

ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Верголяс М.Р.¹, Вихляева М.В.², Шеремета А.И.², Шамкина К.К.²

¹ПВНЗ «Международная академия экологии и медицины»
Харьковское шоссе, 121, г. Киев, Украина

²Мелитопольский государственный педагогический университет
имени Богдана Хмельницкого
ул. Гетьманская, 20, г. Мелитополь, Запорожская область, Украина
vergolyas@meta.ua

Проблема сохранения окружающей среды в условиях интенсивного освоения природных ресурсов с каждым годом приобретает все большую значимость. Во многих регионах земного шара уже заметны значительные проблемы с водоснабжением в результате истощения водных ресурсов через их нерациональное использование. В настоящее время уровень техногенной нагрузки на природу возрастает в геометрической прогрессии.

В XX веке сотни тысяч тонн органических соединений, таких как ПАУ (полициклические ароматические углеводороды), ПХБ (полихлорированные бифенилы), ХОП (хлорорганические пестициды) и неорганических (тяжелые металлы) было произведено и частично выброшено в окружающую среду. Большинство из этих соединений плохо разлагаются и десятилетиями циркулируют в природных системах, переносясь на огромные расстояния. Часто коллектором многих из перечисленных веществ являлись и являются водные объекты.

В цивилизованных странах население серьезно озабочено проблемой возможных отдаленных и долговременных неблагоприятных последствий действия загрязняющих веществ на окружающую среду в целом и водные экосистемы в частности. Мониторингу за состоянием водных экосистем уделяется много внимания, и поиск методов, позволяющих эффективно оценить уровень загрязнения и выявить его источники, является весьма актуальным.

На сегодняшний день основная оценка качества вод как правило проводится на основе химико-аналитических методов. Эти методы определяют лишь наличие и количество химических элементов в тестируемых водных образцах, но не могут определить специфику формирования качества тестируемых водных образцов из-за очень большого количества возможных комбинаций химических соединений в водных растворах, в том числе поведения антропогенных соединений и природную уязвимость водных экосистем к комбинированным эффектам их загрязнения. Список органических веществ расширяется с каждым годом. Многие из этих соединений обладают синергетическим эффектом и, попадая в окружающую среду, их токсичность только усиливается. Все это значительно усложняет оценку экологических последствий загрязнения водных экосистем.

Оценка состояния организмов, обитающих в изменяющихся условиях среды обитания, позволяет раскрыть закономерности ответных реакций на разных уровнях организации (молекулярном, клеточном, организменном), предсказать появление заболеваний, выявить специфические биологические эффекты и этиологию заболеваний. В итоге решение этих вопросов дает возможность более точно оценивать и прогнозировать последствия антропогенного воздействия на экосистемы. В связи с этим особый интерес вызывает возможность использования биологических маркеров в качестве инструментов для оценки качества вод.

В результате исследований разработаны биомаркеры для оценки качества водной среды, основанные на гематологических показателях и характеристике морфофункциональных изменений клеток крови гидробионтов (рыбы, лягушки). Показаны изменения формулы крови и повышение количества клеток с ядерными аномалиями при воздействии проб воды на примере из рек Десна и Днепр. Полученные результаты могут быть экстраполированы в определенной степени на здоровье человека, учитывая тот факт, что речная вода является одним из основных источников питьевой воды для населения многих стран мира.
Ключевые слова: водная среда, биомаркер, биотестирование, гидробионты, лейкоцитарная формула крови, микроядра.

Екотоксикологічна оцінка антропогенного забруднення поверхневих вод. Верголяс М.Р., Вихляєва М.В., Шеремета А.І., Шамкіна К.К.

Проблема збереження навколишнього середовища в умовах інтенсивного освоєння природних ресурсів із кожним роком набуває все більшої значущості. У багатьох регіонах земної кулі вже помітні значні проблеми з водопостачанням у результаті виснаження водних ресурсів через їх нерациональне використання. Нині рівень техногенного навантаження на природу зростає в геометричній прогресії.

У XX столітті сотні тисяч тонн органічних сполук таких як ПАВ (поліциклічні ароматичні вуглеводні), ПХБ (поліхлоровані біфеніли), ХОП (хлорорганічні пестициди) і неорганічних (важкі метали) було вироблено і частково викинуто в навколишнє середовище. Більшість із цих поєднань погано розкладаються і десятилетиями циркулюють у природних системах, переносячись на величезні відстані. Часто колектором багатьох із перерахованих речовин були і є водні об'єкти.

У цивілізованих країнах населення серйозно стурбоване проблемою можливих віддалених і довготривалих несприятливих наслідків дії забруднюючих речовин на навколишнє середовище загалом і водні екосистеми зокрема. Моніторингу за станом водних екосистем приділяється багато уваги і пошук методів, що дозволяють ефективно оцінити рівень забруднення і виявити його джерела, є дуже актуальним.

Нині основна оцінка якості вод здебільшого проводиться на основі хіміко-аналітичних методів. Ці методи визначають лише наявність і кількість хімічних елементів у тестованих водних зразках, але не можуть визначити специфіку формування

якості тестованих водних зразків через дуже велику кількість можливих комбінацій хімічних сполук у водних розчинах, в тому числі поведінку антропогенних сполук і природну вразливість водних екосистем до комбінованих ефектів їх забруднення. Список органічних речовин розширюється з кожним роком. Багато з цих сполук мають синергетичний ефект і, потрапляючи в навколишнє середовище, їх токсичність тільки посилюється. Все це значно ускладнює оцінку екологічних наслідків забруднення водних екосистем.

Оцінка стану організмів, які живуть в умовах середовища проживання, що змінюється, дозволяє розкрити закономірності реакцій на різних рівнях організації (молекулярному, клітинному, організмовому), передбачити появу захворювань, виявити специфічні біологічні ефекти та етіологію захворювань. Розв'язання цих питань дає можливість більш точно оцінювати і прогнозувати наслідки антропогенного впливу на екосистеми. У зв'язку з цим особливий інтерес викликає можливість використання біологічних маркерів у якості інструментів для оцінки якості вод.

Для досліджень розроблені біомаркери для оцінки якості водного середовища, засновані на гематологічних показниках і характеристиці морфофункціональних змін клітин крові гідробіонтів (риби, жаби). Показано зміну формули крові й підвищення кількості клітин із ядерними аномаліями при впливі проб води на прикладі з річок Десна і Дніпро. Отримані результати можуть бути екстрапольовані певною мірою на здоров'я людини, враховуючи той факт, що річкова вода є одним із основних джерел питної води для населення багатьох країн світу. *Ключові слова:* водне середовище, біомаркер, біотестування, гідробіонти, лейкоцитарна формула крові, мікроядра.

Ecotoxicological assessment of anthropogenic pollution of surface water. Vergolyas M., Vikhlyayeva M., Sheremeta A., Shamkina K.

The problem of preserving the environment, in conditions of intensive development of natural resources, is becoming more and more important every year. In many regions of the world, significant problems with water supply are already noticeable as a result of the quantitative and qualitative depletion of water resources through their irrational use. At present, the level of man-made pressure on nature is growing exponentially.

In the 20th century, hundreds of thousands of tons of organic compounds such as PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons), PCBs (polychlorinated biphenyls), OCPs (organochlorine pesticides) and inorganic (heavy metals) were produced and partially released into the environment. Most of these compounds are poorly decomposed and circulate in natural systems for tens of years, being transported over great distances. Water bodies have often been and still are the collectors of many of the listed substances.

In civilized countries, the population is seriously concerned about the problem of possible remote and long-term adverse effects of pollutants on the environment in general and aquatic ecosystems in particular. Much attention is paid to monitoring the state of aquatic ecosystems, and the search for methods that would effectively assess the level of pollution and identify its sources is highly relevant. To date, the main assessment of water quality is usually carried out on the basis of chemical-analytical methods. And these methods determine only the presence and amount of chemical elements in the tested water samples, but cannot determine the specifics of the formation of the quality of the tested water samples, due to the very large number of possible combinations of chemical compounds in aqueous solutions, including the behavior of anthropogenic compounds and the natural vulnerability of aquatic ecosystems to the combined effects of their pollution.

The list of organic substances is expanding every year. Many of these compounds have a synergistic effect, and when released into the environment, their toxicity only increases. All this greatly complicates the assessment of the ecological consequences of pollution of aquatic ecosystems. Assessment of the state of organisms living in changing environmental conditions makes it possible to reveal the patterns of responses at different levels of organization (molecular, cellular, organismal), predict the occurrence of diseases and identify specific biological effects and the etiology of diseases.

As a result, the solution of these issues makes it possible to more accurately assess and predict the consequences of anthropogenic impact on ecosystems. In this regard, the possibility of using biological markers as tools for assessing water quality is of particular interest. As a result of the research, biomarkers have been developed for assessing the quality of the aquatic environment, based on hematological parameters and characteristics of morphological and functional changes in blood cells of aquatic organisms (fish, frogs).

The work is devoted to the development of biomarkers for assessing the quality of the aquatic environment, based on hematological parameters and characteristics of morphological and functional changes in blood cells of aquatic organisms (fish, frogs). A change in the blood formula and an increase in the number of cells with nuclear abnormalities when exposed to water samples are shown, for example from the Desna and Dnieper rivers. The results obtained can be extrapolated to a certain extent to human health, given the fact that river water is one of the main sources of drinking water for the population of many countries of the world. *Key words:* aquatic environment, biomarker, biotesting, hydrobionts, leukocyte blood count, micronuclei.

Постановка проблеми. Отходы промышленных производств, сельскохозяйственные и бытовые стоки, поступающие в водоемы, приводят к необратимому изменению условий существования отдельных видов животных и биоты в целом. Эта ситуация обуславливает необходимость активного поиска критериев оценки состояния водной среды, которая обеспечивала бы благополучие живых существ и самого человека.

Современный гидрохимический контроль за появлением и концентрацией загрязняющих веществ не всегда отражает реальную картину состояния водоемов. Практически не возможно с помощью химических анализов проследить малые концентрации

всех загрязнений, которые могут нарушать биологические процессы, в особенности при их длительном воздействии на протяжении многих поколений водных организмов, поскольку при лабораторном анализе вод определяется концентрация загрязняющих веществ лишь на момент взятия пробы [1].

Биотестирование – один из методов биологического контроля, который предполагает целенаправленное использование стандартных тест-организмов и методов для определения степени токсичности водной среды, основанный на измерении тест-реакции организма, его отдельной функции или системы. Под биомаркерами понимают любые показатели, отражающие взаимодействие биологической

системы и потенциально вредного фактора, который может иметь химическую, физическую или биологическую природу. Антропогенные изменения водных экосистем не могут не отображаться на физиологическом состоянии гидробионтов [1, 2].

Актуальность и цель исследования. В последнее время токсикологические тесты с использованием гидробионтов достигли значительного развития. Они используются как для исследования токсичности водных растворов или естественных вод, так и для выявления канцерогенных, цитотоксических или генотоксических веществ [2, 3].

Поэтому в комплексе мероприятий, направленных на предотвращение негативных воздействий на здоровье, связанных с факторами водной среды, важное место должна занимать оценка качества воды, в частности ее безопасность для человека. В связи с этим разработка эффективных методов оценки как прямого, так и опосредованного влияния техногенных и других загрязнителей на живые организмы становится все более актуальной.

Материалы и методы исследования. Для исследования влияния антропогенного загрязнения образцы воды были отобраны из реки Десна (в районе города Остер) и Днепр (район Гидропарка, город Киев). В образцах воды определяли электропроводность, рН и проводили химический анализ на присутствие органического углерода и некоторых неорганических веществ.

Сопоставление полученных показателей с нормативами, разработанными для оценки качества воды, показало, что отобранные пробы речной воды характеризовались отсутствием значительных отклонений от нормативных показателей, исключая перманганатную окисляемость и общий органический углерод, содержание которого было повышенным. Контрольная вода была приготовлена в лабораторных условиях согласно рекомендациям ДСТУ 4174:2003.

Исследования были проведены на тест-организмах – серебряный карась (*Carassius gibelio*) и шпорцевые лягушки (*Xenopus*), выращенных в аквариумах лаборатории на базе Международной академии экологии и медицины. Эксперимент повторяли дважды.

На сегодняшний день разработано большое количество молекулярных, клеточных и тканевых биомаркеров [2]. Биохимические и патофизиологические нарушения могут быть выявлены у различных гидробионтов, однако показатели физиологического состояния рыб чаще используются в диагностике последствий загрязнения вод [4]. В силу ряда причин рыбы признаны наиболее удобными и репрезентативными объектами для биомониторинга загрязнения водных экосистем.

Рыб рекомендуют использовать для скрининга потенциально опасных для человека веществ, вызывающих уродства и раковые заболевания, а также генотоксических веществ, попадающих в питьевую воду [1]. Рыбы населяют все водные объекты, имеют

длительный жизненный цикл и занимают верхний уровень в трофической системе водоемов. По сравнению с беспозвоночными животными рыб легче идентифицировать по видам, половой принадлежности, возрасту и другим биологическим и экологическим характеристикам [3]. Существует и другая причина для изучения влияния загрязнения на рыб. Многие виды являются объектами промысла и используются в пищу человеком.

Шпорцевые лягушки *Xenopus* – вид тест-организма, который является широко распространенным в биологии развития. Простота манипуляций с амфибиями и их эмбрионами сделала их важным объектом в эмбриологии, биологии развития и водной токсикологии [5]. Эти животные используются из-за своей мощной комбинации экспериментальной сговорчивости и тесной эволюционной связи с людьми по сравнению с многими модельными организмами.

Xenopus уже давно является важным инструментом для исследований в естественных условиях на молекулярном, клеточном уровне и в биологии развития позвоночных животных. Дополнительный бесклеточные экстракты, изготовленные из *Xenopus*, являются одним из ведущих в пробирке системы для изучения фундаментальных аспектов клеточной и молекулярной биологии. Таким образом, *Xenopus* является единственным позвоночным системы, что позволяет их использовать с высокой пропускной способностью в естественных условиях анализа функции гена и высокой пропускной биохимии. Они также широко пользуются популярностью среди аквариумных животных для изучения токсикологии водной среды. Как и рыбы, они относительно нетребовательны к условиям содержания [5-8].

Для определения влияния токсичности водных образцов использовали по 30 экземпляров каждого тест-организма рыбы *Carassius gibelio* весом 25-30 грамм и шпорцевые лягушки *Xenopus* весом 60-65 грамм. Тест-организмы были разделены на три группы по 10 особей. Каждую группу помещали в аквариумы с контрольной водой (1) – образцы воды из рек Десна (2) и Днепр (3).

После экспозиции через 96 часов у каждой особи из вены брали образцы крови. У рыб кровь брали из хвостовой вены, у лягушек – из вены задней лапы. Готовили цитологические препараты по стандартной методике [9] и анализировали под световым микроскопом при общем увеличении $\times 1000$. На каждом препарате просматривали 3000 клеток. Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента, $p < 0,05$ считали статистически значимым [10].

Изложение основного материала. Было проведено исследование влияния отобранных образцов воды на гематологические показатели и показатели цитогенетической стабильности эритроцитов у гидробионтов. При воздействии исследуемых проб воды наблюдалась тенденция к снижению процента лим-

фоцитов у обоих тест-организмов (табл. 1). Также пробы воды вызывали достоверное увеличение процента сегментоядерных нейтрофилов почти вдвое, наблюдался значительный ($p < 0,05$) рост количества эозинофилов.

Показано, что при воздействии исследуемых проб по сравнению с контролем увеличивался уровень базофилов и моноцитов, где данные показатели выросли почти вдвое, а количество эозинофилов увеличилось более чем в 20 раз.

Таким образом, исследование лейкоцитарной формулы крови рыб (*Carassius gibelio*) и шпорцевых лягушек (*Xenopus*) позволяет выявить наличие примесей неопределенной природы в речной воде, которые негативно влияют на живые организмы. В работе [11] полученные результаты позволяют утверждать про относительно меньшую загрязненность пробы из Десны по сравнению с пробами, которые были отобраны из Днепра. Полученные результаты непосредственно свидетельствуют о возможности использования лейкоцитарной формулы рыб для определения степени загрязнения водных биотопов.

Результаты микроядерного анализа представлены в таблице 2. Полученные результаты свиде-

тельствуют о влиянии антропогенного загрязнения речной воды на частоту появления клеток крови с нарушением генетического аппарата. Все исследуемые пробы воды достоверно ($p < 0,01$) увеличивали долю эритроцитов с микроядра и двойными ядрами в крови подопытных гидробионтов.

После 96 часов инкубации в крови у гидробионтов, которые находились в пробах речной воды, существенно увеличилось количество эритроцитов с микроядрами и двойными ядрами ($p < 0,05$). Среди этих нарушений чаще встречались клетки с микроядрами. Следует отметить, что наиболее выраженным был генотоксический эффект в образцах воды из Днепра, которые получали у очистных сооружений Киева в районе Гидропарка.

Антропогенное загрязнение природных вод приводит к ослаблению антиоксидантной системы гидробионтов, что сопровождается увеличением частоты генетических нарушений в клетках крови рыб и лягушек. Следует отметить, что именно эритроциты крови являются наиболее чувствительной мишенью к действию активных форм кислорода. Известно, что ионы тяжелых металлов могут катализировать образование активных форм кислорода [12; 13]

Таблица 1

Лейкоцитарная формула (%) рыб (*Carassius gibelio*) и шпорцевых лягушек (*Xenopus*) при воздействии исследуемых проб воды

Форменные элементы крови	контроль		Десна (г. Остер)		Днепр (Гидропарк, г. Киев)	
	рыба n = 10	лягушка n = 10	рыба n = 10	лягушка n = 10	рыба n = 10	лягушка n = 10
Палочко-ядерные нейтрофилы	1,39 ± 0,18	1,45 ± 0,19	1,45 ± 0,19	1,75 ± 0,08	2,54 ± 0,19	2,77 ± 0,12
Сегменто-ядерные нейтрофилы	2,51 ± 0,19	2,11 ± 0,12	2,66 ± 0,22*	2,16 ± 0,19*	3,83 ± 0,22*	2,98 ± 0,29*
Эозинофилы	0,26 ± 0,08	0,28 ± 0,04	0,76 ± 0,13*	1,46 ± 0,53*	4,80 ± 0,14*	5,77 ± 0,18*
Базофилы	4,52 ± 0,33	4,37 ± 0,36	6,95 ± 0,43*	5,15 ± 0,63	7,75 ± 0,42*	8,05 ± 0,61*
Моноциты	5,33 ± 0,32	5,48 ± 0,42	6,09 ± 0,41	7,02 ± 0,12*	7,48 ± 0,42*	7,83 ± 0,45*
Лимфоциты	85,91 ± 0,57	84,80 ± 0,64	81,69 ± 0,70	82,19 ± 0,54	73,60 ± 0,70*	72,60 ± 0,66*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Частоты ядерных нарушений (%) в эритроцитах рыб (*Carassius gibelio*) и шпорцевых лягушек (*Xenopus*) при воздействии исследуемых проб воды

Показатели		Исследуемые пробы воды		
		контроль	Десна (г. Остер)	Днепр (Гидропарк, г. Киев)
рыба n = 10 эритроциты (3000 клеток)	МЯ, %	0	2,99 ± 0,61*	3,75 ± 0,67*
	2Я, %	0	1,67 ± 0,50*	3 ± 0,61*
лягушка n = 10 эритроциты (3000 клеток)	МЯ, %	0	2,67 ± 0,55*	5 ± 0,77*
	2Я, %	0,33 ± 0,20	1,99 ± 0,40*	2,75 ± 0,58*

Примечание: МЯ – клетки с микроядром, 2Я – клетки с двумя ядрами, * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

и играть роль ингибиторов отдельных ферментов антиоксидантной системы [14].

В контексте определения количества клеток с микроядрами и двойными ядрами можно оценить интегральное влияние достаточно широкого спектра загрязняющих факторов водной среды на состояние морских и пресноводных рыб. С методической точки зрения сочетание гематологических и цитологических методов для изучения гидробионтов позволяет получить информацию о механизме токсического действия факторов антропогенного загрязнения водной среды.

Принимая во внимание растущее количество загрязнителей в речных акваториях, прилегающих к регионам с высоким уровнем индустриализации, эти показатели жизнедеятельности гидробионтов могут быть использованы для проведения постоянного экологического мониторинга природных вод, а также для оценки потенциального токсикологического риска присутствующих в воде химических веществ для здоровья человека [15]. Таким образом, проведенные исследования по определению влияния антропогенного загрязнения речных вод позволили выявить изменения гематологических и цитогенетических показателей гидробионтов, которых можно предложить для биоиндикации.

Главные выводы:

1. Результаты по выявлению изменений в генетическом аппарате гидробионтов под влиянием загрязнителей пресной воды могут быть экстраполированы в определенной степени на здоровье человека,

учитывая тот факт, что речная вода является одним из основных источников питьевой воды для населения Украины и других стран мира.

2. Относительно простые и быстрые методы цитологического анализа крови гидробионтов позволяют проводить оценку токсикологического риска присутствия антропогенных загрязнителей пресной воды.

3. Результаты исследования могут быть использованы при проведении работ по оценке воздействия и расчету ущербов водным экосистемам как на стадии проектирования хозяйственной деятельности, так и при ее осуществлении; при экологической экспертизе последствий выбросов загрязняющих веществ в водные объекты, при разработке программ мониторинга за состоянием окружающей среды.

4. Объективность и надежность биомаркеров позволяет использовать результаты этой работы для оценки и прогноза состояния популяции рыб, а также при комплексной экотоксикологической характеристике водных объектов.

Перспективы использования результатов исследования. Преимуществом проведения такого анализа для водной среды является то, что оба теста (выявление генетических нарушений и изменений в лейкоцитарной формуле) могут быть проведены на одном и том же препарате. Предложенный нами метод можно считать относительно гуманным, потому что изготовление препаратов периферической крови не требует забоя подопытных животных.

Литература

1. Vergolyas M.R., Goncharuk V.V. Evaluation of water quality control by using test organisms and their cells. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 2016. 38(1). P. 62–66.
2. Van der Oost R., Lopes S.C.C., Komen H., Satumalay K., Van den Bos R., Heida H., Vermeulen N.P.E. Assessment of environmental quality and inland water pollution using biomarker responses in caged carp (*Cyprinus carpio*); use of a bioactivation:-detoxication ratio as biotransformation index (BTI). *Mar. Environ. Pollut.* 1998. 46, P. 315–319.
3. Tsangaris C., Vergolyas M., Fountoulaki E., Nizheradze K. Oxidative stress and genotoxicity biomarker responses in grey mullet (*Mugil cephalus*) from a polluted environment in Saronikos Gulf, Greece. *Achieves of Environmental Contamination and Toxicology*. 2011. № 61, P. 482–490.
4. Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология. М. : Наука, 2009. 400 с.
5. Gaiziek L., Gupta G., Bass E. Toxicity of chlorpyrifose to *Rana pipiens* embryos. *Bull. Environ. Contam and Toxicol.* 2001. Vol. 66, № 3, P. 386–391.
6. Логинов В.В. и другие. Земноводные как индикаторы качества окружающей среды Нижегородской области. *Экологический ежемесячник*. 2001. № 11, с. 33–35.
7. Мисюра А.Н., Гаско В.Я., Ноздрачев В.В. Амфибии как биоиндикатор загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами в техногенных районах. *Биоиндикаторы и биомониторинг*. Загорск, 1991. 12. С. 259–262.
8. Vergolyas M. Safety analysis of drinking water on the test-organisms. *Биоресурси і природокористування*. 2019. № 3-4. URL: <https://doi.org/10.31548/bio2019.03.004> (дата звернення: 05.08.2019).
9. ДСТУ 7387:2013 Якість води. Метод визначення цито- та генотоксичності води і водних розчинів на клітинах крові прісноводної риби Даніо реріо (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan). [Чинний від 2013-07-01]. Київ, 2013. 26 с. (Інформація та документація).
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М. : Практика, 1999. 459 с.
11. Vergolyas M., Konturova S., Rathore D. Ecotoxicological assessment of natural water safety. “Public health: problems and development priorities”. November 29, 2018y. Ostroh. P. 101–106.
12. Rahatgaonkar A.M. A selective bioreduction of toxic heavy metal ions from aquatic environment by *saccharomyces cerevisiae*. *E-Journal of Chemistry*. 2008. Vol. 5, № 4. С. 918–923.
13. Никаноров А.М., Жулидов А.В. Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах. Л., 1991. С. 45.
14. Козинец Г.И., Макаров В.А. Исследование системы крови в клинической практике. М. : Триада-Х, 1997. 480 с.
15. Vergolyas M. Research of cytotoxic activity of water from different water supply sources. *Adv Tissue Eng Regen Med Open Access*. 2019. № 5(3). С. 92–96. DOI: 10.15406/atroa.2019.05.00105.