

УДК 639

DOI 10.18286/1816-4501-2019-3-94-99

## **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГОМЕОСТАЗ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА (*CLARIAS GARIEPINUS*) НА ФОНЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКА «СПОРОТЕРМИН»**

**Спирина Елена Владимировна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

**Романова Елена Михайловна**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел. 8(8422)55-23-75;

e-mail: elspirin@yandex.ru

**Ключевые слова:** индустриальная аквакультура, африканский клариевый сом, гематологические показатели, цитогенетический гомеостаз, микроядерный тест.

В статье рассматривается перспективность использования пробиотика «Споротермин» при выращивании африканских клариевых сомов в условиях индустриальной аквакультуры. «Споротермин» – пробиотик последнего поколения на основе споровых форм культур микроорганизмов *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* с лактозой в качестве наполнителя. «Споротермин» проявляет иммуномодулирующий эффект, обладает антистрессовым действием, нормализует кишечный микробиоценоз, стимулирует рост и наращивание массы тела, повышает жизнеспособность и сохранность. Целью работы являлось исследование влияния пробиотика «Споротермин» на гематологические показатели и цитогенетический гомеостаз африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в индустриальной аквакультуре. Оценку гематологических параметров клариевых сомов производили стандартными методами, цитогенетический гомеостаз определяли с помощью микроядерного теста. Результаты наших исследований показали, что у клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», наблюдается увеличение уровня гемоглобина, аланиновой и аспарагиновой трансфераз, общего белка. Все эти показатели влияют на выживаемость и интенсивность роста клариевых сомов. При исследовании цитогенетического гомеостаза было установлено, что использование пробиотика «Споротермин» приводит к снижению числа нарушений на клеточном уровне. На фоне Споротермина число клеток с микроядрами «стандартного» вида снижалось с 0,4 % до 0,075 %. Клетки с «прикреплёнными» микроядрами, а также «соединёнными с ядром нитью хроматина», с неоформленным ядерным материалом в виде палочек, с образованиями ядерного материала значительных размеров в виде круглой формы, на фоне применения «Споротермина», отсутствовали.

**Исследования выполнялись по гранту РФФИ, проект 18-016-00127**

### **Введение**

В настоящее время наблюдается растущий спрос на продукцию аквакультуры, позволяющей круглогодично обеспечивать свежей, не зараженной инвазиями рыбой. Перспективным объектом аквакультуры является клариевый

сом (*Clarias gariepinus*), являющийся быстрорастущим видом с периодом роста (от личинки до товарной рыбы) 6 месяцев. Мясо клариевого сома богато омега-3 жирными кислотами, необходимыми для повышения эластичности кровеносных сосудов, кожи и нормальной работы

сердечно-сосудистой системы. Кроме того, выращивание клариевого сома позволяет не тратить много ресурсов на оптимизацию параметров среды при выращивании товарной рыбы. Кроме прочего для этого вида рыб характерна высокая эффективность усвоения кормов [1].

Выращивание клариевого сома в условиях индустриальной аквакультуры сопровождается стрессовыми факторами: транспортировкой, обловом, пересадкой, плотностью посадки, качеством комбикормов, составом лекарственных средств и др. Для профилактики стрессов у рыб применяют сбалансированные комбикорма, в состав которых входят биологически активные вещества - пробиотики [2]. В число высокоэффективных пробиотиков входит «Споротермин», содержащий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, способный преобразовывать свои вегетативные клетки в споры при наступлении неблагоприятных условий и в таком состоянии способен находиться долгое время до момента наступления благоприятных условий для роста. Споры очень устойчивы: могут переносить воздействие кислот, замораживание и радиоактивное облучение, нагрев свыше 100 °С. При попадании в благоприятную среду (в кишечник) создается стимул для перехода в активную вегетативную форму и быстрого роста колоний бактерий. Данные свойства дают возможность широкого промышленного применения пробиотика «Споротермин» в качестве добавки в комбикорма при выращивании клариевых сомов для снижения уровня условно-патогенной микрофлоры в органах и тканях. Применение пробиотика снижает бакобсеменность рыб. Препарат «Споротермин» способствует оптимизации обмена веществ клариевых сомов и повышает снабжение организма рыб биологически активными и строительными веществами, способствует качественному перевариванию пищи.

Исследуемая добавка действенна на обширной группе микроорганизмов, которые являются провокаторами инфекционных болезней рыб: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella sp.*, *Salmonella choleraesuis*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter agglomerans* и др. [3].

Для оценки физиологического состояния рыб чаще всего используют гематологические параметры. Однако исследования гематологических параметров африканского клариевого

сома в настоящее время недостаточно обобщены и отсутствуют показатели нормы.

Для оценки здоровья рыб использовали показатели клеточного регулирующего механизма [4]. При этом за основу брали микроядерный тест [5]. При постановке микроядерного теста определяли количество клеток с микроядрами, сформированными в эритроцитах исследуемых рыб из хромосомного материала, с исключением из него центромеры или хромосом, отставших при расхождении в период анафазы.

При делении клеток данный хромосомный материал поступает исключительно лишь в одну из дочерних клеток. Это обуславливает создание одного или нескольких микроядер [5, 6]. Данный процесс характеризуется дефектами веретена деления клетки, поэтому происходит нарушение процесса расхождения хромосом, образуются микроядра, свидетельствующие о нарушении цитогенетического гомеостаза, и как следствие, снижении жизнеспособности клеток.

Оценку цитогенетического гомеостаза проводят для организмов, подвергающихся действию загрязнителей среды, так как микроядерный тест, позволяющий оценить цитогенетический гомеостаз, является одним из наиболее практических и кратковременных тестов в токсигенетике [6, 7, 8, 10].

Микроядерный тест является быстрым, дешёвым и сравнительно простым, не зависит от кариотипа исследуемого вида, можно проводить в тканях с низкой митотической активностью. Микроядерный тест можно использовать для мониторинга мутагенов различной природы [7, 9, 11].

Целью работы являлось исследование влияния пробиотика «Споротермин» на гематологические показатели и цитогенетический гомеостаз африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в индустриальной аквакультуре.

#### **Объекты и методы исследований**

Материалом для исследования послужили африканские клариевые сомы, выращенные в лаборатории кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Для эксперимента молодёжь клариевого сома в возрасте 2 месяцев разделили на 2 опытные группы по 50 особей в каждой, группы были распределены в аквариумы объемом 350 литров, функционирование которых осуществлялось в автономном режиме. Температуру воды во всех бассейнах поддерживали на одинаковом уровне 26 °С, содержание кислорода в воде было на уровне 4 мг/л. Кормление

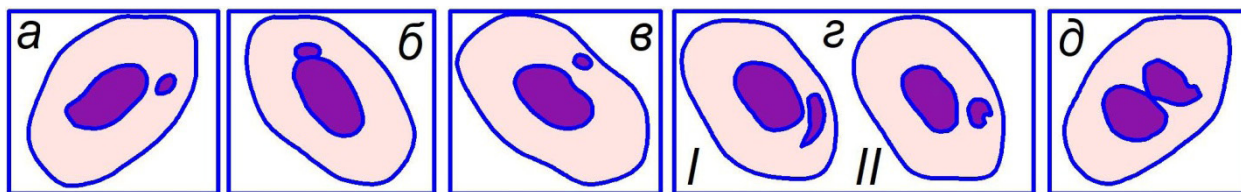


Рис. - Схематическое изображение видов микроядер

молоди и поддержание гидрохимических показателей качества воды проводили в обычном режиме.

Отбор крови у африканского клариевого сома осуществляли прижизненно из хвостовой артерии путём каудозектомии у особей, не имеющих видимых внешних повреждений. Выборочная совокупность составила по 10 особей из группы. Гематологические параметры клариевого сома определяли с использованием анализатора биохимического RT-1904С и гемоглобинометра фотометрического портативного «МиниГем+».

Для подсчета микроядер готовили мазки крови, окрашивали их по Романовскому–Гимза. Препараты крови анализировали при увеличении 2500<sup>x</sup> с использованием микроскопа «Микромер 2 вар. 3-20». Подсчитывали  $\approx 2 \cdot 10^3$  нормальных красных кровяных телец от каждого исследуемого образца рыбы, регистрируя число клеток с микроядрами. Определение типа микроядер производили согласно схеме (рис.): микроядра «стандартного» вида - «а», «прикреплённые» - «б», «соединёнными с ядром нитью хроматина» - «в», неформленный ядерный материал в виде палочек «г-I» или клубков «г-II», образования ядерного материала круглой формы сравнительно значительных габаритов «д» [5]. Сопоставление результатов, полученных в экспериментальной группе и в группе контроля, осуществляли, используя суммарную частоту

клеток с микроядрами.

#### Результаты исследований

Оценку гематологических показателей и цитогенетического гомеостаза африканского клариевого сома проводили у рыб, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин» и без него. Были получены следующие результаты, изложенные в табл. 1.

Гемоглобин представляет собой четвертичную структуру белка, содержащегося в эритроцитах и обеспечивающего перенос кислорода и углекислого газа. Снижение концентрации гемоглобина в крови у клариевого сома свидетельствует о нарушениях в гемопоэзе. Уровень гемоглобина у клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», составлял 73,6 г/л, что выше уровня контроля - 65,3 г/л. Высокий уровень гемоглобина обеспечивает более интенсивный обмен веществ, усиление внутреннего дыхания организма клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», следовательно, происходит повышение резистентности организма.

Одним из параметров, отражающих общее состояние организма, является скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Достоверных различий между показателями СОЭ обнаружено не было.

Уровень общего белка у клариевых сомов, выращенных с добавлением пробиотика «Споротермин», - 51 г/л, выше контрольного уровня, который составляет 36 г/л, что позволяет выявить тенденцию к увеличению белкового обмена у сомов, потреблявших пробиотик «Споротермин».

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) принимает участие в обмене белков, осуществляя окислительное дезаминирование аминокислот. У клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», уровень АЛТ был на уровне 226 ед./л, что выше, чем в контрольной группе (65 ед./л), это также свидетельствует в пользу повышения интенсивности белкового обмена.

Таблица 1

Гематологические параметры клариевого сома на фоне использования пробиотика «Споротермин»

Параметр	с пробиотиком «Споротермин»	Контроль
Гемоглобин, г/л	73,6	65,3
СОЭ, мм/ч	4	3
Общий белок, г/л	51	36
АСТ, ед./л	36	19
АЛТ, ед./л	226	65
Холестерин, ммоль/л	4,01	3,09
Мочевая кислота, ед./л	266	138
Креатинин, мкмоль	104	78

Результаты содержания аспартаминам-трансферазы (АСТ) в сыворотке показали, что уровень АСТ у клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», составляет 36 ед./л, что выше, чем в контроле (19 ед./л).

Анализ содержания креатинина, мочевины показал, что при выращивании клариевых сомов с использованием пробиотика «Споротермин» их уровень выше в 1,3 и 2 раза, чем в контроле. Уровень холестерина у клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», составил 4,01 ммоль/л и 3,09 ммоль/л в контроле.

Результаты наших исследований показали, что у клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», наблюдается увеличение уровня гемоглобина, АСТ, АЛТ, общего белка, что влияет на выживаемость, интенсивность роста клариевых сомов. Это происходит при нормализации микробиоценоза кишечника клариевых сомов за счет подавления патогенной и условно-патогенной микрофлоры пробиотиком «Споротермин». Все эти процессы в организме сомов способствуют повышению его естественной резистентности.

На следующем этапе нашей работы мы исследовали цитогенетический гомеостаз клариевых сомов, подсчитав среднюю частоту эритроцитов с микроядрами. Были получены следующие результаты (табл. 2).

При изучении препаратов периферической крови африканского клариевого сома наиболее часто встречались клетки с микроядрами вида (а) – 0,4 %, что является естественным [4], на втором месте – клетки с микроядрами вида (б) и (г-I) – 0,2 % и 0,15 % соответственно, свидетельствующие о хромосомных мутациях (табл. 3). Число клеток с микроядрами вида (г-II) и (д) составило по 0,05 %. Их возникновение связывают с нарушением формирования веретена деления клетки и отставанием хромосом при расхождении к полюсам клетки при митозе [4, 5].

У клариевых сомов, выращенных с использованием пробиотика «Споротермин», клетки с микроядрами вида (б), (в), (г-I), (г-II) и (д) отсутствовали, а у рыб, выращенных в среде без использования пробиотика «Споротермин», они присутствовали.

Одним из факторов, способствующим формированию микроядер в эритроцитах рыб, выращенных в условия индустриальной аквакультуры, являются нитриты, которые могут накапливаться в установках зам-

кнутого водообеспечения при нарушении функционирования второй стадии нитрификации в воде. При накоплении нитритов в воде у рыб формируется метгемоглобинемия, так как происходит взаимодействие нитритов с гемоглобином крови и окисление в нем двухвалентного железа [12-14]. В результате образуется метгемоглобин, поэтому происходит нарушение процесса переноса кислорода, это может привести к гипоксии. Из-за накопления молочной кислоты, холестерина и происходит снижение интенсивности синтеза белковых продуктов, в том числе белка тубулина, обеспечивающего формирование микротрубочек веретена деления и расхождение хромосом [10, 15]. Кроме того, в условиях загрязнения воды бассейнов нитритами, в условиях индустриальной аквакультуры, появление микроядер в эритроцитах рыб может быть связано с задержкой клеточного цикла на стадиях метафазы и анафазы. Нитраты ингибируют репарацию ДНК и блокируют синтез тубулинов. Поэтому оценка цитогенетического гомеостаза является индикатором здоровья рыб, их адаптационных возможностей и может использоваться для оценки влияния факторов внешней среды.

Использование пробиотика «Споротермин» приводит к снижению нарушений цитогенетического гомеостаза. Так, число клеток с микроядрами типа (а) снижается с 0,4 % до 0,075 %. Клетки с микроядрами типов (б), (в), (г-I), (г-II) и (д) на фоне применения в качестве кормовой добавки «Споротермин» отсутствуют.

#### Выводы

Использование пробиотика «Споротермин» в индустриальной аквакультуре оказало

Таблица 2

Показатели цитогенетического гомеостаза африканского клариевого сома на фоне использования пробиотика «Споротермин»

Опыт	Частота клеток с микроядрами
контроль	13,5
с пробиотиком «Споротермин»	1,5

Таблица 3

Соотношение клеток с микроядрами разных видов

	Доля с микроядрами, %	Доля клеток с микроядрами разных видов (%)					
		а	б	в	г-I	г-II	д
контроль	0,9	0,4	0,2	0,05	0,15	0,05	0,05
с пробиотиком «Споротермин»	0,075	0,075	-	-	-	-	-



положительное влияние на гематологические показатели клариевых сомов. Цитогенетическая оценка состояния африканского клариевого сома показала, что пробиотик «Споротермин» снижает уровень клеточной патологии, приводит к уменьшению частоты возникновения микроядер в эритроцитах периферической крови африканского клариевого сома, обеспечивая цитогенетический гомеостаз *Clarias gariepinus*.

#### Библиографический список

1. Артеменков, Дмитрий Владимирович. Выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) на комбикормах с добавками пробиотика Субтилис в условиях УЗВ : автореферат дис. ... кандидата сельскохозяйственных наук : Об.04.01 / Артеменков Дмитрий Владимирович. - Москва, 2013. - 22 с.

2. Пробиотики в аквакультуре / Е.А. Котова, Н.А. Пышманцева, Д.В. Осепчук, А.А. Пышманцева, Л.Н. Тхакушинова // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. - 2012. - Том 3, № 1-1. - С. 100 - 103.

3. Конструирование функционального рыбного продукта в условиях индустриальной аквакультуры / В.В. Романов, Е.М. Романова, В.Н. Любомирова, М.Э. Мухитова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1. - С. 151-156.

4. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности / Н.Н. Ильинских, А.С. Ксенц, В.Н. Ильинских [и др.]. - Томск: ТГПУ, 2011. - 312 с.

5. Крюков, В.И. Частота микроядер в клетках крови рыб пресных водоёмов полуострова Таймыр / В.И. Крюков, П.В. Кочкарёв // Образование, наука и производство. - 2013. - № 1. - С. 35-37.

6. Alimba, C.G. Cytogenotoxicity and histopathological assessment of Lekki Lagoon and Ogun River in Synodontis clarias (Linnaeus, 1758) / C.G. Alimba, Joseph Saliu, O.A. Ubani-Rex // Toxicological & Environmental Chemistry. - 2015. - Vol. 97, № 2. - P. 221-234.

7. Романова, Е.М. Оценка стабильности развития и цитогенетического гомеостаза *Rana*

*ridibunda* Pall. Ульяновской области / Е.М. Романова, Е.В. Спирина, Т.А. Спирина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2011. - Том 13, № 1. - С. 123-126.

8. Coico, R. Immunology. A short Course / R. Coico, G. Sunshine, E. Benjamin. - Hoboken, NJ: Wiley-Liss Publication, 2003. - 237 p.

9. King, R.W. When 2+2=5: The origins and fates of aneuploid and tetraploid cells / R.W. King // Biochimica et biophysica acta. - 2008. - Vol. 1786(1). - P.4-14.

10. Evaluation of chromosome aberrations, sister chromatid exchange and micronuclei in cultured cord-blood lymphocytes of newborns of women treated for epilepsy during pregnancy / M. Witczak, I. Kociszewska, J. Wilczynski [et al.] // Mutation Research. - 2010. - Vol. 701(2). - P. 111-117.

11. Ahmed, S.A. Harabawy. Ibrahim Sublethal toxicity of carbofuran pesticide on the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Hematological, biochemical and cytogenetic response / S.A. Ahmed Harabawy, Th.A. Ahmed // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2014. - Vol. 103. - P. 61-67.

12. Decordier, I. The in vitro micronucleus test: from past to future / I. Decordier, M. Kirsch-Volders // Mutation Research. - 2006. - Vol. 607, № 1. - P.2-4.

13. Турченюк, О.В. Микроядерный тест для оценки экологической обстановки окружающей среды / О.В. Турченюк, О.Л. Томшина, А.П. Кальков // Омский научный вестник. - 2006. - № 6(42). - С. 293-295.

14. Шахтамиров, И.Я. Микроядерный тест в эритроцитах рыб, обитающих в зонах стойких органических загрязнителей бассейна реки Терек / И.Я. Шахтамиров, В.Ю. Кравцов, В.П. Терлецкий // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2014. - № 34. - С. 89-92.

15. Пашков, А.Н. Микроядерный тест: прошлое, настоящее и будущее / А.Н. Пашков // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2016. - № 3. - С. 150.

# CYTOGENETIC HOMEOSTASIS AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF AFRICAN SHARPTOOTH CATFISH (*CLARIAS GARIEPINUS*) IN CASE OF APPLICATION OF SPOROTERMIN PROBIOTIC

*Spirina E.V., Romanova E.M.*  
FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University  
432017, Ulyanovsk, Novy Venets boulevard, 1; tel. 8 (8422) 55-23-75;  
e-mail: elspirin@yandex.ru

*Key words: industrial aquaculture, African sharptooth catfish, hematological parameters, cytogenetic homeostasis, micronucleus test.*

The article considers the prospects of using Sporothermin probiotic in African sharptooth catfish breeding in industrial aquaculture. "Sporotermin" is the last generation probiotic based on spore forms of cultures of microorganisms of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* with lactose as a filler. "Sporotermin" exhibits an immunomodulating effect, has an anti-stress effect, normalizes intestinal microbiocenosis, stimulates the growth and increase of body weight, increases vitality and survivability. The aim of this work was to study the effect of "Sporotermin" probiotic on hematological parameters and cytogenetic homeostasis of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) in industrial aquaculture. The hematological parameters of sharptooth catfish were assessed using standard methods, cytogenetic homeostasis was determined using a micronucleus test. The results of our studies showed that sharptooth catfish bred with application of Sporothermin probiotic have an increase in hemoglobin, alanine and aspartic transferases and total protein. All these parameters influence the survival and growth rate of sharptooth catfish. The study of cytogenetic homeostasis revealed that the use of the Sporothermin probiotic leads to a decrease in the number of disorders at the cellular level. When using sporotermin, the number of cells with micronuclei of the "standard" type decreased from 0.4% to 0.075%. Cells with "attached" micronuclei, as well as "chromatin thread connected to the nucleus", with unformed nuclear material in the form of sticks, with formation of nuclear material of significant size in the form of a round shape were absent.

## Bibliography

1. Artemenkov, D.V. Breeding of sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) on compound feeds with addition of *subtilis* probiotic in the conditions of recirculating aquaculture system: author's abstract of dissertation of Candidate of Agricultural Sciences / D.V. Artemenkov. - M.: Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 2013. -- 23 p.
2. Probiotics in aquaculture / E.A. Kotova, N.A. Pyshmantseva, D.V. Osepchuk, A.A. Pyshmantseva, L.N. Tkhakushinova // Collection of scientific works of All-Russian research institute of sheep and goat breeding. - 2012. - Volume 3, No. 1-1. - P. 100 - 103.
3. The development of a functional fish product in an industrial aquaculture / V.V. Romanov, E.M. Romanova, V.N. Lyubomirova, M.E. Mukhitova // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2018. - No. 1. - P. 151-156.
4. Ilyinskikh, N.N. Micronuclear analysis in the assessment of cytogenetic instability / N.N. Ilyinskikh, A.S. Ksents, V.N. Ilyinskikh and [other] - Tomsk: TSPU, 2011. - 312 p.
5. Kryukov, V.I. The frequency of micronuclei in blood cells of freshwater fish in the Taimyr Peninsula / V.I. Kryukov, P.V. Kochkarev. // Education, science and production, 2013. - No. 1. - P. 35-37.
6. Alimba, C.G., Saliu Joseph, Ubani-Rex O.A. Cytogenotoxicity and histopathological assessment of Lekki Lagoon and Ogun River in *Synodontis clarias* (Linnaeus, 1758) // Toxicological & Environmental Chemistry, 2015. - Vol. 97. - No 2. - P. 221-234.
7. Romanova, E.M. Assessment of developmental stability and cytogenetic homeostasis of *Rana ridibunda* Pall of Ulyanovsk region / E.M. Romanova, E.V. Spirina, T.A. Spirin // Vestnik of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2011. - No. 1. - V. 13. - No. 1. - P. 123-126.
8. Coico R., Sunshine G., Benjamin E. Immunology. A short Course / Hoboken, NJ: Wiley-Liss Publication, 2003. 237 p.
9. King R.W. When 2+2=5: The origins and fates of aneuploid and tetraploid cells // Biochimica et biophysica acta, 2008. - Vol. 1786(1). - P.4-14.
10. Witczak M., Kociszewska I., Wilczynski J et al. Evaluation of chromosome aberrations, sister chromatid exchange and micronuclei in cultured cord-blood lymphocytes of newborns of women treated for epilepsy during pregnancy // Mutation Research, 2010. - Vol. 701(2). - P.111-117.
11. Ahmed S.A. Harabawy, Ahmed Th.A. Ibrahim Sublethal toxicity of carbofuran pesticide on the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Hematological, biochemical and cytogenetic response // Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014. - Volume 103. - Pages 61-67.
12. Decordier I. The in vitro micronucleus test: from past to future / I. Decordier, M. Kirsch-Volders // Mutation Research. - 2006. - V. 607, № 1. - P. 2-4.
13. Micronuclear test for assessing the ecological situation of the environment // Turchenyuk O.V., Tomshina O.L., Kalkov A.P. // Omsk Scientific Vestnik, 2006. - No. 6 (42). - P. 293-295.
14. Micronuclear test in red blood cells of fish which live in the zones of persistent organic pollutants of the Terek river basin / Shakhtamirov I.Ya., Kravtsov V.Yu., Terletsky V.P. // Izvestiya of St. Petersburg State Agrarian University, 2014. - No. 34. - P. 89-92.
15. Pashkov A.N. Micronuclear test: past, present and future / A.N. Pashkov // Vestnik of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy, 2016. - No. 3. - P. 150.