

УДК 597.2.5:591.11:574.5

МЕТОД ІНТЕГРОВАНОЇ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ ГІДРОЕКОСИСТЕМ ЗА ЦИТОГЕНЕТИЧНИМ ГОМЕОСТАЗОМ АБОРИГЕННИХ ВИДІВ РИБ

¹*Пилипенко Ю.В.* – д. с.-г. наук, проф.,

²*Клименко М.О.* – д. с.-г. наук, проф.,

³*Бедункова О.О.* – канд. с.-г. наук, доцент,

¹*Херсонський державний аграрний університет, Україна,
pilipenko_yurii@ukr.net*

²*Національний університет водних ресурсів
і природокористування, м. Рівне, Україна*

Наведено експрес-метод діагностики еколого-токсикологічного стану водного об'єкту за допомогою мікроядерного (MN) тестування периферійної крові (за частотою ядерних порушень еритроцитів) аборигенних видів риб, який передбачає проведення польового (відбір гематологічного матеріалу, формування та первинна обробка «кров'яних» препаратів) і лабораторного (фарбування препаратів, їх опрацювання, аналіз та оцінка) етапів досліджень. Метод дає високу точність і оперативність визначення рівня антропогенного впливу на представників іхтіофауни, передбачає проведення діагностики стану водного об'єкту за допомогою інтегральної 5-бальної шкали.

Ключові слова: гідроекосистема, біомоніторинг, аборигенні види риб, кров, мікроядерне тестування, діагностика, інтегральна шкала.

Постановка проблеми. В останні роки все більшої актуальності набувають питання оцінки стану гідроекосистем різного типу і походження згідно з вимогами водокористувачів, фіксації та прогнозування змін, що відбуваються в них під дією антропогенних чинників, обґрунтування на їх підставі компенсаційних природо- й водоохоронних заходів. Одночасно постає проблема конструювання високопродуктивних екосистем, забезпечення їх сталого функціонування, керування і контролю за процесами формування як якісних характеристик води, так і водних біоресурсів.

В умовах дедалі зростаючого антропогенного навантаження гідроекосистеми виявились надзвичайно уразливими, оскільки акумулюють більшу частину забруднюючих речовин, які потрапляють на територію водозбору та інтегрують всі зміни навколишнього середовища. Тривалий вплив забруднюючих речовин призводить до структурно-функціональних перебудов як абіотичної, так і біотичної складових гідроекосистем, які

відрізняються від їх природних модифікацій, що виключає можливість їх повернення до вихідного стану [9, 15].

При оцінках екологічних наслідків забруднення вод, в рамках екосистемного інтегрованого підходу, на думку науковців перевагу слід надавати дослідженню різних видів риб. Зокрема, такі світові системи моніторингу як Environmental Monitoring and Assessment Program (EMAP, 1992), Mid-Atlantic Highlands Assessment (МАНА, 1997), European Environment Agency (EEA, 2003), Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality (ANZECC and ARMCANZ, 2000), Environment Canada (ЕС, 2004), для оцінки рівня забруднення водних об'єктів, особливо речовинами токсичного характеру, використовують відгуки певних функціональних систем організму риб. Проте слід зазначити, що достовірність подібних оцінок залежить як від досвіду виконавців, так і від наявності інтегральних систем критеріальної оцінки водойм, розміщених в різних фізико-географічних зонах [6].

Аналіз наявного досвіду вирішення окресленої проблеми доводить, що основним напрямом на перспективу тут має стати розробка нових експрес-методів, які зможуть використовуватись як засоби оперативної і достовірної діагностики екологічного стану гідроекосистем різного типу.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На сьогодні достатнє поширення отримала діагностика стану водних об'єктів, що заснована на методах біотестування та біоіндикації. Перші передбачають лабораторну оцінку реакцій рослинних або тваринних тест-організмів різних систематичних груп, які вводяться у водне середовище на певний час та спрямовані на виявлення факту гострої або хронічної токсичності досліджуваних зразків води по відношенню до контрольних. Застосування подібних методів ускладнюється необхідністю тривалого дотримання чистоти експерименту, крім того використання в якості тест-організмів лабораторних культур гідробіонтів досить часто призводить до недостатньої достовірності результатів діагностики, наслідком чого є низька результативність дій, спрямованих на відновлення порушеної природної рівноваги гідроекосистем. У біоіндикаційних дослідженнях, на відміну від біотестування, використовується аборигенні гідробіонти, які адаптовані до життя і відтворення в умовах конкретних водоймах, навіть у разі значного забруднення останніх комунальними, промисловими та сільськогосподарськими стоками. Однак, більшість методів оцінки резистентності водної флори та фауни мають складнощі технічної реалізації через сезонну мінливість присутності більшості індикаторних видів гідробіонтів [5].

У спеціальній літературі відмічається, що не існує єдиного універсального критерію відносно оцінок усіх можливих сценаріїв змін стану гідроекосистем. Наприклад, при оцінках ступеню евтрофування водойм

найбільш чітку картину демонструють зміни фітопланктонних угруповань [22, 27], закислення вод – зообентосу [14, 24], токсичного забруднення – порушення в організмі риб [10, 13].

Оскільки діагностика стану гідроекосистем передбачає з'ясування відгуку біотичної складової саме на токсичні ефекти, вчені продовжують вдосконалювати підходи щодо системних досліджень, зосереджуючи їх на окремих представниках іхтіофауни. Зокрема, в умовах інтенсивного забруднення стійкість організму риб визначалась здатністю ефективно метаболізувати та виводити токсичні речовини [12]. Патологічні зміни в тілі риб дозволили визначити ступінь токсичності водного середовища [30], оцінити кумулятивні ефекти [25, 26], а також сформуванню уявлення про потенційну небезпеку для людини групи речовин, що надходять до водойм [21]. Перерозподіл токсичних речовин між тканинами риб використовували для оцінки термінів, які мали місце після забруднення водойми [18, 30]. При цьому слід відмітити, що застосування подібних інформативних засобів діагностики має свій суттєвий недолік – наявність спеціально оснащеної лабораторії та вузько спеціалізованої кваліфікації експерта-дослідника.

За відсутності лабораторних умов, для швидкої діагностики досить зручними виявились експрес методи з використанням мікроядерного тесту клітин периферійної крові риб, перевага яких полягає у простоті відбору матеріалу в польових умовах, порівняно незначних часових та матеріальних затратах, можливості опрацювати достатньо великий масив даних [28].

Патоморфологічні зміни стану клітин червоної крові у вигляді формування двоядерних еритроцитів або утворення одного чи кількох мікроядер, зафіксовано Є.Ю. Крисановим [8] при дослідженнях різних видів риб у природних водоймах різного рівня забруднення. Поява таких клітинних порушень відмічається в низки видів морських та прісноводних риб як під дією кумулятивного токсикозу [29], так і у випадку токсичного стресу [23]. Вкрай низьким ступенем цитогенетичної стабільності та підвищеним рівнем спонтанних генетичних порушень відрізняється щука [11, 17]. Цитологічні зміни у плітки (*Rutilus rutilus* L.) і щуки (*Esox lucius* L.) виявлені в річковій системі (р. Случ, Рівненська область, Україна) з різним ступенем антропогенного навантаження [1, 2], у стерляді (*Acipenser ruthenus* L.) в Пониззі Дніпра [16]. Аналогічні порушення в клітинах крові виявлені у сазана (*Cyprinus carpio* L.), краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus* L.), карася (*Carassius auratus* L.) при проведенні досліджень в лабораторних умовах [3, 19, 20].

При цьому необхідно враховувати, що для з'ясування ефектів комбінованих забруднень гідроекосистем та їх діагностика повинна проводитись в умовах реального часу за показовими та відносно простими в технічному виконанні методами і методиками оцінок фізіологічного стану організмів риб [4].

Методика проведення мікроядерного тесту еритроцитів крові риб. Метою даної методичної розробки є висвітлення експрес-методу оцінки еколого-токсикологічного стану водного об'єкту за допомогою мікроядерного (MN) тестування периферійної крові аборигенних видів риб [7]. Метод дає можливість оцінити цитогенетичний гомеостаз як на рівні окремого організму риб, так і на рівні популяції, що є індикатором стресу та відображує наявність дії мутагенних факторів у гідроекосистемі в режимі реального часу.

Застосування даної методики передбачає проведення біоіндикаційних досліджень у два етапи – польовий і лабораторний. У польових умовах здійснюється відбір гематологічного матеріалу, формування «кров'яних» препаратів і їх первинна обробка, в лабораторних умовах – фарбування препаратів, подальше їх опрацювання, аналіз та оцінка.

Польовий етап передбачає здійснення наступних послідовних операцій:

1. Взяття крові риб – здійснюється за допомогою ін'єкційного шприцу з серця, або з підшкірної хвостової артерії. При заборі крові з серця місце між грудними плавцями з боку черевця обробляють 70% спиртом для видалення слизу, що містить фермент тромбокіназу, оброблене місце просушують серветкою. Голку шприцу вводять у напрямку голови з боку черевця по сагітальній лінії між грудними плавцями під кутом 45° до фронтальної площини. При заборі крові з підшкірної артерії у молоді риб пункцію проводять у точці перетину бічної лінії та перпендикулярної до неї лінії, що йде від анального отвору, у риб старших вікових груп – у точці перетину бічної лінії та перпендикулярної до неї лінії, що йде від заднього краю анального плавця.

За певних обставин допускається відбір крові з хвостової артерії при відрізання хвостового плавця риби ножем або скальпелем. Перед цим необхідно зрізати спинний і анальний плавці, видалити луску і слиз, протерти шкіру спиртом. Потім відсікають хвостове стебло по медіальній лінії позаду анального плавника і збирають кров за допомогою пастерівської піпетки.

При взятті крові не можна тиснути на м'язи тіла риби, аби уникнути потрапляння тканинної рідини, що може вплинути на результати досліджень.

2. Формування «кров'яного» препарату – здійснюється шляхом нанесення невеличкої краплі взятої від риби крові на предметне скло на відстані 1-1,5 см від його кінця, після чого великим і вказівним пальцями правої руки беруть за ребро шліфоване скло, встановлюють його до поверхні предметного скла під кутом 30-45° і акуратно підводять тильним боком до краплі крові, в результаті чого вона розтікається. Потім ковзним рухом

шліфованого скла вперед кров рівномірно розподіляють у вигляді мазка по предметному склу. Правильно приготовлений мазок має бути рівномірним, поступово сходити нанівець, не мати розривів.

3. Первинна обробка «кров'яних» препаратів передбачає, в першу чергу, підсушування готових мазків на повітрі до зникнення вологого блиску, після чого їх фіксують у стаканчиках із 96° етиловим спиртом протягом 5-10 хв. По закінченню фіксації препарати виймають зі спирту пінцетом, розмішують вертикально на фільтрувальний папір та очікують випаровування спирту. Можливий варіант фіксації, при якому спирт наносять за допомогою піпетки на поверхню підсушених і розташованих горизонтально мазків.

Лабораторна обробка отриманих у польових умовах «кров'яних» препаратів передбачає проведення наступних послідовних операцій:

1. Фарбування мазків – проводять у два цикли. Спочатку препарати фарбують розчином метиленового синього з дистильованою водою (1:5), для чого їх розміщують у чашках Петрі з фарбою на 10-15 хв. Після закінчення фіксації препарати виймають із фарби пінцетом, промивають у дистильованій воді та чекають їх повного висихання на повітрі. Подалі препарати фарбують азур-еозином за Романовським (з додаванням буферу) у розрахунку 10-12 крапель фарби на 10 мл дистильованої води, розміщуючи їх у чашках Петрі з фарбою на 15-20 хв. Після закінчення фіксації препарати виймають із фарби пінцетом, промивають у дистильованій воді та чекають їх повного висихання на повітрі.

Можливий варіант фіксації, при якому фарби наносять за допомогою піпетки на поверхню підсушених і розташованих горизонтально мазків.

2. Аналіз «кров'яних» препаратів – виготовлені мазки розглядають під мікроскопом спочатку при малому, потім при великому збільшенні. Проглядаючи і підраховуючи близько 1000 еритроцитів, проводять типізацію їх мікроядер за схемою, яка відображена на рисунку.

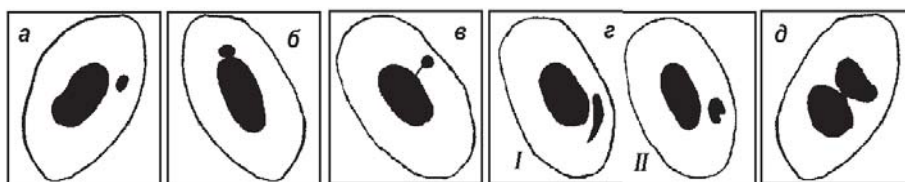


Рис. Типи мікроядер еритроцитів крові риб:

a – мікроядра «стандартного» виду; б – «прикріплені»; в – «з'єднані ниткою хроматину» з ядром; г-I – несформований ядерний матеріал у вигляді паличок; г-II – несформований ядерний матеріал у вигляді клубків; д – округлі утворення ядерного матеріалу достатньо великих розмірів (двоядерність)

Якщо за певних обставин неможливо провести аналіз 1000 еритроцитів, результати виражають за допомогою мікроядерного індексу, як відношення кількості клітин з ядерними порушеннями до загальної кількості проаналізованих клітин. Для обліку ядерних порушень вибірок різних видів риб зручно користуватись зведеною таблицею (табл. 1). Кінцеві результати підрахунків виражають в проміле (‰) для окремої вікової категорії та виду риб із зазначенням середньоквадратичної похибки.

Таблиця 1. Зведена таблиця обліку ядерних порушень еритроцитів крові риб (зразок)

Вид риб	Стать та вік особин	Кількість проаналізованих клітин	Кількість клітин з порушеннями				Частота порушень, ‰		
			мікроядра	два ядра	інші	Всього	на особину	на вікову групу	на вид
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	♂ / 0+	N_1	X_1	Y_1	Z_1	Σ_1	$M_1 = (\Sigma_1 * 1000) / N_1$	$\bar{M} \pm m$	
	♀ / 2+	N_2	X_2	Y_2	Z_2	Σ_2	$M_2 = (\Sigma_2 * 1000) / N_2$		
		
		
		
		
	♂ / 4+	N_n	X_n	Y_n	Z_n	Σ_n	$M_n = (\Sigma_n * 1000) / N_n$		
		$\Sigma(N_1-N_n)$	$\Sigma(X_1-X_n)$	$\Sigma(Y_1-Y_n)$	$\Sigma(Z_1-Z_n)$	$\Sigma(\Sigma_1-\Sigma_n)$			

3. Оцінка отриманих даних – передбачає проведення діагностики здоров'я досліджуваного водного об'єкту за допомогою інтегральної шкали (табл. 2), яку було розроблено спираючись на факторні статистичні залежності критеріїв якості поверхневих вод річок Поліської зони України із частотою ядерних порушень еритроцитів крові риб. Дана шкала передбачає можливість якісної інтегральної оцінки річкових гідроекосистем за групою цитогенетичних порушень найбільш масових видів риб, які формуються внаслідок комбінованих ефектів автохтонного та алохтонного забруднення водного середовища.

Серед переваг «Методу інтегрованої діагностики стану річкових гідроекосистем за цитогенетичним гомеостазом аборигенних видів риб» слід виділити наступні позиції:

- локальність, тобто врахування фонових концентрацій забруднюючих речовин без необхідності їх вимірювань;

Таблиця 2. Інтегральна шкала діагностики екологічного стану річкових гідроекосистем за цитогенетичними порушеннями еритроцитів крові аборигенних видів риби

Частота ядерних порушень еритроцитів крові аборигенних видів риби, ‰						Якісна характеристика цитогенетичного гомеостазу організму	Група цитогенетичних ушкоджень	Інтегральний стан «здоров'я» гідроекосистеми
верховодка (<i>Alburnus alburnus</i> L.)	плітка (<i>Rutilus rutilus</i> L.)	краснопірка (<i>Scardinius erythrophthalmus</i> L.)	окунь (<i>Perca fluviatilis</i> L.)	сріблястий карась (<i>Carassius gibelio</i> Bloch)	лящ (<i>Abramis brama</i> L.)			
≤1	≤1,5	≤1	≤1,5	≤0,5	≤1,5	Непорушений	I	Сприятливе (відсутність прояву комбінованих ефектів забруднень)
1,1–2,0	1,6–3,5	1,1–2,5	1,6–3,0	0,6–1,5	1,5–2,0	Умовно непорушений	II	
2,1–3,5	3,6–5,0	2,5–3,5	3,1–4,5	1,6–2,0	2,1–3,5	Початкові порушення	III	Насторожуюче (помітний прояв комбінованих ефектів забруднень)
3,6–4,5	5,0–6,5	3,6–4,5	4,6–6,0	2,0–2,5	3,6–5,0	Середні порушення	IV	Загрозливе (значний прояв комбінованих ефектів забруднень)
≥4,6	≥6,6	≥4,5	≥6,0	≥2,6	≥5,1	Помітні порушення	V	Критичне (максимальний прояв комбінованих ефектів забруднень)

- оцінка впливу не ізольованих шкідливих чинників, а реально існуючих у водному середовищі комплексу речовин;
- врахування віддалених наслідків впливу забруднення на рибні ресурси та гідроекосистему;
- можливість визначення верхньої та нижньої межі діючих факторів;
- можливість уточнення якісних характеристик цитогенетичного гомеостазу риби у міру накопичення нових даних про адаптації їх організмів до шкідливих впливів;
- можливість і зручність проведення порівняльних оцінок різних досліджуваних гідроекосистем.

Висновки. Результатом використання запропонованого методу є можливість отримання інтегральної відповіді про еколого-токсикологічний стан водойм за показниками частоти зустрічі мікроядер та несформованого ядерного матеріалу в еритроцитах периферійної крові риби. Метод дає високу точність визначення рівня антропогенного впливу на представни-

ків іхтіофауни та оперативність заключення про екологічний стан гідроекосистеми. Технічний результат досягається тим, що визначення частоти зустрічі ядерних порушень в еритроцитах проводиться для різновікових груп найбільш масових аборигенних видів риб дослідних водойм. Перевагою пропонованого методу є спрощення процедури біомоніторингу та можливість його проведення як початківцями, так і досвідченими експертами.

МЕТОД ИНТЕГРИРОВАННОЙ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ ГИДРОЭКОСИСТЕМ ЗА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМ ГОМЕОСТАЗОМ АБОРИГЕННЫХ ВИДОВ РЫБ

¹**Пилипенко Ю.В.** – д. с.-х. наук, проф.,

²**Клименко М.А.** – д. с.-х. наук, проф.,

³**Бедункова О.А.** – канд. с.-х. наук, доцент,

¹*Херсонський державний аграрний університет, Україна,
pilipenko_yu@ukr.net*

²*Национальный университет водных ресурсов и природопользования,
г. Ровно, Украина*

Представлен экспресс-метод диагностики эколого-токсикологического состояния водного объекта при помощи микроядерного (*MN*) тестирования периферийной крови (по частоте ядерных нарушений эритроцитов) аборигенных видов рыб, который предусматривает проведение полевого (отбор гематологического материала, формирование и первичная обработка «кровяных» препаратов) и лабораторного (покраска препаратов, их обработка, анализ и оценка) этапов исследований. Метод дает высокую точность и оперативность определения уровня антропогенного влияния на представителей ихтиофауны, предусматривает проведение диагностики состояния водного объекта при помощи интегральной 5-бальной шкалы.

Ключевые слова: гидроэкосистема, биомониторинг, аборигенные виды рыб, кровь, микроядерное тестирование, диагностика, интегральная шкала.

INTEGRATED METHOD OF HYDROECOSYSTEM ASSESSMENT BASED ON CYTOGENETIC HOMEOSTASIS OF NATIVE FISH SPECIES

Pylypenko Yu.V., Klymenko M.O., Biedunkova O.O.

The authors present a rapid method for assessing the ecological and toxicological state of water bodies basing on the results of micronucleus (*MN*) test of peripheral blood (the frequency of nuclear violations in red blood cells) in native fish species which includes field (haematological material selection, formation and primary processing of

"blood" solutions) and laboratory (colouring of solutions, their processing, analysis and evaluation) research stages. The method provides high accuracy and efficient response regarding the level of human impact on fish fauna representatives; it anticipates assessment of the water body according to an integrated 5-point scale.

Keywords: hydroecosystem, biomonitoring, native fish species, blood, micronucleus test, assessment, integrated scale.

ЛІТЕРАТУРА

13. Бедункова О.О. Гомеостаз риб як інструмент оцінки критичних навантажень на гідроекосистему малої річки. / О.О. Бедункова // Гідробіолог. журнал. – Т. 52, №3. – 2016. – С. 26-34.
14. Бедункова О.О. Стабільність розвитку та цитогенетичний гомеостаз іхтіопопуляцій річки Случ у сучасних умовах антропогенного навантаження / О.О. Бедункова // Рибогосподарська наука України. – Вип. № 1 (31). – К., 2015. – С. 56-70.
15. Влияние загрязнения водной среды ионами Pb²⁺, Cd²⁺ и нефтью на накопление генетически индуцированных повреждений рыб / Габибов М.М., Абдуллаева Н.М., Ортабаева Л.М. [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – Т. 13, № 1(5). – 2011. – С. 1068-1070.
16. Горовая А.И. Мониторинговый контроль состояния экосистем на основе цитогенетических методов / А.И. Горовая, Т.В. Скворцова, А.В. Павличенко, С.М. Лисицкая // Збірник наукових статей «III-го Всеукраїнського з'їзду екологів з міжнародною участю». – Вінниця, 2011. – Том. 1. – С. 314-317.
17. Клименко М.О. Моніторинг довкілля. / М.О. Клименко, Н.В. Кнорр, Ю.В. Пилипенко. – К: Кондор, 2010. – 286 с.
18. Клименко М.О. Огляд підходів до оцінювання «здоров'я» гідроекосистем за показниками гомеостазу риб / М.О. Клименко, Ю.В. Пилипенко, О.О. Бедункова // Вісник Дніпропетр. університету. Біологія, екологія. – 24 (1). – 2016. – С. 61-71.
19. Клименко М.О. Спосіб експрес-оцінки стану гідроекосистем за MN-тестом периферійної крові риб / М.О. Клименко, Ю.В. Пилипенко, О.О. Бедункова // Патент на корисну модель № 109166. UA.МПК (2016.01) G01N33/18. – Бюл. № 15. – 2016.
20. Крысанов Е.Ю. Анеуплоидия и хромосомный мозаицизм у рыб. // Автореф. ... канд. биол. наук: Институт эволюционной морфологии и экологии им. А.Н. Северова. / Е.Ю. Крысанов. – М., 1987. – 20 с.
21. Кудерский Л.А. Последствия хозяйственной деятельности на внутренних водоемах / Л.А. Кудерский // Материалы 38 Пленума Ихтиологической комиссии. – М., 1990. – С. 52–79.

22. Кудерский Л.А. Рыбы как биологические индикаторы состояния водной среды // Л.А. Кудерский / Методы ихтиологических исследований: Тез. докл. I-го Всес. симпозиума по методам ихтиолог. исследований – Л., 1987. – С. 71-73.
23. Лугаськова Н.В. Видовая специфика цитогенетической стабильности рыб в условиях эвтрофного водоема. / Н.В. Лугаськова. – М. : Экология. – 2003. – № 3. – С. 235-240.
24. Микряков Д.В. Влияние некоторых экологических факторов на содержание антигенреагирующих лимфоцитов в организме карпа *Surpinus carpio* / Д.В. Микряков, В.Р. Микряков, В.М. Степанова // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: расширенные материалы IV Международной конференции. – Ярославль: Филигрань, 2015. – С. 202-209.
25. Моисеенко Т.И. Морфофизиологические перестройки организма рыб под влиянием загрязнения (в свете теории С.С. Шварца) / Т.И. Моисеенко // Экология, 2000. – № 6. – С. 463-472.
26. Моисеенко Т.И. Зональные особенности закисления вод / Т.И. Моисеенко, Н.А. Гашкина // Водные ресурсы. – 2011. – Т. 38, № 1. – С. 1-17.
27. Пилипенко Ю.В. Екологія малих водосховищ Степу України: Монографія / Ю.В. Пилипенко. – Херсон: Олди-плюс, 2007. – 303 с.
28. Пилипенко Ю. Сравнительный анализ цитогенетического гомеостаза годовиков стерляди (*Acipenser ruthenus*) разного происхождения / Ю.Пилипенко, Н. Клименко, О. Бедункова, В. Пругатарьев // Международ. научно-практ. конференция «Аквакультура осетровых: современные тенденции и перспективы». – Херсон: Гринь Д.С., 2016. – С. 137-144.
29. Смагин А.И. Цитогенетическое исследование рыб из водохранилища вблизи размещения отходов ПО «МАЯК» / А.И. Смагин, Н.В. Лугаськова, Т.Б. Меньших // Проблемы радиоэкологии. – Вып. 7. – Екатеринбург. – 2005. – С. 97 – 118.
30. Albalat A., Potrykus J., Pempkowiak J., Porte C. Assessment of organotin pollution along the Polish coast (Baltic Sea) by using mussels and fish as sentinel organisms // Chemosphere. – 47. – 2002. – Pg. 165-171.
31. Arhipchuk V.V., Garanko N.N. Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fish fin cells. // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 62(1). – 2015. – Pg. 42-52.
32. Cavas T. In vivo genotoxicity evaluation of atrazine and atrazine-based herbicide on fish *Carassius auratus* using the micronucleus test and the comet assay // Food Chem. Toxicol. – 49. – 2011. – Pg. 1431-1435.
33. Dórea J.G. Persistent, bioaccumulative and toxic substances in fish: Human health considerations // Sci. Total Environ. – 400. – 2008. – Pg. 93-114.

34. Garmendia M., Borja Á., Franco J., Revilla M. Phytoplankton composition indicators for the assessment of eutrophication in marine waters: Present state and challenges within the European directives // *Mar. Pollut. Bull.* – 66. – 2013. – Pg. 7-16.
35. Gutiérrez J.M., Villar S., Plavan A.A. Micronucleus test in fishes as indicators of environmental quality in subestuaries of the Río de la Plata (Uruguay) // *Mar. Pollut. Bull.* – 91. – 2015. – Pg. 518-523.
36. Halsband C., Kurihara H., Potential acidification impacts on zooplankton in CCS leakage scenarios // *Mar. Pollut. Bull.* – 73. – 2013. – Pg. 495-503.
37. He M., Luo X., Chen M., Sun Y., Chen S., Mai B. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers and decabromodiphenyl ethane in fish from a river system in a highly industrialized area, South China. // *Sci. Total Environ.* – 419. – 2012. – Pg. 109-115.
38. Jayaprakash M., Kumar R. S., Giridharan L., Sujitha S.B., Sarkar S.K., Jonathan M.P. Bioaccumulation of metals in fish species from water and sediments in macrotidal Ennore creek, Chennai, SE coast of India: A metropolitan city effect // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* – 120. – 2015. – Pg. 243-255.
39. Karadžić V., Subakov-Simić G., Krizmanić J., Natić D. Phytoplankton and eutrophication development in the water supply reservoirs. // *Garaši and Bukulja (Serbia). Desalination.* – 255. – 2010. – Pg. 91-96.
40. Ledebur M., Schmid W. The micronucleus test methodological aspects *Mutation Research // Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* – 19. – 1973. – Pg. 109-117.
41. Nunes E.A., Lemos C.T., Gavronski L., Moreira T.N., Oliveira N.C.D., Silva J. Genotoxic assessment on river water using different biological systems // *Chemosphere.* – 84. – 2011. – Pg. 47-53.
42. Torres L., Nilsen E., Grove R., Patiño R. Health status of Largescale Sucker (*Catostomus macrocheilus*) collected along an organic contaminant gradient in the lower Columbia River, Oregon and Washington, USA // *Sci. Total Environ.* – 484. – 2014. – Pg. 353-364.