

Научная статья
УДК 597-639.215(282.247.41)
<https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-2-90-100>
EDN UGVYIS

Влияние кормовой пробиотической добавки «Ветоспорин-Ж» (*Bacillus subtilis*) и минеральной добавки «Цеолит» (опока) на проявление генотоксических эффектов в клетках крови молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*) в условиях аквакультуры

Анна Владимировна Конькова^{1✉}, Дина Рубиновна Файзулина²,
Юлия Михайловна Ширина³, Иван Александрович Богатов⁴

¹⁻⁴ Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева,
Россия, Астрахань, avkonkova@yandex.ru[✉]

⁴ Астраханский государственный технический университет,
Россия, Астрахань

Аннотация. В современных условиях сокращения природных популяций осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна возрастает роль и значение аквакультуры. В Астраханской области в связи с наличием большого природного водного фонда широко развито садковое выращивание рыб, в том числе стерляди. Садковое выращивание осетровых на акватории естественных водоемов сопряжено с воздействием антропогенного загрязнения, в данном районе оно связано с загрязнением воды дельты р. Волги, и ухудшением гидрохимического режима, который негативно отражается на выращивании рыб. Одним из факторов негативного воздействия изменений водной среды является генотоксичность, оценить степень проявления которой возможно доступными и современными способами, к которым относятся микроядерный и ДНК-комет тесты. Серьезным последствием генотоксического влияния загрязнения является формирование повреждений ДНК организма рыб. Цель данной работы – оценка частоты появления микроядер и степени повреждения ДНК клеток крови молоди стерляди, а также подбор функциональных добавок в корм, которые позволят снизить последствия генотоксического пресса естественного водоисточника. В условиях научной лаборатории была проведена серия экспериментов по кормлению молоди стерляди, доставленной из рыбоводного хозяйства дельты Волги. Вся молодь стерляди и в начале, и в конце эксперимента характеризовалась нормальным физиологическим состоянием, невысокими показателями ДНК-комет, количество эритроцитов с микроядрами было незначительно выше нормы. В результате экспериментального кормления были получены достоверные данные о том, что корм с добавлением пробиотического препарата «Ветоспорин-Ж» на основе бактерий *Bacillus subtilis* способствовал значимому увеличению прироста массы и длины тела. Все проанализированные показатели ДНК-комет были достоверно меньше именно в группе, которую кормили с введением пробиотика (микроядерный тест оказался в данном случае менее чувствительным). Минеральная добавка «Цеолит» такой эффективности не показала. Таким образом, можно обоснованно рекомендовать добавление препаратов на основе *Bacillus subtilis* при кормлении молоди осетровых рыб в целях эффективного снижения генотоксического стресса для рыб, главным образом для снижения повреждения ДНК.

Ключевые слова: стерлядь, генотоксичность, эритроциты, ДНК-кометы, микроядро, аквакультура, кормовая пробиотическая добавка, минеральная добавка, культура *Bacillus subtilis*

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00151 «Разработка и внедрение высокоточного метода прижизненной оценки генотоксических эффектов у объектов аквакультуры для своевременной коррекции их физиологического состояния на основе применения микроядерного теста и теста ДНК-комет», <https://rscf.ru/project/23-26-00151/>.

Для цитирования: Конькова А. В., Файзулина Д. Р., Ширина Ю. М., Богатов И. А. Влияние кормовой пробиотической добавки «Ветоспорин-Ж» (*Bacillus subtilis*) и минеральной добавки «Цеолит» (опока) на проявление генотоксических эффектов в клетках крови молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*) в условиях аквакультуры // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2024. № 2. С. 90–100. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-2-90-100>. EDN UGVYIS.

Original article

The effect of the feed probiotic additive “Vetosporin-Zh” (*Bacillus subtilis*) and the mineral additive “Zeolite” (opoka) on the manifestation of genotoxic effects in the blood cells of juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*) under aquaculture conditions

Anna V. Konkova^{1✉}, Dina R. Faizulina², Yulia M. Shirina³, Ivan A. Bogatov⁴

¹⁻⁴Astrakhan Tatishchev State University,
Russia, Astrakhan, avkonkova@yandex.ru✉

⁴Astrakhan State Technical University,
Russia, Astrakhan

Abstract. In modern conditions of declining natural sturgeon populations in the Volga-Caspian basin, the role and importance of aquaculture is increasing. In the Astrakhan region, due to the presence of a large natural water fund, cage farming of fish, including sterlet, is widely developed. Cage farming of sturgeon in natural water bodies is associated with the impact of anthropogenic pollution, in this area it is associated with water pollution in the river delta Volga, and the deterioration of the hydrochemical regime, which directly affects fish farming. One of the factors of the negative impact of these changes in the aquatic environment is genotoxicity, the degree of manifestation of which can be assessed using accessible and modern methods, which include micronuclear and DNA comet tests. A serious consequence of the genotoxic effect of pollution is the formation of damage to the DNA of the fish body. The purpose of this work was to assess the frequency of appearance of micronuclei and the degree of DNA damage in the blood cells of juvenile sterlet, as well as the selection of functional additives in food that will reduce the effects of genotoxic pressure from a natural water source. In a scientific laboratory, a series of experiments was carried out on feeding juvenile sterlet delivered from a fish farm in the Volga delta. All juvenile sterlet, both at the beginning and at the end of the experiment, were characterized by a normal physiological state, low levels of DNA comets, and the number of erythrocytes with micronuclei was slightly higher than normal. As a result of experimental feeding, reliable data were obtained that food with the addition of the probiotic drug “Vetosporin-Zh” based on the bacteria *Bacillus subtilis* contributed to a significant increase in weight gain and body length. All analyzed indicators of DNA comets were significantly lower in the group that was fed with the introduction of a probiotic (the micronucleus test turned out to be less sensitive in this case). The mineral additive “Zeolite” did not show such effectiveness. Thus, the addition of *Bacillus subtilis*-based preparations when feeding juvenile sturgeon can be reasonably recommended to effectively reduce genotoxic stress for fish, mainly to reduce DNA damage.

Keywords: sterlet, genotoxicity, erythrocytes, DNA comets, micronucleus, aquaculture, feed probiotic additive, mineral supplement, *Bacillus subtilis* culture

Acknowledgments: the study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 23-26-00151 “Development and implementation of a high-precision method for intravital assessment of genotoxic effects in aquaculture objects for timely correction of their physiological state based on the use of a micronucleus test and a DNA comet test”, <https://rscf.ru/project/23-26-00151/>.

For citation: Konkova A. V., Faizulina D. R., Shirina Yu. M., Bogatov I. A. The effect of the feed probiotic additive “Vetosporin-Zh” (*Bacillus subtilis*) and the mineral additive “Zeolite” (opoka) on the manifestation of genotoxic effects in the blood cells of juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*) under aquaculture conditions. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing industry.* 2024;2:90-100. (In Russ.). <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-2-90-100>. EDN UGVYIS.

Введение

В современных условиях сокращения природных популяций осетровых рыб в Волжско-Каспийском бассейне возрастает роль и значение аквакультуры. Основными направлениями в работе по восстановлению численности рыб являются искусственное воспроизводство и товарное выращивание осетровых. Деятельность в рамках искусственного воспроизводства пополняет природные популяции рыб, а товарное осетроводство производит делика-

тесную черную икру и мясо осетровых. Выращивание осетровых для производства пищевой продукции в последние годы активно развивается во многих странах мира. Основными объектами товарного осетроводства в России являются русский и сибирский осетры и их гибриды, белуга, стерлядь и их гибриды бестер. Для выращивания осетровых на предприятиях используют индустриальный способ с использованием установок замкнутого водоснабжения, а также широко распространены и интенсивные

Konkova A. V., Faizulina D. R., Shirina Yu. M., Bogatov I. A. The effect of the feed probiotic additive “Vetosporin-Zh” (*Bacillus subtilis*) and the mineral additive “Zeolite” (opoka) on the manifestation of genotoxic effects in the blood cells of juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*) under aquaculture conditions

способы выращивания в прудах малой площади и садках [1].

В Астраханском регионе действуют 48 индустриальных осетровых садковых хозяйств на акватории в 238 га. Совокупный объем производства пищевой икры осетровых рыб по итогу 2020 г. вырос до 15 т в год [2]. Однако при садковом выращивании естественные водоемы подвержены негативному воздействию, т. к. на небольшой площади находится значительное количество рыбы, которую интенсивно кормят, что приводит к повышению содержания органических загрязнителей, например аммиака, а также тяжелых металлов, таких как медь и цинк. Органическое загрязнение, связанное с садковым хозяйством, влияет не только на рыбу, но и на биоразнообразие донного сообщества естественного водоема в сторону его снижения и увеличения количества условно-патогенных видов микроорганизмов. Кроме того, следует учитывать и масштабное воздействие промышленного антропогенного загрязнения вод естественных водоемов [3].

Негативное воздействие вышеперечисленных токсикантов можно наблюдать не только на уровне популяций рыб, но и в большей степени на молекулярном и генетическом уровнях. Понимание потенциала генотоксичности для рыб, содержащихся в условиях садкового хозяйства, имеет большое эколоксикологическое значение [4]. Серьезным последствием генотоксического действия загрязнителей среды является формирование повреждений ДНК. Для оценки генотоксических эффектов широко используется метод ДНК-комет, который позволяет оценивать повреждения и репарацию ДНК у различных организмов. Основным преимуществом метода ДНК-комет являются его высокая чувствительность и возможность детекции повреждений на

уровне единичных клеток [5]. Воздействие генотоксических агентов может также приводить к формированию хромосомных aberrаций, приводящих к отставанию целых хромосом или их фрагментов, у которых отсутствуют органеллы прикрепления веретена. Эти отстающие хромосомы и ацентрические фрагменты исключаются из дочерних ядер во время деления клеток, что приводит к образованию дополнительного, значительно меньшего ядра в цитоплазме, известного как микроядро [6].

Важной практической задачей стал поиск мер по снижению последствий генотоксического воздействия среды на осетровых рыб, выращиваемых для использования в пищу человеком. Таким образом, целью данной работы послужили оценка степени повреждения ДНК клеток крови молоди стерляди как ценного представителя товарных осетровых рыб, полученной и подращенной в условиях рыбоводного хозяйства, расположенного в дельте Волги, а также подбор функциональных добавок в корм, которые позволят снизить последствия генотоксического влияния воды из естественного водоисточника.

Материал и методы

В условиях лабораторного аквариального комплекса лаборатории «Аквакультура и гидробиология» Астраханского государственного университета им. В. Н. Татищева в июле–сентябре 2023 г. проведена научная экспериментальная работа. В качестве объекта исследования использовали молодь стерляди (2023 г. получения) начальной средней массой 3 г (53 особи). Молодь содержали в аквариумах объемом 150 л аквариальной системы мониторинга состояния гидробионтов (рис. 1, а).



Рис. 1. Место проведения научных работ по использованию функциональных кормовых добавок (а), определение размерно-весовых показателей (б) и отбор проб крови (в) у молоди стерляди прижизненным способом в аквариальном комплексе лаборатории «Аквакультура и гидробиология» АГУ им. В. Н. Татищева, 2023 г.

Fig. 1. Place of scientific work on the use of functional feed additives (а), definition size and weight indicators (б) and blood sampling (в) from juvenile sterlet in vivo in the aquatic complex of the laboratory “Aquaculture and Hydrobiology” of Astrakhan Tatishchev State University, 2023

Рыбу перед определением ее в аквариальный комплекс содержали в условиях рыбоводного хо-

зяйства в стеклопластиковых бассейнах, вода в которые накачивалась из естественного водоисточни-

ка (рукав Хурдун, дельта р. Волги), на котором также установлены садки для выращивания разновозрастных групп рыб данного хозяйства.

В качестве функциональных добавок в эксперименте были использованы: пробиотический препарат «Ветоспорин-Ж» (входит в Реестр кормовых добавок), одобренный к применению в рыбоводстве Федеральной службой ветеринарного и фитосанитарного надзора (Россельхознадзор), и комплексная минеральная добавка «Цеолит». Для эксперимента рыба была поделена на 3 группы – одна контрольная и две опытные. Во всех группах для кормления использовали экструдированный стартовый корм марки Sorrens с соотношением протеин / жир – 56 / 15 (размер крупки 0,2–0,3 мм). Рыбам контрольной группы давали корм марки Sorrens без добавок. В 1-м варианте опыта на корм напыляли пробиотический препарат «Ветоспорин-Ж» (добавка на основе двух штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, норму ввода пробиотика в состав кормов определяли на основе прилагаемой инструкции, она составила 0,2 л на 1 т корма), а во 2-м варианте опыта в корм была добавлена комплексная минеральная добавка «Цеолит». Опытный вариант корма с добавлением комплексной минеральной добавки изготавливали в лабораторных условиях методом влажного прессования. К корму марки Sorrens дополнительно была добавлена комплексная минеральная добавка в количестве 3 % от общей массы всех компонентов. Готовые сухие комбикорма измельчали в дробилке и рассеивали в соответствии с необходимым размером гранул в зависимости от массы выращиваемой рыбы. Полученные гранулы предварительно выдерживали в порошке из комплексной минеральной добавки «Цеолит» с целью замедления окислительных процессов в корме [7]. Длительность эксперимента составила 50 сут. В ходе экспериментов ежедневно вели систематический контроль основных гидрохимических показателей (температура воды, содержание растворенного кислорода, рН): температуру воды и содержание растворенного в воде кислорода контролировали ежедневно прямым измерением 2 раза в сутки с помощью термооксиметра марки Philips, показатели рН регистрировали с помощью портативного рН-метра Hanna.

Для характеристики роста молоди определяли величину абсолютного прироста по разности массы в конце и начале эксперимента (см. рис. 1, б), среднесуточного прироста как отношение разности конечной и начальной массы к периоду выращивания и коэффициент массонакопления [8, 9]. Морфометрические и линейно-весовые показатели оценивали по основному показателю среднесуточной скорости роста [10].

Прижизненным методом с помощью инсулинового шприца из хвостового гемального канала были взяты образцы крови (см. рис. 1, в), которые подвергали гематологическим (изучение лейкограммы, патологий эритроцитов) и генотоксическим исследованиям (метод ДНК-комет и микроядерный тест). Сразу после отбора крови был проведен анализ ДНК-комет щелочным методом [11]. В качестве красителя использовали бромистый этидий (4 мкг/мл, 4 °С). Слайды с агарозой просматривали на флуоресцентном микроскопе (Olympus CX43 с флуоресцентным осветителем, Япония). Для одной особи просматривали по 100 комет и с помощью программы TriTek CometScore 2.0.0.38 оценивали следующие показатели: доля ДНК в хвосте кометы (%), момент хвоста, момент Оливе и длину хвоста кометы. Ранее было определено, что именно эти показатели проявили наивысшую достоверную корреляцию с силой генотоксического воздействия [12].

Препараты свежей крови были использованы для приготовления мазков. Изготовленные мазки крови были просушены на воздухе, зафиксированы в растворе этилового спирта (96°) и окрашены по Романовскому – Гимзе. На окрашенных мазках крови микроскопически были определены лейкоцитарная формула, патологии эритроцитов и проведен микроядерный тест [13, 14]. Микроядра (МЯ) идентифицируются по следующим признакам: МЯ представляет собой сферическое цитоплазматическое включение, имеющее четкий контур; МЯ не связано с ядром; МЯ имеет схожее с ядром черты по структуре и окраске [15]. На мазке крови просматривали 1 000 эритроцитов, количество эритроцитов с МЯ измерялось в промилле (‰).

Все полученные числовые данные подвергли статистической обработке и представили в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего (в указании среднего значения после знаков «±» (по тексту) приведена стандартная ошибка), достоверность различий рассчитывали с помощью *t*-критерия Стьюдента при нормальном распределении данных или с помощью критерия Манна – Уитни при ненормальном (Excel, Microsoft Office 2019, SigmaStat 3.5).

Результаты и обсуждение

В данной экспериментальной работе по возможности корректировки физиологического состояния гидробионтов, в том числе генотоксических проявлений, путем использования коррекции состава кормов, главным образом кормовых добавок, были апробированы пробиотический препарат «Ветоспорин-Ж» и комплексная минеральная добавка «Цеолит». Пробиотики относятся к живым непатогенным микроорганизмам, которые при введении в адекватных количествах обеспечивают микробный баланс,

Konkova A. V., Faizulina D. R., Shitina Yu. M., Bogatov I. A. The effect of the feed probiotic additive "Vetospirin-Zh" (*Bacillus subtilis*) and the mineral additive "Zeolite" (oproka) on the manifestation of genotoxic effects in the blood cells of juvenile sturgeon (*Acipenser tikhomisi*) under aquaculture conditions

Конькова А. В., Файзуллина Д. Р., Ширин Ю. М., Богатов И. А. Влияние кормовой пробиотической добавки «Ветоспорин-Ж» (*Bacillus subtilis*) и минеральной добавки «Цеолиг» (опока) на проявление генотоксических эффектов в клетках крови молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*) в условиях аквакультуры

особенно в желудочно-кишечном тракте животных [16]. Было установлено, что пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* способствуют формированию кишечной микробиоты и иммунитета слизистых оболочек у рыб [17]. Также, согласно литературным данным, пробиотические бактерии обладают значительными антиоксидантными свойствами как *in vivo*, так и *in vitro* [18]. Как известно, при оксидативном стрессе в результате повышенного внутриклеточного уровня свободных радикалов, также известных как активные формы кислорода, происходит повреждение ДНК, а также липидов и белков [19]. В свою очередь, цеолит представляет собой пористый минерал, обладающий сорбирующими, ионообменными, каталитическими, пуццолановыми, теплоизолирующими и другими свойствами. Цеолиты применяли в виде добавки к кормам при выращивании карпа в прудах и садках на сбросных водах ТЭЦ, а также

радужной форели [20, 21]. В работе по использованию цеолита в качестве добавки к комбикорму при кормлении осетровых рыб было выявлено его положительное влияние на показатели роста молоди [22]. По результатам полученных гематологических и биохимических данных исследования крови молоди осетровых рыб авторы охарактеризовали физиологическое состояние выращиваемой рыбы как благополучное [22].

На протяжении всего эксперимента в аквариальном комплексе условия, определяемые схемой проводимого опыта, сохранялись на одном уровне. Небольшое снижение температуры к концу эксперимента не оказывало выраженного воздействия на сам процесс и его результаты [23]. Результаты экспериментального выращивания молоди стерляди с использованием функциональных кормовых добавок представлены в табл. 1.

Таблица 1

Table 1

Рыбоводно-биологические показатели молоди стерляди в эксперименте с использованием функциональных кормовых добавок в условиях аквариального комплекса лаборатории, 2023 г.
Fish-breeding and biological indicators of juvenile sterlet in an experiment using functional feed additives in the conditions of the laboratory aquarium complex, 2023

Показатель	Варианты опытного кормления*		
	1-й вариант корма «Ветоспорин-Ж» (<i>Bacillus subtilis</i>)	2-й вариант корма «Цеолиг» (опока)	Контроль
Масса начальная, г	3,08 ± 0,42		
Масса конечная, г	11,84 ± 8,3 ^{А-Б, А-В}	9,64 ± 5,16 ^{А-Б, Б-В}	10,2 ± 3,6 ^{А-В, Б-В}
Длина абсолютная начальная, мм	9,1 ± 0,42		
Длина абсолютная конечная, мм	15,3 ± 2,69	13,94 ± 2,3	13,95 ± 4,6
Абсолютный прирост, г	8,76	6,56	7,12
Среднесуточный прирост, г	0,18	0,13	0,14
Среднесуточная скорость роста, %	2,73	2,31	2,42
Коэффициент массонакопления, ед.	0,05	0,04	
Выживаемость, %	47,4	52,6	53,3
Длительность эксперимента, сут	50		

* Достоверность статистически значимых различий ($p \leq 0,05$) отмечена надстрочным символом: А – конец эксперимента, 1-й вариант корма; Б – конец эксперимента, 2-й вариант корма; В – конец эксперимента, контроль.

Показатель среднесуточного прироста был выше у особей из опытной группы с 1-м вариантом кормления и составил 0,18 г/сут (см. табл. 1). Этот показатель в контрольной и во 2-й опытной группе был незначительно ниже и составил 0,14 и 0,13 г/сут соответственно. Абсолютный прирост в 1-й опытной группе составил 8,76 г, что на 1,64 г больше прироста в контрольном варианте и на 2,2 г больше

прироста во 2-м опытном варианте. Также и среднесуточная скорость роста у особей из 1-го варианта была выше.

Результаты микроскопических исследований мазков крови молоди стерляди, полученных в начале и в конце экспериментального кормления, представлены в табл. 2 и на рис. 2.

Таблица 2

Table 2

Патологии эритроцитов и лейкограмма молоди стерляди в эксперименте с использованием функциональных кормовых добавок в условиях аквариального комплекса лаборатории, 2023 г.

Pathology of erythrocytes and leukogram of juvenile sterlet in an experiment using functional feed additives in the conditions of the laboratory aquarium complex, 2023

Показатель	Начало эксперимента	Конец эксперимента (варианты опытного кормления)		
		1-й вариант корма «Ветоспорин-Ж» (<i>Bacillus subtilis</i>)	2-й вариант корма «Цеолит» (опока)	Контроль
Патологии эритроцитов				
Хроматинолиз, %	0,00	0,40 ± 0,06	0,00	0,00
Ядра-тени, %	0,75 ± 0,17	1,65 ± 0,12	1,33 ± 0,19	0,53 ± 0,03
Гипохромазия, %	4,00 ± 0,29 ^{A-B}	1,20 ± 0,04 ^{A-B, A-B}	0,40 ± 0,03 ^{A-B, A-1}	2,00 ± 0,23 ^{A-B}
Шистоцит, %	0,00	0,00	0,10	0,00
Эритроциты с микроядром, %	0,50 ± 0,15 ^{A-B}	2,00 ± 0,50	1,33 ± 0,99	1,00 ± 0,35
Лейкограмма				
Пролимфоцит, %	3,75 ± 3,12	2,00	0,00	0,00
Лимфоцит (зрелый), %	88,25 ± 4,87	88,00 ± 8,00	98,00 ± 1,00	97,00 ± 1,00
Нейтрофил сегментоядерный, %	1,00 ± 0,58	0,00	0,00	0,00
Нейтрофил палочкоядерный, %	6,50 ± 3,59	4,50 ± 1,10	1,00 ± 0,02	2,50 ± 1,50
Моноцит, %	0,25 ± 0,01	0,67 ± 0,07	0,00	0,00
Эозинофил палочкоядерный, %	0,75 ± 0,48	3,33 ± 1,45	1,00 ± 0,07	0,00
Эозинофил сегментоядерный, %	0,00	1,00 ± 0,33	0,00	0,50 ± 0,10

* Достоверность статистически значимых различий ($p \leq 0,05$) отмечена надстрочным символом: А – начало эксперимента; Б – конец эксперимента, контроль; В – конец эксперимента, 1-й вариант корма; Г – конец эксперимента, 2-й вариант корма.

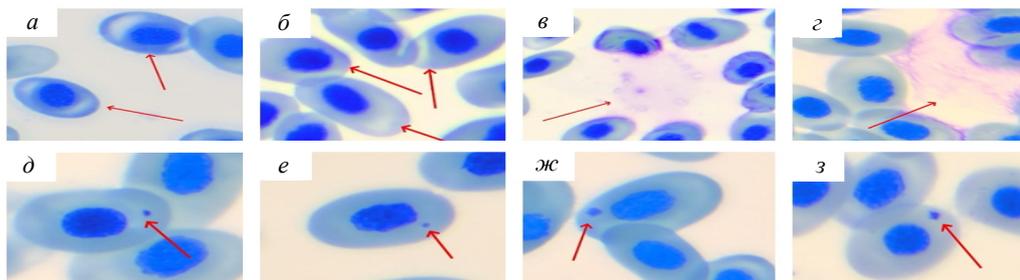


Рис. 2. Патологии эритроцитов молоди стерляди в эксперименте с использованием функциональных кормовых добавок в условиях аквариального комплекса (ув. 10 × 100, иммерсия): а, б – гипохромазия; в, з – ядерные тени; д–з – эритроциты с микроядрами; стрелкой указано расположение клеток с патологиями и микроядер

Fig. 2. Pathology of erythrocytes of juvenile sterlet in an experiment using functional feed additives in an aquarium complex (en. 10 × 100, immersion): а, б – hypochromasia; в, з – nuclear shadows; д–з – erythrocytes with micronuclei; the arrow indicates the location of cells with pathologies and micronuclei

Микроядерный тест показал, что количество эритроцитов с МЯ от начала эксперимента к его завершению достоверно выросло во всех группах рыб. При этом среднее количество эритроцитов с микроядрами в крови рыб в конце эксперимента из группы контроля и из опытных групп достоверно не отличалось. В одном эритроците было зарегистрировано не более 1 МЯ. Доля рыб с эритроцитами с МЯ также выросла с 25 до 50 % в ходе эксперимента. Доля эритроцитов с МЯ у молоди стерляди после экспериментального кормления несколько превысила нормальные значения. Со-

гласно литературным данным в норме частота встречаемости клеток с микроядрами при спонтанном мутагенезе равна 0,5–1 % [24].

Физиологическое состояние молоди стерляди по картине клеток крови рыб можно охарактеризовать как удовлетворительное. Количество эритроцитов с патологиями у молоди стерляди как в начале, так и в конце эксперимента не превышало 5 % нормы [14]. Наибольший показатель отмечен в начале эксперимента (4,80 %), наименьший – в конце эксперимента (1,97 %) у группы рыб, получавших 2-й вариант корма (см. рис. 2).

Konkova A. V., Faizulina D. R., Shitina Yu. M., Bogatov I. A. The effect of the feed probiotic additive "Vetospirin-Zh" (*Bacillus subtilis*) and the mineral additive "Zeolite" (опока) on the manifestation of genotoxic effects in the blood cells of juvenile sterlet (*Acipenser nabialis*) under aquaculture conditions

Конькова А. В., Файзулина Д. Р., Ширин Ю. М., Богатов И. А. Влияние кормовой пробиотической добавки «Ветоспорин-Ж» (*Bacillus subtilis*) и минеральной добавки «Цеолиг» (опока) на проявление генотоксических эффектов в клетках крови молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*) в условиях аквакультуры

Патологические изменения эритроцитов могут быть вызваны неблагоприятным воздействием водной среды, наличием патологического процесса в организме рыбы [25]. Лейкограмма молоди стерляди как в начале, так и в конце эксперимента почти соответствовала референсным значениям, характерным для осетровых рыб, в том числе и для стерляди [26, 27]. Наиболее многочисленными клетками были зрелые лимфоциты, их доля в периферической крови молоди стерляди увеличилась в процессе эксперимента (см. табл. 2).

Количество пролимфоцитов снизилось в процессе экспериментального кормления. Моноциты были малочисленны и встречались у рыб в начале

эксперимента и у группы, которую кормили 1-м вариантом корма. Среди гранулоцитов по численности выделялись нейтрофилы (наибольшая их доля отмечена у рыб в начале эксперимента, наименьшая – у рыб после кормления 1-м вариантом корма) и затем эозинофилы (наибольшая их доля отмечена у рыб после кормления 1-м вариантом корма, наименьшая – у рыб из контрольной группы). Базофилы не были зафиксированы.

Результаты генотоксических исследований клеток крови молоди стерляди, полученных методом ДНК-комет в начале и в конце экспериментального кормления, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Table 3

Показатели ДНК-комет клеток крови молоди стерляди в эксперименте с использованием функциональных кормовых добавок в условиях аквариального комплекса лаборатории

Indicators of DNA comets of blood cells of juvenile sterlet in an experiment using functional feed additives in the conditions of the laboratory aquarium complex

Показатель	Режим кормления			
	Начало эксперимента	Конец эксперимента (варианты опытного кормления)		
		Контроль	1-й вариант корма «Ветоспорин-Ж» (<i>Bacillus subtilis</i>)	2-й вариант корма «Цеолиг» (опока)
Длина хвоста, пкс	1,81 ± 0,22 ^{А-В, А-В, А-Г}	4,51 ± 0,19 ^{А-В}	3,10 ± 0,16 ^{А-В, В-Г}	6,82 ± 0,24 ^{А-Г, В-Г}
Доля ДНК в хвосте, %	6,28 ± 0,31 ^{А-В, А-Г}	4,28 ± 0,16 ^{А-В, В-Г}	3,54 ± 0,14 ^{В-Г}	7,21 ± 0,22 ^{А-Г, В-Г, В-Г}
Момент хвоста	0,70 ± 0,17 ^{А-В, А-В, А-Г}	0,40 ± 0,07 ^{А-В, В-В, В-Г}	0,21 ± 0,03 ^{А-В, В-В, В-Г}	0,83 ± 0,13 ^{А-Г, В-Г, В-Г}
Момент Оливке	2,22 ± 0,17 ^{А-В, А-Г}	1,76 ± 0,07 ^{А-В, В-Г}	1,43 ± 0,05 ^{В-Г}	2,35 ± 0,09 ^{А-Г, В-Г, В-Г}

* Достоверность статистически значимых различий ($p \leq 0,05$) отмечена надстрочным символом: А – начало эксперимента; В – конец эксперимента, контроль; В – конец эксперимента, 1-й вариант корма; Г – конец эксперимента, 2-й вариант корма.

Наибольшая величина длины хвоста кометы отмечена в конце эксперимента у рыб, которые

получали 2-й вариант корма, а наименьшая у рыб в начале эксперимента (рис. 3).

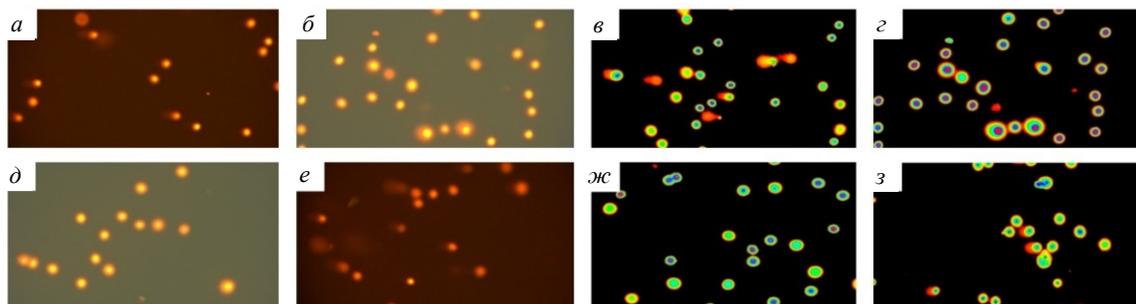


Рис. 3. ДНК-кометы клеток крови молоди стерляди в эксперименте с использованием функциональных кормовых добавок в условиях аквариального комплекса: а, в – начало эксперимента; б, г – конец эксперимента, контроль; д, ж – конец эксперимента, 1-й вариант корма; е, з – конец эксперимента, 2-й вариант корма; ув. 10 × 20 (а, б, д, е – изображения с микроскопа; в, г, ж, з – клетки крови при обработке в программе TriTek CometScore 2.0.0.3)

Fig. 3. DNA comets of blood cells of juvenile sterlet in an experiment using functional feed additives in an aquarium complex: а, в – the beginning of the experiment; б, г – the end of the experiment, control; д, ж – the end of the experiment, 1 feed option; е, з – the end of the experiment, 2 feed option; en. 10 × 20 (а, б, д, е – images from a microscope; в, г, ж, з – blood cells during processing in the TriTek CometScore 2.0.0.3 program)

Различия были достоверны, т. е. в начале эксперимента в результате повреждения ДНК образовывались более крупные фрагменты, в конце более мелкие. По мере образования значительного количества разрывов ДНК размер ее фрагментов уменьшается, соответственно, больше «осколков» ДНК может мигрировать, а средняя длина хвоста увеличивается. Таким образом, наибольшее число разрывов и неустойчивых участков ДНК отмечено в клетках крови молоди стерляди, получавших 2-й вариант корма, в конце эксперимента. Наибольший процент ДНК в хвосте кометы в среднем также оказался у молоди, получавших корм с добавкой цеолита (7,21 %), наименьший – с добавкой пробиотического препарата (3,54 %) (см. рис. 3). Это еще раз подтверждает, что наибольшее количество повреждений ДНК отмечено в конце эксперимента у рыб, получавших 2-й вариант корма. Показатель «момент хвоста», который рассчитывается как произведение длины хвоста и доли мигрировавшей ДНК/100, учитывает, соответственно, и количество, и размеры мигрировавших в хвост фрагментов ДНК. Высоким он был у особей, получавших 2-й вариант корма (0,83), и в начале эксперимента, когда рыба только поступила в лабораторию из рыбоводного хозяйства (0,70). Различия были достоверны, т. е. вновь особи, которых кормили кормом с добавлением цеолита, оказались менее благополучными и по этому показателю, множество мелких фрагментов ДНК отмечено в хвостах комет их эритроцитов.

Наибольший уровень момента Оливе был у особей, получавших 2-й вариант корма (2,35), и в начале эксперимента (2,22), наименьший – у рыб, получавших 1-й вариант корма (1,43). Различия были достоверны. Момент Оливе характеризует разнородность повреждения ДНК внутри клеточной популяции. Как было показано ранее, клетки показывают значительную гетерогенность повреждений ДНК, при прямом генотоксическом воздействии (например, ионизирующем излучении) [28]. Таким образом, и по этому показателю особи молоди стерляди, получавшие 2-й вариант корма, оказались наименее благополучными, с широкой вариацией повреждения ДНК клеток крови.

При анализе научной литературы было установлено, что у особей молоди стерляди на ранних этапах развития при содержании в оптимальных условиях (контроль) доля ДНК в хвосте кометы не превышала 11 % [29]. То есть вся изученная молодь стерляди как в начале, так и в конце эксперимента характеризовалась невысоким уровнем повреждения ДНК клеток крови. Но наиболее благополучными по показателям ДНК-комет все-таки можно назвать особей стерляди, получавших корм с пробиотической добавкой на основе бактерий *Bacillus*

subtilis. В свою очередь, показатели микроядерного теста свидетельствовали о том, что частота появлений эритроцитов с МЯ в процессе эксперимента не отличалась в группах 1, 2 варианта кормления и контроля, незначительно превышая норму. Данное обстоятельство может подтвердить некоторое преимущество теста ДНК-комет по отношению к микроядерному как более чувствительному, особенно в сжатые временные сроки. Это согласуется с литературными данными, в которых указано, что в ходе экспериментальных манипуляций с электрической рыбой-нож *Apteronotus bonapartii* ДНК-комет тест был более подходящим, чем подсчет количества эритроцитов с МЯ [30]. К тому же возникновение МЯ требуют деления клетки и, соответственно, определенного времени. Возможно, увеличение количества эритроцитов с МЯ связано с отдаленными последствиями неблагоприятного воздействия вод естественного водоисточника на садковом хозяйстве (рукав Хурдун, дельта Волги).

Заключение

Таким образом, молодь, полученная и выращенная в условиях рыбоводного хозяйства, расположенного в дельте Волги, где водоисточником, соответственно, является естественный водоем, характеризовалась нормальным физиологическим состоянием. Уровень количества патологических эритроцитов был ниже 5 %, лейкограмма соответствовала референсным значениям. Генотоксическое воздействие среды было невысоким, судя по показателям микроядерного теста и показателям, полученным методом ДНК-комет. Однако даже невысокий уровень повреждения ДНК клеток ценных осетровых рыб не стоит игнорировать. В экспериментальных условиях аквариального комплекса были предприняты меры по снижению показателей генотоксичности среды для этих особей путем добавления в корм функциональных добавок – пробиотической добавки «Ветоспорин-Ж» и минеральной добавки «Цеолит». Эксперимент показал, что, основываясь на данных биологических показателей роста, показателей ДНК-комет, можно говорить о положительном результате выращивания молоди стерляди на кормах с добавлением пробиотической добавки на основе бактерий *Bacillus subtilis*, т. к. ее введение в корм дало значимое увеличение прироста массы и длины тела молоди стерляди. Все проанализированные показатели ДНК-комет были достоверно меньше именно в группе, которую кормили с добавкой пробиотика. Внесение в корм минеральной добавки «Цеолит» такой эффективности не показало. В связи с этим на основе полученных данных можно обоснованно рекомендовать введение добавки на основе *Bacillus subtilis* при кормлении молоди осетровых рыб для эффективного снижения повреждения ДНК.

Список источников

1. Васильева Л. М. Проблемы и перспективы развития аквакультуры осетровых рыб в современных условиях // Аквакультура осетровых рыб: проблемы и перспективы: материалы докл. Междунар. науч.-практ. конф. (Астрахань, 10–12 октября 2017 г.). Астрахань: Изд. дом «Астраханский университет», 2017. С. 7–10.
2. Чертова Е. Астраханьрыбхоз: проблематика астраханской аквакультуры. URL: <https://www.xn--90acg2bbi1ff.xn--p1ai/experts/31-interview/550-ech> (дата обращения: 26.02.2024).
3. Tomassetti P., Gennaro L., Lattanzi I., Mercatali E., Persia D., Vani A., Porrello S. Benthic community response to sediment organic enrichment by Mediterranean fish farms: Case studies // *Aquaculture*. 2016. V. 450. P. 262–272.
4. Hallare A., Ocampo K., Tayo P., Balolong M. Genotoxic stress induced by intensive aquaculture activities in Taal Lake (Philippines) on circulating fish erythrocytes using the comet assay and micronucleus test // *Advances in Environmental Biology*. 2016. V. 10 (1). P. 273–283.
5. Singh N. P. The comet assay: reflections on its development, evolution and applications // *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*. 2016. V. 767. P. 23–30.
6. Buschini A., Martino B., Gustavino M., Monfrinotti P., Poli C., Rossi M., Santoro A., Dörr J., Rizzoni M. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed in situ to lake waters treated with disinfectants for potabilization // *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2003. V. 557 (2). P. 119–129.
7. Остроумова И. Н., Мосейчук К. Б. Роль цеолитов в торможении перекисного окисления липидов рыбной муки // Сб. науч. тр. ГОСНИОРХ. 1997. Вып. 325. С. 31–39.
8. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1966. 267 с.
9. Резников В. Ф., Баранов С. А., Стариков Е. А., Толчинский Г. И. Стандартная модель массонакопления рыбы // Механизация и автоматизация рыбоводства и рыбоводства во внутренних водоемах: сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1978. Вып. 77. С. 12–14.
10. Castell J. D., Tiews K. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research // *EIFAC Tech. pap. Hamburg*, 1979. V. 36. P. 1–24.
11. Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells // *Experimental cell research*. 1988. V. 175. N. 1. P. 184–191.
12. Kumaravel T. S., Vilhar B., Faux S. P., Jha A. N. Comet Assay measurements: a perspective // *Cell Biology and Toxicology*. 2009. V. 25. P. 53–64.
13. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 79 с.
14. Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н./Д.: Книж. изд-во, 1989. 109 с.
15. Крюков В. И. Анализ микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах рыб, амфибий, рептилий и птиц: критерии выявления и типирования. Красноярск: Науч.-инновац. центр, 2023. 94 с.
16. Williams N. T. Probiotics // *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2010. V. 67. P. 449–458.
17. Yang H. L., Xia H. Q., Ye Y. D., Zou W. C., Sun Y. Z. Probiotic *Bacillus pumilus* SE5 shapes the intestinal microbiota and mucosal immunity in grouper *Epinephelus coioides* // *Diseases of aquatic organisms*. 2014. V. 111. P. 119–127.
18. Wang Y., Wu Y., Wang Y., Fu A., Gong L., Li W., Li Y. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016. V. 101. P. 1–12.
19. Schieber M., Chandel N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress // *Current Biology*. 2014. V. 24. P. 453–462.
20. Канидьев А. Н., Лабутин В. Г. Эффективность добавления в комбикорм радужной форели природного цеолита (клиноптилолита) // *Вопр. интенсификации прудового рыбоводства*. 1985. Вып. 45. С. 178–184.
21. Бескровная Н. И., Желтов Ю. А. Использование природных цеолитов в составе комбикормов при выращивании карпа на теплых водах // *Междунар. науч. конф. (Киев, 23 ноября 1994 г.): тез. докл. Киев, 1994. С. 167–170.*
22. Баканёва Ю. М., Бычкова А. П., Баканёв Н. М., Фёдоровых Ю. В. Природные цеолиты в продукционных комбикормах для осетровых рыб // *Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та*. 2013. № 1. С. 162–166.
23. Ширин Ю. М., Файзулина Д. Р., Конькова А. В., Котельников А. В., Богатов И. А., Котельникова С. В. Перспективы использования муки из люцерны в составе кормов для австралийского красноклещевого рака // *Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та*. 2023. № 1. С. 72–81.
24. Новицкий В. В. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 272 с.
25. Давыдов О. Н., Темниханов Ю. Д., Куровская Л. Я. Патология крови рыб. Киев: ИНКОС, 2006. 206 с.
26. Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. Референсные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов // *Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та*. 2015. № 4. С. 103–108.
27. Головина Н. А., Романова Н. Н. Лабораторный практикум по физиологии животных. СПб.: Лань, 2019. 136 с.
28. Olive P., Banáth J. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells // *Nature protocols*. 2006. V. 1. N. 1. P. 23–29.
29. Gazo I., Franěk R., Šindelka R., Lebeda I., Shivaramu S., Pšenička M., Steinbach C. Ancient sturgeons possess effective dna repair mechanisms: influence of model genotoxicants on embryo development of sterlet, *Acipenser ruthenus* // *International journal of molecular sciences*. 2021. V. 22 (1). P. 1–6.
30. Bucker A., Carvalho M., Conceição M., Alves-Gomes J. Micronucleus test and comet assay in erythrocytes of the Amazonian electric fish *Apteronotus bonapartii* exposed to benzene // *Ecotoxicology and Environmental Contamination*. 2012. V. 7 (1). P. 65–73.

References

1. Vasil'eva L. M. Problemy i perspektivy razvitiia akvakul'tury osetrovykh ryb v sovremennykh usloviyakh [Problems and prospects of sturgeon aquaculture development in modern conditions]. *Akvakul'tura osetrovykh ryb: problemy i perspektivy: materialy doklady Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Astrakhan', 10–12 oktiabria*

- 2017 g.). Astrakhan', Izd. dom «Astrakhanskii universitet», 2017. Pp. 7-10.
2. Chertova E. *Astrakhan'rybkhhoz: problematika astrakhanskoi akvakul'tury* [Astrakhan fisheries: problems of Astrakhan aquaculture]. Available at: <https://www.xn--90acg2bb1ff.xn--p1ai/experts/31-interview/550-ech> (accessed: 26.02.2024).
 3. Tomassetti P., Gennaro L., Lattanzi I., Mercatali E., Persia D., Vani A., Porrello S. Benthic community response to sediment organic enrichment by Mediterranean fish farms: Case studies. *Aquaculture*, 2016, vol. 450, pp. 262-272.
 4. Hallare A., Ocampo K., Tayo P., Balolong M. Genotoxic stress induced by intensive aquaculture activities in Taal Lake (Philippines) on circulating fish erythrocytes using the comet assay and micronucleus test. *Advances in Environmental Biology*, 2016, vol. 10 (1), pp. 273-283.
 5. Singh N. P. The comet assay: reflections on its development, evolution and applications. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 2016, vol. 767, pp. 23-30.
 6. Buschini A., Martino B., Gustavino M., Monfrinotti P., Poli C., Rossi M., Santoro A., Dörr J., Rizzoni M. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed in situ to lake waters treated with disinfectants for potabilization. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2003, vol. 557 (2), pp. 119-129.
 7. Ostroumova I. N., Moseichuk K. B. Rol' tseolitov v tormozhenii perekisnogo okisleniia lipidov rybnoi muki [The role of zeolites in inhibiting lipid peroxidation of fish-meal]. *Sbornik nauchnykh trudov GOSNIORKh*, 1997, iss. 325, pp. 31-39.
 8. Pravdin I. F. *Rukovodstvo po izucheniiu ryb* [A guide to the study of fish]. Moscow, Pishchevaia promyshlennost' Publ., 1966. 267 p.
 9. Reznikov V. F., Baranov S. A., Starikov E. A., Tolchinskii G. I. Standartnaia model' massonakopleniia ryby [The standard model of fish mass accumulation]. *Mekhanizatsiia i avtomatizatsiia rybovodstva i rybolovstva vo vnutrennikh vodoemakh: sbornik nauchnykh trudov VNIIPRKH*, 1978, iss. 77, pp. 12-14.
 10. Castell J. D., Tiews K. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research. *EIFAC Tech. pap. Hamburg*, 1979. Vol. 36. Pp. 1-24.
 11. Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research*, 1988, vol. 175, no. 1, pp. 184-191.
 12. Kumaravel T. S., Vilhar B., Faux S. P., Jha A. N. Comet Assay measurements: a perspective. *Cell Biology and Toxicology*, 2009, vol. 25, pp. 53-64.
 13. Ivanova N. T. *Atlas kletok krovi* [Atlas of blood cells]. Moscow, Legkaia i pishchevaia promyshlennost' Publ., 1983. 79 p.
 14. Zhiteneva L. D., Poltavtseva T. G., Rudnitskaia O. A. *Atlas normal'nykh i patologicheskii izmenennykh kletok krovi ryb* [Atlas of normal and pathologically altered fish blood cells]. Rostov-on-Don, Knizh. izd-vo, 1989. 109 p.
 15. Kriukov V. I. *Analiz mikroiaider i iadernykh anomalii v eritrotsitakh ryb, amfibii, reptilii i ptits: kriterii vyavleniia i tipirovaniia* [Analysis of micronuclei and nuclear anomalies in erythrocytes of fish, amphibians, reptiles and birds: criteria for identification and typing]. Krasnoiarsk, Nauch.-innovats. tsentr, 2023. 94 p.
 16. Williams N. T. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2010, vol. 67, pp. 449-458.
 17. Yang H. L., Xia H. Q., Ye Y. D., Zou W. C., Sun Y. Z. Probiotic *Bacillus pumilus* SE5 shapes the intestinal microbiota and mucosal immunity in grouper *Epinephelus coioides*. *Diseases of aquatic organisms*, 2014, vol. 111, pp. 119-127.
 18. Wang Y., Wu Y., Wang Y., Fu A., Gong L., Li W., Li Y. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, vol. 101, pp. 1-12.
 19. Schieber M., Chandel N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 2014, vol. 24, pp. 453-462.
 20. Kanid'ev A. N., Labutin V. G. Effektivnost' dobavleniia v kombikorm raduzhnoi foreli prirodnoho tseolita (klinoptilolita) [The effectiveness of adding natural zeolite (clinoptilolite) to rainbow trout feed]. *Voprosy intensifikatsii prudovogo rybovodstva*, 1985, iss. 45, pp. 178-184.
 21. Beskrovnaia N. I., Zheltov Iu. A. Ispol'zovanie prirodnykh tseolitov v sostave kombikormov pri vyrashchivani karp na teplykh vodakh [The use of natural zeolites in the composition of compound feeds when growing carp in warm waters]. *Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Kiev, 23 noiabria 1994 g.): tezisy dokladov*. Kiev, 1994. Pp. 167-170.
 22. Bakaneva Iu. M., Bychkova A. P., Bakanev N. M., Fedorovych Iu. V. Prirodnye tseolity v produkcii kombikormakh dlia osetrovyykh ryb [Natural zeolites in production compound feeds for sturgeon fish]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*, 2013, no. 1, pp. 162-166.
 23. Shirina Iu. M., Faizulina D. R., Konkova A. V., Kotelnikov A. V., Bogatov I. A., Kotelnikova S. V. Perspektivy ispol'zovaniia muki iz liutserny v sostave kormov dlia avstraliiskogo krasnokleshnevoogo raka [Prospects for the use of alfalfa flour as part of feed for Australian red-clawed crayfish]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*, 2023, no. 1, pp. 72-81.
 24. Novitskii V. V. *Mikroiaidernyi analiz i tsitogenicheskaya nestabil'nost'* [Micronuclear analysis and cytogenetic instability]. Tomsk, Izd-vo Tom. un-ta, 1992. 272 p.
 25. Davydov O. N., Temnikhanov Iu. D., Kurovskaia L. Ia. *Patologiya krovi ryb* [Pathology of fish blood]. Kiev, INKOS Publ., 2006. 206 p.
 26. Pronina G. I., Koriagina N. Iu. Referensnye znacheniiia fiziologo-immunologicheskikh pokazatelei gidrobiontov raznykh vidov [Reference values of physiological and immunological parameters of hydrobionts of different species]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*, 2015, no. 4, pp. 103-108.
 27. Golovina N. A., Romanova N. N. *Laboratornyi praktikum po fiziologii zhivotnykh* [Laboratory workshop on animal physiology]. Saint Petersburg, Lan' Publ., 2019. 136 p.
 28. Olive P., Banath J. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature protocols*, 2006, vol. 1, no. 1, pp. 23-29.
 29. Gazo I., Franek R., Sindelka R., Lebeda I., Shivaramu S., Pšenička M., Steinbach C. Ancient sturgeons possess effective dna repair mechanisms: influence of model genotoxicants on embryo development of sterlet, *Acipenser ruthenus*. *International journal of molecular sciences*, 2021, vol. 22 (1), pp. 1-6.

30. Bucker A., Carvalho M., Conceição M., Alves-Gomes J. Micronucleus test and comet assay in erythrocytes of the Amazonian electric fish *Apteronotus bonapartii* ex-

posed to benzene. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 2012, vol. 7 (1), pp. 65-73.

Статья поступила в редакцию 21.03.2024; одобрена после рецензирования 16.04.2024; принята к публикации 16.05.2024
The article was submitted 21.03.2024; approved after reviewing 16.04.2024; accepted for publication 16.05.2024

Информация об авторах / Information about the authors

Анна Владимировна Конькова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры биотехнологии, аквакультуры, почвоведения и управления земельными ресурсами; ведущий научный сотрудник лаборатории «Аквакультура и гидробиология»; Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; avkonkova@yandex.ru

Anna V. Konkova – Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor; Assistant Professor of Department of Biotechnology, Aquaculture, Soil Science and Land Management; Leading Researcher of the Laboratory of Aquaculture and Hydrobiology; Astrakhan Tatishchev State University; avkonkova@yandex.ru

Дина Рубиновна Файзулина – старший преподаватель кафедры фундаментальной биологии; научный сотрудник лаборатории «Аквакультура и гидробиология»; Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; d_faizulina@mail.ru

Dina R. Faizulina – Senior Lecturer of Department of Fundamental Biology; Researcher of the Laboratory of Aquaculture and Hydrobiology; Astrakhan Tatishchev State University; d_faizulina@mail.ru

Юлия Михайловна Ширина – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; доцент кафедры фундаментальной биологии; старший научный сотрудник лаборатории «Аквакультура и гидробиология»; Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; uliabakaneva@yandex.ru

Yulia M. Shirina – Candidate of Agricultural Sciences, Assistant Professor; Assistant Professor of Department of Fundamental Biology; Senior Researcher of the Laboratory of Aquaculture and Hydrobiology; Astrakhan Tatishchev State University; uliabakaneva@yandex.ru

Иван Александрович Богатов – научный сотрудник лаборатории «Аквакультура и гидробиология»; Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; аспирант кафедры аквакультуры и водных биоресурсов; Астраханский государственный технический университет; num_30@mail.ru

Ivan A. Bogatov – Researcher of the Laboratory of Aquaculture and Hydrobiology; Astrakhan Tatishchev State University; Postgraduate Student of the Department of Aquaculture and Aquatic Bioresources; Astrakhan State Technical University; num_30@mail.ru

