



Биология и экология гидробионтов

УДК 574.21, 574.24, 504.064

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТКАНЕЙ ПИЛЕНГАСА ПРИ ПОМОЩИ ЦЕЛЬНОКЛЕТОЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ

© 2022 А. А. К. Аль-Раммахи^{1,2}, М. А. Сазыкина¹, Т. О. Барабашин^{1,3},
 М. В. Климова¹, Ш. К. Карчавва¹, М. И. Хаммами¹, И. С. Сазыкин¹

¹ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону 344090, Россия

²Технический университет им. Аль-Фулата Аль-Авсата, Наджаф 54003, Ирак

³Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону 344002, Россия

E-mail: submarinas@list.ru

Аннотация. Загрязнение гидробионтов поллютантами приводит к истощению генетических ресурсов, причем как за счет уменьшения численности видов, так и за счет деградации их генофондов, вызванной накоплением изменений генетических показателей. В связи с этим проведение экотоксикологических исследований важно как в плане прогноза состояния самих рыб, так и в отношении состояния и биоресурсного потенциала исследуемого водоема. В работе представлены результаты экотоксикологической оценки различных тканей пиленгаса (*Planiliza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)), обитающего в Азовском море, полученные методом биотестирования на основе цельноклеточных люминесцентных бактериальных сенсоров (*E. coli* MG1655 (pAlkA-lux), *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux)). Показано, что печень, жабры и мышечная ткань пиленгаса могут служить аналитическими пробами для мониторинга токсичности водных экосистем. В большинстве образцов исследованных тканей пиленгаса обнаружены токсичные эффекты, обусловленные присутствием ДНК-тропных и прооксидантных веществ. Показано, что печень и жабры более подвержены токсическому воздействию поллютантов, чем мышечная ткань. Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии антропогенной деятельности на данную популяцию рыб и могут быть полезны для оценки экотоксикологических характеристик водных экосистем.

Ключевые слова: Азовское море, рыба, печень, жабры, мышечная ткань, токсичность, lux-биосенсоры

EVALUATION OF SO-IUY MULLET TISSUES TOXICITY USING WHOLE-CELL BACTERIAL LUMINESCENT SENSORS

A. A. K. Al-Rammahi^{1,2}, M. A. Sazykina¹, T. O. Barabashin^{1,3}, M. V. Klimova¹,
Sh. K. Karchava¹, M. I. Khammami¹, I. S. Sazykin¹

¹FSAEI HE "Southern Federal University", Rostov-on-Don 344090, Russia

²Al-Furat Al-Awsat Technical University, Najaf 54003, Iraq

³Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI "VNIRO"),
Azov-Black Sea Branch of the FSBSI "VNIRO" ("AzNIIRKH"), Rostov-on-Don 344002, Russia

E-mail: submarinas@list.ru

Abstract. Contamination of aquatic organisms with pollutants leads to depletion of genetic resources, both due to a decrease in the number of species, and to degradation of their gene pools caused by accumulation of the changes in genetic parameters. In this regard, ecotoxicological studies are important both in terms of predicting the fish state and in relation to the state and the bioresource potential of the investigated water body. This paper presents the results of ecotoxicological assessment of various tissues of the so-iuy mullet (*Planiliza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)), living in the Azov Sea, obtained by biotesting based on whole-cell luminescent bacterial sensors (*E. coli* MG1655 (pAlkA-lux), *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), and *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux)). It has been shown that liver, gills and muscle tissue of so-iuy mullet can serve as analytical samples for monitoring the toxicity of aquatic ecosystems. In the majority of the investigated tissue samples of so-iuy mullet, toxic effects, induced by the presence of DNA-tropic agents and prooxidants, have been found. It has been shown that the gills and liver are much more susceptible to the toxic effects of pollutants than the muscle tissue. The obtained results indicate the negative impact of anthropogenic activities on this fish population and may be useful for assessing the ecotoxicological characteristics of aquatic ecosystems.

Keywords: Azov Sea, fish, liver, gills, muscle tissue, toxicity, lux biosensors

ВВЕДЕНИЕ

Деградация и загрязнение водных экосистем опасными поллютантами во всем мире тесно связаны с активным увеличением населения, ростом городских центров и негативными последствиями деятельности человека — бытовой, промышленной, сельскохозяйственной и пр. [1]. Загрязнители, такие как металлы, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), пестициды, а также фармацевтические препараты, представляющие риски для экосистем и здоровья человека, все чаще обнаруживаются в водной среде [1, 2].

Благодаря прямому контакту с загрязнителями воды, способности к биоаккумуляции, широкому географическому распространению и нахождению на различных трофических уровнях, важными маркерами состояния водных экосистем признаны рыбы. Рыба, находящаяся на вершине водной пищевой цепи, может накапливать токсичные вещества в своих органах и тканях непосредственно из воды или получая их с пищей. Повышенный уровень токсических веществ в рыбе может вызвать серьезные неблагоприятные последствия

для здоровья людей, которые употребляют ее в пищу. Поэтому в последние годы употребление загрязненной рыбы стало важной всемирной проблемой [3].

В связи с потребностью в мониторинге состояния здоровья водной среды и принятии надлежащих мер для снижения угроз и предотвращения неблагоприятного воздействия на водные экосистемы и их обитателей, необходимо использовать эффективные технологии для оценки качества водных экосистем. Были инициированы различные программы и конвенции для мониторинга и управления загрязнением окружающей среды. Обычно для выявления наличия загрязняющих веществ в донных отложениях применяется химический анализ, а стандарты качества окружающей среды используются для обозначения допустимых уровней загрязнителей в пробах окружающей среды. Однако химический анализ нельзя использовать в качестве единственной стратегии для оценки качества окружающей среды, поскольку современные методологии не в состоянии идентифицировать каждое присутствующее химическое

вещество, а также биодоступность загрязняющих веществ и, что важно, возможные биологические эффекты, включая аддитивные, синергетические, потенцирующие или антагонистические взаимодействия, которые могут возникнуть, когда организмы подвергаются воздействию смесей соединений. Кроме того, самые распространенные химические вещества не обязательно оказывают наибольшее биологическое воздействие на водные организмы. Важные данные для оценки экологических рисков, возникающих в водных экосистемах, можно получить с помощью биотестирования на основе цельноклеточных люминесцентных бактериальных сенсоров, которое дополняет химические анализы [4, 5].

В связи с вышесказанным целью данного исследования стала оценка токсичности обитающего в Азовском море основного промыслового вида рыб — пиленгаса, с помощью биотестирования на основе lux-биосенсоров. Представляло интерес оценить и сравнить возможность использования печени, жабр и мышечной ткани пиленгаса (*Planiliza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)) в качестве аналитических проб для мониторинга токсичности водной экосистемы Азовского моря.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили образцы тканей пиленгаса *Planiliza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). Рыба была выловлена в 2020 г. в Азовском море и достигла половой зрелости. Всего было проанализировано 30 особей пиленгаса. Этот вид рыб был акклиматизирован в Азовском море в 1976–1988 гг. и уже долгое время относится к одним из основных объектов промысла, широко используясь в качестве пищевой продукции.

Для приготовления экстрактов в колбу Эрленмейера вместимостью 50 мл вносили по 10 г исследуемых тканей рыб и 10 мл 1%-ного раствора TWEEN-80 (Amresco) в 96%-ном этаноле. Получившуюся суспензию помещали в шейкер-инкубатор Innova 40R (New Brunswick Scientific, США) и экстрагировали в течение 24 часов при температуре 30 °С и скорости вращения 250 оборотов в минуту. Полученный экстракт центрифугировали в течение 10 минут при 8000 оборотов в минуту. Супернатант аккуратно отбирали и хранили до использования при температуре -20 °С.

Для оценки токсичности исследуемых образцов рыбы использовалась батарея цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров [6]. Индуцируемые lux-биосенсоры *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) применяются для обнаружения генотоксикантов [6]. Для определения промутагенов дополнительно используется фракция микросомального фермента печени крысы S-9 (Moltox, США). Биосенсоры *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) специфически реагируют на вещества, вызывающие окислительный стресс в клетке. *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) фиксирует выработку гидропероксидов в клетке. *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) реагирует на супероксид-анион и NO. Для исправления артефактов, связанных с изменениями активности бактериальной люциферазы и не связанных с индукцией, применяется штамм с конститутивным промотором *E. coli* MG1655 (pXen7).

Биолюминесцентные штаммы получали путем трансформации *E. coli* MG1655 гибридными плазмидами pXen7, pRecA-lux, pAlkA-lux, pKatG-lux, pSoxS-lux. В этих биосенсорах использовали генную кассету *Photorhabdus luminescens* lux CDABE под контролем промоторов *Plac*, *PrecA*, *palkA*, *PkatG*, *PsoxS*, соответственно. Плазмиды были сконструированы на основе вектора pBR322 и содержат маркер селективной устойчивости к ампициллину.

Бактериальные штаммы культивировали в среде Луриа–Бертани (LB), содержащей 100 мкг/мл ампициллина. Культуры выращивали до ранней экспоненциальной фазы при 37 °С в условиях аэрации. Клетки сразу же использовали для люминесцентных тестов. Люминесценцию измеряли с помощью микропланшетного люминометра Luminoskan Ascent (Thermo Fisher Scientific, США).

Токсическое влияние исследуемых поллютантов на генно-инженерные штаммы *E. coli* определяли по индукции их биолюминесценции в течение 120-минутной экспозиции. Степень индукции люминесценции в пробах рыб оценивали с помощью коэффициента индукции (I), рассчитываемого следующим образом:

$$I = \frac{L_c \times I_k}{L_k \times I_c}, \quad (1)$$

где L_c — интенсивность люминесценции суспензии lux-биосенсора, содержащей тестируемый образец, L_k — интенсивность люминесценции

контрольной суспензии lux-биосенсора, I_c — интенсивность люминесценции суспензии lux-штамма с конститутивным промотором (*E. coli* MG1655 (pXen7)) в присутствии испытуемого соединения, а I_k — интенсивность люминесценции контрольной суспензии lux-штамма с конститутивным промотором (*E. coli* MG1655 (pXen7)). Выявленный токсический эффект оценивали как «слабый» при достоверной разнице между опытом и контролем $I < 2$, «средний» при $2 \leq I \leq 10$ и «сильный» при $I > 10$. Все эксперименты проводились в 3-х независимых повторностях. Отличия от контроля считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образцы тканей пиленгаса (жабры, печень и мышцы) были протестированы на наличие генотоксичных и прооксидантных веществ. Данные показатели были выбраны в качестве исследуемых, т. к. накопление генотоксикантов и прооксидантов в тканях гидробионтов относится к показателям экологической опасности и приводит к негативным последствиям как для них самих, так в дальнейшем и для высших трофических организмов.

По результатам исследований с люминесцентным сенсором *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) (рис. 1), эффект генотоксичности зарегистрирован в 86,7 % образцов жабр, 90 % образцов печени и 83,3 % образцов мышц.

Преимущественно регистрировались эффекты средней силы. В условиях метаболической активации (рис. 2) с биосенсорным штаммом *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) промутагенные эффекты были зарегистрированы в 40,0 % жабр, 43,3 % печени и 33,3 % мышц, соответственно. Следует отметить, что превалировали слабые эффекты генотоксичности.

Тестирование генотоксичности с использованием биосенсорного штамма *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) без метаболической активации выявило присутствие ДНК-тропных веществ в 13,3 % экстрактов жабр, 20 % печени и в 6,7 % мышц пиленгаса (рис. 3). В условиях метаболической активации промутагенные вещества выявлены в 26,7 % экстрактов жабр, в 23,3 % образцов печени и в 6,7 % мышц (рис. 4). При этом все зарегистрированные генотоксичные эффекты были слабыми.

Результаты использования двух сенсорных штаммов для определения генотоксичности исследуемых образцов свидетельствуют о необходимости

их совместного использования: *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) регистрирует повреждения ДНК, вызванные путем алкилирования, а *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) выявляет повреждение двухцепочечной ДНК с образованием одноцепочечных фрагментов. Комплексное применение обоих сенсорных штаммов позволило наиболее полно выявить генотоксические эффекты различной природы.

Для обнаружения прооксидантных эффектов в исследуемых образцах жабр, печени и мышц пиленгаса были использованы биосенсорные штаммы *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), специфически реагирующий на органические пероксиды, и *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux), селективно отвечающий в присутствии супероксид анион-радикала. С помощью сенсорного штамма *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) (рис. 5) присутствие веществ, вызывающих окислительный стресс, обнаружено в 66,7 % жабр, 63,3 % печени и 50 % мышц, соответственно.

В случае использования штамма *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) (рис. 6) процент зарегистрированных прооксидантных эффектов составил 70,0, 60,0 и 43,3 в жабрах, печени и мышцах, соответственно. В случае прооксидантных веществ преимущественно регистрировались эффекты слабой величины.

Наибольшая доля эффектов в жабрах, печени и мышцах пиленгаса (86,7 %, 90,0 % и 83,3 %, соответственно) обнаружена при использовании биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) без применения метаболической активации, что свидетельствует о присутствии прямых мутагенов, обладающих алкилирующими свойствами, а также с биосенсорами *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) и *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) (от 43,3 % до 70 %), показывающими масштабное присутствие пероксидов различной природы и веществ, вызывающих образование супероксид анион-радикала.

Следует отметить, что доля образцов жабр и печени, в которых были обнаружены ответные реакции со всеми биосенсорами, была практически одинаковой (50,6 и 50,0 %, соответственно). Количество образцов мышц, в которых зарегистрирована индукция биолюминесценции биосенсорных штаммов, составило 37,2 %. Высокая степень накопления токсикантов в печени и жабрах объясняется тем, что в основном токсичные вещества поглощаются рыбами непосредственно из воды через жабры и опосредованно с пищей [7, 8].

Аналогичные результаты были получены при исследовании пиленгаса из Азовского моря в

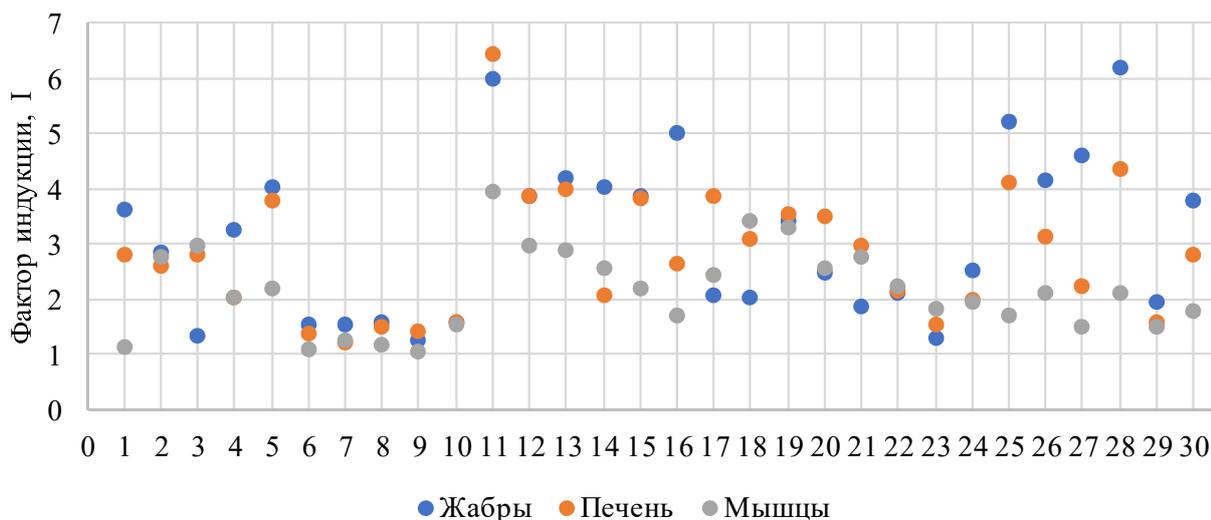


Рис. 1. Генотоксичность тканей пиленгаса (ответ биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) без применения метаболической активации)

Fig. 1. Genotoxicity of so-iuy mullet tissues (the response of *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) biosensor without metabolic activation)

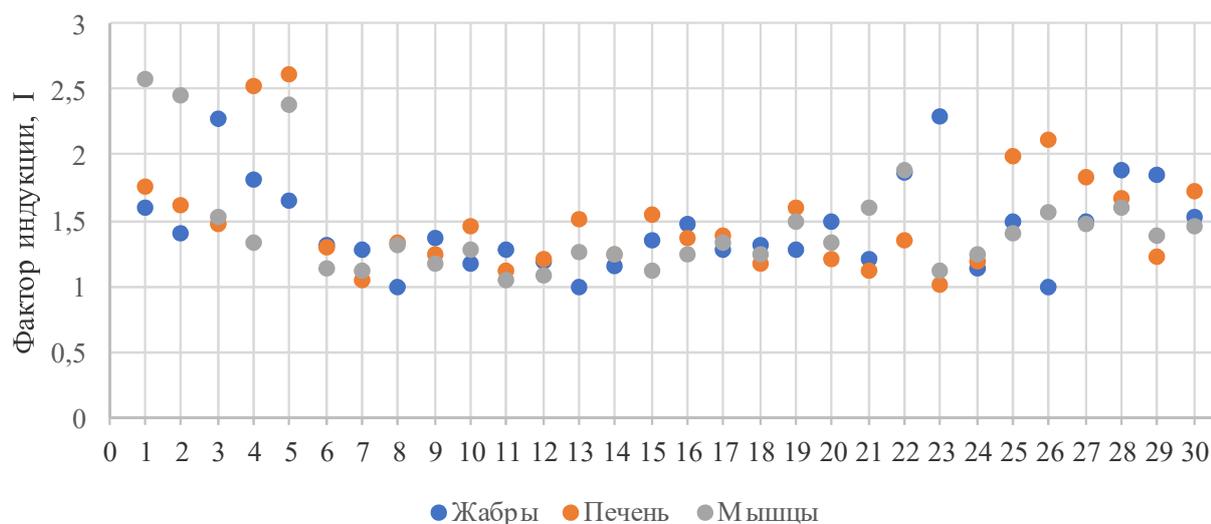


Рис. 2. Генотоксичность тканей пиленгаса (ответ биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux)) в условиях метаболической активации)

Fig. 2. Genotoxicity of so-iuy mullet tissues (the response of *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) biosensor with metabolic activation)

2009–2018 гг., где было четко установлено, что концентрации таких токсикантов, как хлорорганические пестициды, полихлорированные бифенилы и некоторые тяжелые металлы, заметно выше в печени, чем в мышцах или гонадах [9]. Также в ряде публикаций указывается, что в почках и печени рыб уровень токсикантов был выше, чем в мышцах [10, 11]. Varol и Sünbül [7] показали, что

в мышцах самый низкий уровень токсических веществ, а в печени и жабрах — самый высокий. В работе Ahmed et al. [12] приводятся данные, что печень является основным органом различных ключевых метаболических путей. Это один из наиболее чувствительных органов, в котором обнаруживаются изменения в гистологии, биохимии и физиологии после воздействия различ-

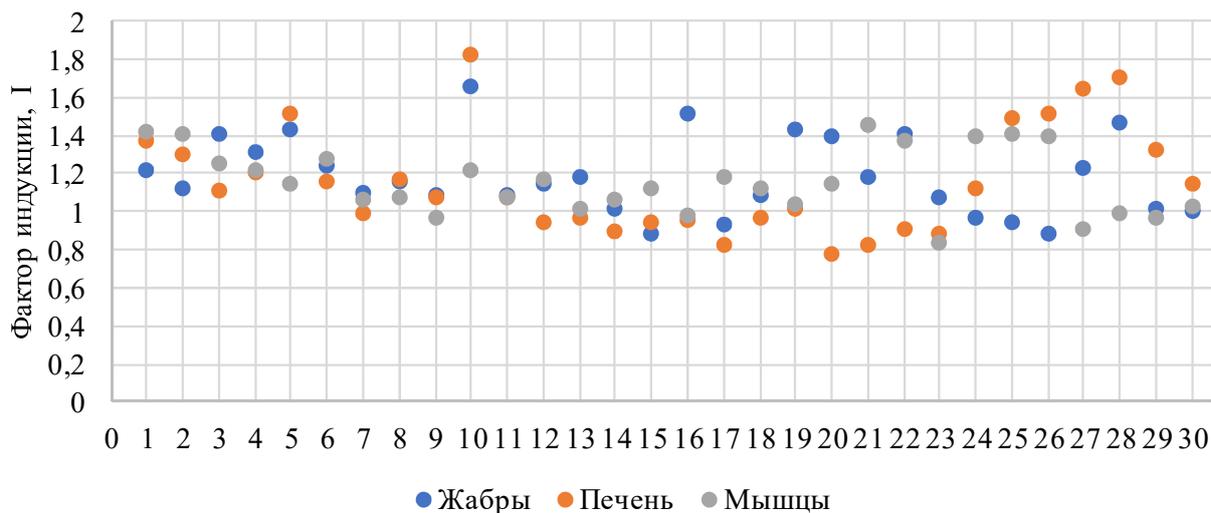


Рис. 3. Генотоксичность тканей пиленгаса (ответ биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) без применения метаболической активации)

Fig. 3. Genotoxicity of so-iuy mullet tissues (the response of *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) biosensor without metabolic activation)

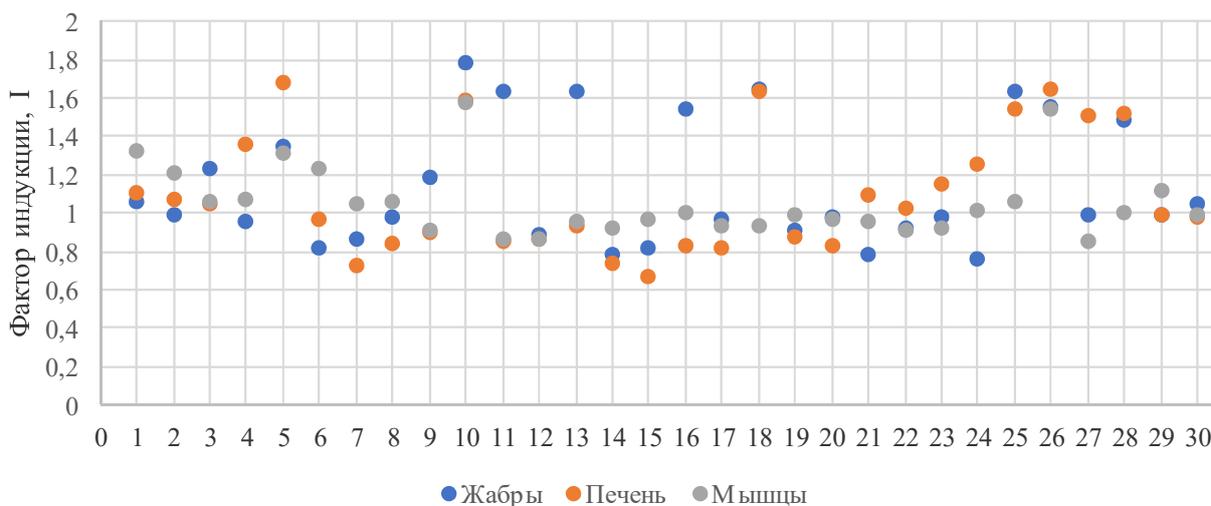


Рис. 4. Генотоксичность тканей пиленгаса (ответ биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) в условиях метаболической активации)

Fig. 4. Genotoxicity of so-iuy mullet tissues (the response of *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) biosensor with metabolic activation)

ных видов загрязнителей окружающей среды. Albuquerque с соавторами в своей работе [13] также показали, что печень является основным органом, в котором накапливаются металлы, и что анализ печени может дать больше полезной информации, чем мышцы, в плане оценки воздействия токсичных элементов и их биоаккумуляции в водных экосистемах [13]. В работе Sönmez

с соавт. [14] показано, что накопление генотоксикантов, окислительных стрессоров и веществ, вызывающих повреждение белков и мембран, в основном происходило в жабрах и в меньшей степени в печени осетровых рыб.

Жабры рыб — это важные органы дыхания и осморегуляции, также выполняющие выделительную функцию. Они имеют большую поверхность,

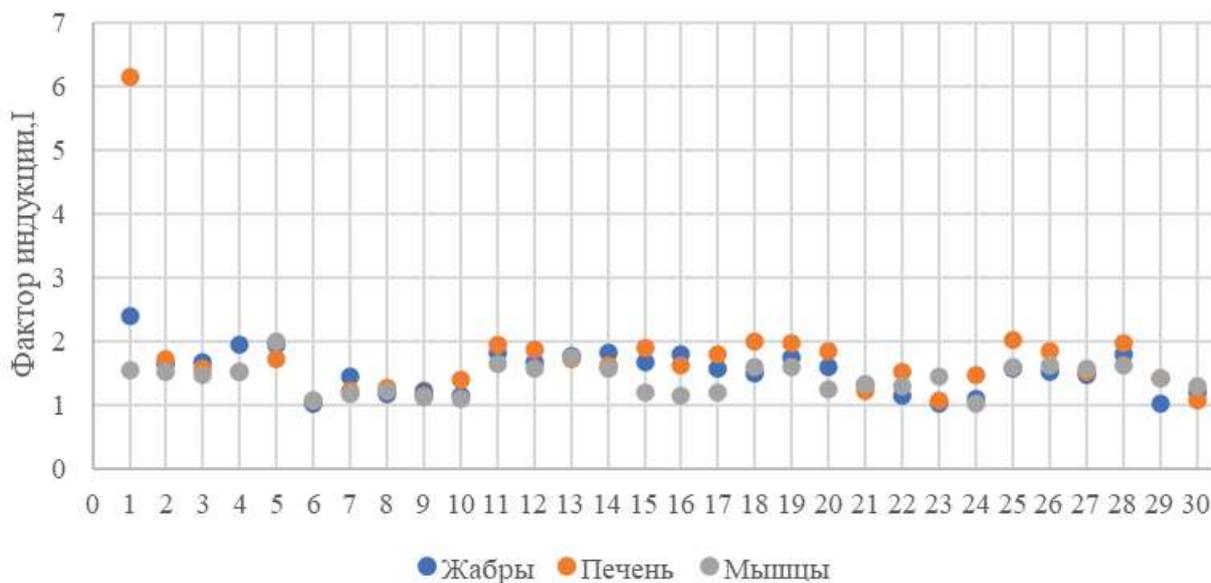


Рис. 5. Прооксидантная активность тканей пиленгаса (биосенсор *E. coli* MG1655 (pKatG-lux))

Fig. 5. Prooxidant activity of so-iuy mullet tissues (*E. coli* MG1655 (pKatG-lux) biosensor)

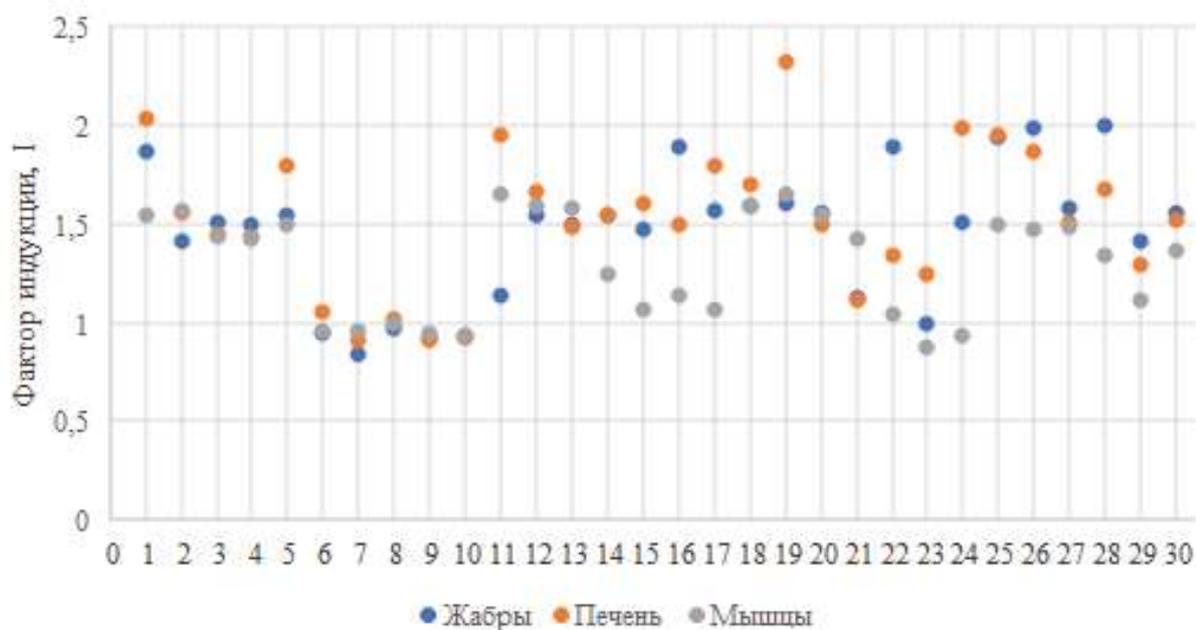


Рис. 6. Прооксидантная активность тканей пиленгаса (биосенсор *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux))

Fig. 6. Prooxidant activity of so-iuy mullet tissues (*E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) biosensor)

которая напрямую контактирует с водой [15], и поэтому респираторный дистресс является одним из первых симптомов отравления токсическими веществами. Высокая скорость поглощения веществ через жабры также делает рыбу уязвимой для токсических воздействий [15].

Тем не менее, следует отметить, что концентрации поллютантов могут проявлять значительную

изменчивость в различных органах или тканях рыб. В основном это зависит от концентрации поллютантов в воде и пище. Весьма противоречивы данные о том, что на накопление токсикантов в тканях рыб могут оказывать влияние размер рыбы, среда обитания, пол, физиологические условия (статус нереста), тип питания, химический состав воды (рН и жесткость), вид рыбы [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования продемонстрировали целесообразность использования тканей пиленгаса для биомониторинга токсичности водных экосистем, а также эффективность применения биотестирования на основе цельноклеточных бактериальных люминесцентных сенсоров для оценки токсичности. Показано, что печень и жабры более подвержены токсическому воздействию поллютантов, чем мышечная ткань. Обнаруженные эффекты, вызванные присутствием генотоксичных и прооксидантных веществ, свидетельствуют об их постепенной аккумуляции в водоеме обитания и его неблагоприятном экологическом состоянии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0029.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Häder D.-P., Banaszak A.T., Villafañe V.E., Narvarte M.A., González R.A., Helbling E.W. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: emerging problems with global implications // *Science of the Total Environment*. 2020. Vol. 713. e136586. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136586.
- Gusso-Choueri P.K., de Araújo G.S., Cruz A.C.F., de Oliveira Stremel T.R., de Campos S.X., de Souza Abessa D.M., de Oliveira Ribeiro C.A., Choueri R.B. Metals and arsenic in fish from a Ramsar site under past and present human pressures: consumption risk factors to the local population // *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 628–629. Pp. 621–630. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.005.
- Bosch A.C., O'Neill B., Sigge G.O., Kerwath S.E., Hoffman L.C. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016. Vol. 96, issue 1. Pp. 32–48. doi: 10.1002/jsfa.7360.
- Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khammami M.I., Khmelevtsova L.E., Kostina N.V., Trubnik R.G. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of lower reaches of the Don River (Russia) and their ecotoxicologic assessment by bacterial lux-biosensors // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2015. Vol. 187, issue 5. e4406. doi: 10.1007/s10661-015-4406-9.
- Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Mirina E.A., Kudeevskaya E.M., Rogulin E.A., Rakin A.V. Biosensor-based comparison of the ecotoxicological contamination of the wastewaters of Southern Russia and Southern Germany // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2016. Vol. 13, no. 3. Pp. 945–954. doi: 10.1007/s13762-016-0936-0.
- Elad T., Belkin S. Reporter gene assays in ecotoxicology // *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 2017. Vol. 157. Pp. 135–157. doi: 10.1007/10_2016_47.
- Varol M., Sünbül M.R. Macroelements and toxic trace elements in muscle and liver of fish species from the largest three reservoirs in Turkey and human risk assessment based on the worst-case scenarios // *Environmental Research*. 2020. Vol. 184. e109298. doi: 10.1016/j.envres.2020.109298.
- Varol M., Kaçar E., Akin H.K. Accumulation of trace elements in muscle, gill and liver of fish species (*Capoeta umbla* and *Luciobarbus mystaceus*) in the Tigris River (Turkey), and health risk assessment // *Environmental Research*. 2020. Vol. 186. e109570. doi: 10.1016/j.envres.2020.109570.
- Короткова Л.И., Кораблина И.В., Барабашин Т.О. Аккумуляция приоритетных поллютантов в рыбах Азовского моря за последнее десятилетие // *Водные биоресурсы и среда обитания*. 2019. Т. 2, № 3. С. 20–32. doi: 10.47921/2619-1024_2019_2_3_20.
- Uluturhan E., Kucuksezgin F. Heavy metal contaminants in red pandora (*Pagellus erythrinus*) tissues from the Eastern Aegean Sea, Turkey // *Water Research*. 2007. Vol. 41, issue 6. Pp. 1185–1192. doi: 10.1016/j.watres.2006.11.044.
- Ersoy B., Celik M. Essential elements and contaminants in tissues of commercial pelagic fish from the Eastern Mediterranean Sea // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2009. Vol. 89, issue 9. Pp. 1615–1621.
- Ahmed Md.K., Habibullah-Al-Mamun Md., Parvin E., Akter M.S., Khan M.S. Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*) // *Experimental and Toxicological Pathology*. 2013. Vol. 65, issue 6. Pp. 903–909. doi:10.1016/j.etp.2013.01.003.
- Albuquerque F.E.A., Herrero-Latorre C., Miranda M., Barrêto Júnior R.A., Oliveira F.L.C., Sucupira M.C.A., Ortolani E.L., Minervino A.H.H., López-Alonso M. Fish tissues for biomonitoring toxic and essential trace elements in the Lower Amazon // *Environmental Pollution*. 2021. Vol. 283. e117024. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117024.
- Sönmez A.Y., Sazykina M., Bilen S., Gültepe N., Sazykin I., Khmelevtsova L.E., Kostina N.V. Assessing contamination in sturgeons grown in recirculating aquaculture system by lux-biosensors and metal accumulation // *Fresenius Environmental Bulletin*. 2016. Vol. 25, no. 4. Pp. 1028–1037.

15. Hughes C.M. General anatomy of the gills // *Fish Physiology*. 1984. Vol. 10, part A. Pp. 1–72. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60317-9.

REFERENCES

- Häder D.-P., Banaszak A.T., Villafañe V.E., Narvarte M.A., González R.A., Helbling E.W. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: emerging problems with global implications. *Science of the Total Environment*, 2020, vol. 713, e136586. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136586.
- Gusso-Choueri P.K., de Araújo G.S., Cruz A.C.F., de Oliveira Stremel T.R., de Campos S.X., de Souza Abessa D.M., de Oliveira Ribeiro C.A., Choueri R.B. Metals and arsenic in fish from a Ramsar site under past and present human pressures: consumption risk factors to the local population. *Science of the Total Environment*, 2018, vol. 628–629, pp. 621–630. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.005.
- Bosch A.C., O'Neill B., Sigge G.O., Kerwath S.E., Hoffman L.C. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, vol. 96, issue 1, pp. 32–48. doi: 10.1002/jsfa.7360.
- Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khammami M.I., Khmelevtsova L.E., Kostina N.V., Trubnik R.G. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of lower reaches of the Don River (Russia) and their ecotoxicologic assessment by bacterial lux-biosensors. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, vol. 187, issue 5, e4406. doi: 10.1007/s10661-015-4406-9.
- Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Mirina E.A., Kudeevskaya E.M., Rogulin E.A., Rakin A.V. Biosensor-based comparison of the ecotoxicological contamination of the wastewaters of Southern Russia and Southern Germany. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2016, vol. 13, no. 3, pp. 945–954. doi: 10.1007/s13762-016-0936-0.
- Elad T., Belkin S. Reporter gene assays in ecotoxicology. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 2017, vol. 157, pp. 135–157. doi: 10.1007/10_2016_47.
- Varol M., Sünbül M.R. Macroelements and toxic trace elements in muscle and liver of fish species from the largest three reservoirs in Turkey and human risk assessment based on the worst-case scenarios. *Environmental Research*, 2020, vol. 184, e109298. doi: 10.1016/j.envres.2020.109298.
- Varol M., Kaçar E., Akin H.K. Accumulation of trace elements in muscle, gill and liver of fish species (*Capoeta umbla* and *Luciobarbus mystaceus*) in the Tigris River (Turkey), and health risk assessment. *Environmental Research*, 2020, vol. 186, e109570. doi: 10.1016/j.envres.2020.109570.
- Korotkova L.I., Korablina I.V., Barabashin T.O. Akkumulyatsiya prioritetnykh pollyutantov v rybakh Azovskogo morya za poslednee desyatiletie [Accumulation of priority pollutants in the fish of the Azov Sea over the last decade]. *Vodnye bioresursy i sreda obitaniya [Aquatic Bioresources & Environment]*, 2019, vol. 2, no. 3, pp. 20–32. doi: 10.47921/2619-1024_2019_2_3_20. (In Russian).
- Uluturhan E., Kucuksezgin F. Heavy metal contaminants in red pandora (*Pagellus erythrinus*) tissues from the Eastern Aegean Sea, Turkey. *Water Research*, 2007, vol. 41, issue 6, pp. 1185–1192. doi: 10.1016/j.watres.2006.11.044.
- Ersoy B., Celik M. Essential elements and contaminants in tissues of commercial pelagic fish from the Eastern Mediterranean Sea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, vol. 89, issue 9, pp. 1615–1621.
- Ahmed Md.K., Habibullah-Al-Mamun Md., Parvin E., Akter M.S., Khan M.S. Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Experimental and Toxicological Pathology*, 2013, vol. 65, issue 6, pp. 903–909. doi:10.1016/j.etp.2013.01.003.
- Albuquerque F.E.A., Herrero-Latorre C., Miranda M., Barrêto Júnior R.A., Oliveira F.L.C., Sucupira M.C.A., Ortolani E.L., Minervino A.H.H., López-Alonso M. Fish tissues for biomonitoring toxic and essential trace elements in the Lower Amazon. *Environmental Pollution*, 2021, vol. 283, e117024. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117024.
- Sönmez A.Y., Sazykina M., Bilen S., Gültepe N., Sazykin I., Khmelevtsova L.E., Kostina N.V. Assessing contamination in sturgeons grown in recirculating aquaculture system by lux-biosensors and metal accumulation. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2016, vol. 25, no. 4, pp. 1028–1037.
- Hughes C.M. General anatomy of the gills. *Fish Physiology*, 1984, vol. 10, part A, pp. 1–72. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60317-9.

Поступила 31.03.2022

Принята к печати 29.04.2022