С протягом 45 хв.

Відбирають аліквоту супернатанту (40 мкл) та вносять її в суміш для визначення, яка містить 0,1 мл 67,65 мМ HEPES (рН 7.2), 0,06 мл 0,75 М KCl, 0,024 мл 8,3 мМ MgCl<sub>2</sub>. Реакцію ініціюємо

додаванням 1,44 мкл 2,5 мМ дигідрородаміну. Інтенсивність утворення оксирадикалів у фракції S12 крові оцінюють за утворенням флуоресцентного продукту родаміну 123 в реакції нефлуоресцентного деривату дигідрородаміну (Sigma, США) з активними формами кисню при хвилі збудження (ex.) = 485 нм та випромінювання (em.) = 538 нм. Вимірювання проводять одразу та через 20 хв інкубації в темряві. Інтенсивність утворення оксирадикалів виражають в умовних одиницях флуоресценції (УОФ) на мг протеїну.

Загальну антиоксидантну активність визначають з використанням ABTS (2,2'-азино-біс-3-етилбензтіазолін-6-сульфонова кислота, Sigma) за методикою Shabestarian et al. Утворення активних форм кисню у розчинній фазі гомогенату печінки в 20 мМ HEPES-сахарозному буфері рН 7,4 оцінювали за утворенням флуоресцентного продукту родаміну 123 в реакції нефлуоресцентного деривату дигідрородаміну з активними формами кисню при хвилі збудження (ex.) = 485 нм та випромінювання (em.) = 538 нм

Реалізація корисної моделі проілюстрована на прикладі оцінки здатності *Chlorella vulgaris* коригувати негативний вплив екологічно реальних концентрацій раундапу, хлорпірифосу та їх суміші на нецільові організми. Для оцінки коригуючої здатності мікроводоростей до дослідних акваріумів вносили культуру штаму *Chlorella vulgaris* Beij. ССАР-211/11в з розрахунку 100 тис. кл/дм<sup>3</sup>. Для визначення необхідного об'єму суспензії (мл) підраховували кількість клітин *Ch. vulgaris* у вихідному розчині з використанням камери Горяєва.

Приклад 1. Визначення індексу ушкодження біомолекул *D. rerio* за впливу раундапу 15 мкг/л (R), хлорпірифосу 0,1 мкг/л (CIP) та їх суміш у концентраціях 15 мкг/л та 0,1 мкг/л відповідно (R+CIP). Концентрації чинників відповідали діапазону їх концентрацій у поверхневих водах або місцях скиду побутових стоків з полів. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів за рівнем ТБК-АП, окисних модифікацій протеїнів, утворення оксирадикалів, фрагментацію ланцюгів ДНК та загальну антиоксидантну активність визначали у 10 % гомогенаті печінки після 14 діб інкубації. Одержані результати представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Показники індексу ушкодження біомолекул *D. rerio* за впливу раундапу, хлорпірифосу та їх суміші, M, n=6

Показник	K	R	CP	R+CIP
ТБК-АП, пмоль/мг протеїнів	12,75±1,19	72,13±6,46	81,37±8,47	104,24±8,00
Відхилення від контролю, %		466	538	718
Окисні модифікації протеїнів, пмоль/мг протеїнів	18,21±2,44	14,31±1,09	28,78±9,28	22,47±2,97
Відхилення від контролю, %		21	58	23
Фрагментація ланцюгів ДНК, %	5,96±0,40	25,0±92,47	23,81±3,26	15,50±2,66
Відхилення від контролю, %		321	300	160
Утворення оксирадикалів, уо	177,56±8,24	193,45±7,98	221,64±4,39	216,39±5,61
Відхилення від контролю, %		9	25	22
Загальна антиоксидантна активність	8,49±1,20	5,14±0,08	3,50±0,43	4,38±0,38
Відхилення від контролю, %		39	59	48
Інтегральний індекс ІУБ		70	108	85

Примітка: Для контрольної групи наведені абсолютні значення, для дослідних груп - відхилення від контролю.

Приклад 2. Визначення індексу ушкодження біомолекул *D. rerio* за впливу раундапу - 15 мкг/л, хлорпірифосу - 0,1 мкг/л, їх суміш у концентраціях 15 мкг/л та 0,1 мкг/л відповідно та у

5 присутності *Ch. vulgaris* (близько 100 тис. кл/дм<sup>3</sup>) як коригуючого чинника. Концентрації чинників відповідали діапазону їх концентрацій у поверхневих водах або місцях скиду побутових стоків з полів. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів за рівнем ТБК-АП, окисних модифікацій протеїнів, утворення оксирадикалів, фрагментацію ланцюгів ДНК та загальну антиоксидантну активність визначали у 10 % гомогенаті печінки після 14 діб інкубації. Одержані результати представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Показники індексу ушкодження біомолекул *D. rerio* за впливу раундапу, хлорпірифосу, їх суміші та *Ch. vulgaris* M, n=6

Показник	K	R+Ch	CIP+Ch	R+CIP+Ch
ТБК-АП, пмоль/мг протеїнів	12,75±1,19	101,62±7,98	110,39±6,75	96,32±3,18
Відхилення від контролю, %		697	43	655
ОМП, пмоль/мг протеїнів	18,21±2,44	24,28±4,39	26,91±0,96	20,54±2,00
Відхилення від контролю, %		33	18	13
фл ДНК, %	5,96±0,40	8,99±1,99	8,51±1,19	6,27±0,83
Відхилення від контролю, %		49	43	52
ОР, уо	177,56±8,2 4	198,9±64,96	204,81±3,53	5,45±0,48
Відхилення від контролю, %		12	15	18
Загальна антиоксидантна активність	8,49±1,20	4,45±0,21	4,80±0,48	5,47±0,48
Відхилення від контролю, %		48	43	36
ІУБ		71	95	62

Примітка: Для контрольної групи наведені абсолютні значення, для дослідних груп - відхилення від контролю.

10 Як ми продемонстрували на прикладі обчислення індексу ушкодження біомолекул даніо, внесення *Chlorella vulgaris* у кількості близько 100 тис. кл/дм<sup>3</sup> у середовище не продемонструвало істотного коригуючого впливу на токсичність водного середовища, спричинену наявністю екологічно реальних концентрацій раундапу, хлорпірифосу та їх суміші. Проте за впливу хлорпірифосу така дія виявилася достатньою, щоб знизити ступінь токсичності з високого на середній. Це підтверджує позитивний вплив водоростей на функціонування екосистеми загалом, а використання водоростей у процесах детоксикації потребує більш

15 детального гідробіологічного аналізу.

20 Таким чином, запропонований нами спосіб на основі відсоткового обчислення індексу ушкодження біомолекул у тканинах *Danio rerio* та визначення рівня токсичного впливу навколишнього середовища дозволяє кількісно та якісно оцінити коригуючу здатність мікрводоростей щодо забруднення середовища пестицидами та підібрати найбільш оптимальний вид для нейтралізації їх дії.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб оцінки коригуючої здатності мікроводоростей щодо забруднення середовища пестицидами, що включає визначення мінімального набору показників ушкодження біомолекул у гепатоцитах смугастого даніо *D. rerio*, який **відрізняється** тим, що на основі відсоткового обчислення показників ушкодження біомолекул у тканинах даніо після експозиції тварин в присутності пестицидів або зразків води з природних водойм, забруднених стоками з полів, та екстракту водоростей протягом 14 діб та порівняння їх з контролем оцінюють коригуючий потенціал мікроводоростей щодо пошкоджень, завданих пестицидами нецільовим водним організмам; при цьому результати визначення показників пошкоджень уніфікують, обраховуючи відхилення від контрольних значень, та інтегрують за формулою: ІУБ (інтегральний індекс ушкодження біомолекул)=(Утворення оксирадикалів+Рівень окисних модифікацій протеїнів+0,1\*Рівень ТБК-активних продуктів+0,1\*Рівень фрагментації ланцюгів ДНК)-Загальна антиоксидантна активність.

10

15