

БІЛКИ ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПА ЗА ДІЇ СУЛЬФАНІЛАМІДУ

I. М. Курбатова

innakurbatova@ukr.net

Національний Університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 11, м. Київ, 03041, Україна

Білковий спектр плазми крові дворічок коропа, за даними електрофорезу в ПААГ, характеризується наявністю 17 фракцій протеїнів, розміщених у зонах преальбумінів, альбумінів, трансферинів, церулоплазміну, гаптоглобіну, фібриногену, гліко- та ліпопротеїдів. Молекулярна маса білків виявлених фракцій коливається від 25 до 450 кДа і більше, а їх кількість у плазмі крові риб і фракційний склад залежали від вмісту сульфаніламіду у воді акваріума. За концентрації сульфаніламіду у воді 0,015 мг/дм³ загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові риб, порівняно з контролем, не змінювались, окрім білків з молекулярною масою 260 кДа, рівень яких знизився на 28 %.

Підвищення концентрації сульфаніламіду у воді акваріума до 0,15 мг/дм³ впливало на фракційний склад білків плазми крові коропів більшою мірою, про що свідчить поява на фореграмі чотирьох нових білкових зон з молекулярною масою понад 140 кДа (зона F), близько 100 кДа (зона H і J) і менше 50 кДа (зона P), а також відсутність білків в зонах L (більше 60 кДа), O (50 кДа) і Q (35 кДа). Крім того, у плазмі крові риб за концентрації сульфаніламіду у воді 0,15 мг/дм³ зареєстровано підвищення вмісту білків з молекулярною масою 60 кДа на 76 % та зниження рівня протеїнів з молекулярною масою 260 кДа і менше (фракції C і D) — відповідно, на 35 і 48 % порівняно з контролем.

У риб за концентрації сульфаніламіду 0,30 мг/дм³ у воді акваріума вплив вказаного ксенобіотика на фракційний склад білків плазми крові проявлявся у зниженні рівня протеїнів фракцій C і D (260 кДа і менше), G (140 кДа) та підвищенні вмісту білків фракції M (60 кДа) паралельно із появою нових фракцій (F, H, J і P), що може бути наслідком зміни електрофоретичної рухливості білків за рахунок впливу цієї сполуки на заряд білкової молекули.

Сульфаніламід, доданий у воду акваріума у концентрації 0,015, 0,15 і 0,30 мг/дм³, не впливав на загальний вміст білка у плазмі крові риб.

Ключові слова: КОРОП, ПЛАЗМА КРОВІ, БІЛКИ, СУЛЬФАНІЛАМІД

**BLOOD PLASMA PROTEIN OF CARP
UNDER THE INFLUENCE OF SULFANILAMIDE**

I. M. Kurbatova

innakurbatova@ukr.net

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
11 Geroiv Oborony str., Kyiv 03041, Ukraine

The protein spectrum of the blood plasma of carp doublets according to the data of PAGE is characterized by the presence of 17 fractions of proteins located in the zones of prealbumins, albumins, transferrins, ceruloplasmins, haptoglobins, fibrinogens, glycoproteins and lipoproteins. The molecular weight of the proteins of the detected fractions ranges from 25 to 450 kDa and more, and their number in the plasma of the fish and the fractional composition depended on the content of sulfonamide in the aquarium water. When the concentration of sulfonamides in water was 0.015 mg/dm³, the total content and fractional composition of the plasma proteins of fish compared to the control did not change, except for proteins with a molecular weight 260 kDa, whose level decreased by 28 %.

The increase in the concentration of sulfanilamide in the aquarium water to 0.15 mg/dm³ influenced the fractional composition of carp blood plasma proteins to a greater extent, as evidenced by the appearance on the forogram of four new protein bands with a molecular mass of more than 140 kDa (zone F), about 100 kDa (zone H and J) and less than 50 kDa (zone P), as well as the absence of proteins in the L zones (more than 60 kDa), O (50 kDa) and Q (35 kDa). In addition, an increase in 76 % of the protein content with a molecular weight of 60 kDa and a decrease in the level of proteins with a molecular weight 260 kD or less (C and D fractions), respectively, by 35 % and 48 % in the blood plasma of fish with a sulfanilamide concentration 0.15 mg/dm³ in water compared to the control was registered.

In fish with a concentration of sulfonamide 0.30 mg/dm³ in the aquarium water the effect of the mentioned xenobiotic on the fractional composition of blood plasma proteins was manifested in a decrease of the level of proteins of fractions C and D (260 kDa and less), G (140 kDa) and an increase in the protein content of the M fraction (60 kDa), in parallel with the appearance of a number of new fractions (F, H, J and P), which may be a consequence of a change in the electrophoretic mobility of proteins.

Sulfonamid added to the aquarium water at a concentration of 0.015, 0.15 and 0.30 mg/dm³ had no effect on the total protein content in fish blood plasma.

Keywords: CARP, BLOOD PLASMA, PROTEINS, SULFANILAMIDE

БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАРПА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СУЛЬФАНИЛАМИДА

И. Н. Курбатова

innakurbatova@ukr.net

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 11, г. Киев, 03041, Украина

Белковый спектр плазмы крови двухлеток карпа, по данным электрофореза в ПААГ, характеризуется наличием 17 фракций белков, расположенных в зонах преальбуминов, альбуминов, трансферринов, церулоплазминов, гаптоглобина, фибриногена, глико- и липопротеидов. Молекулярная масса белков выявленных фракций колеблется от 25 до 450 кДа и более, а их количество в плазме крови рыб и фракционный состав зависели от содержания сульфаниламида в воде аквариума. При концентрации сульфаниламидов 0,015 мг/дм³ в воде общее содержание и фракционный состав белков плазмы крови рыб, по сравнению с контролем, не изменялись, за исключением белков с молекулярной массой 260 кДа, уровень которых снизился на 28 %.

Повышение концентрации сульфаниламида в воде аквариума до 0,15 мг/дм³ влияло на фракционный состав белков плазмы крови карпов в большей степени, о чем свидетельствует появление на фореграмме четырех новых белковых зон с молекулярной массой более 140 кДа (зона F), около 100 кДа (зона H и J) и менее 50 кДа (зона P), а также отсутствие белков в зонах L (более 60 кДа), O (50 кДа) и Q (35 кДа). Кроме того, в плазме крови рыб при концентрации сульфаниламида в воде 0,15 мг/дм³ зарегистрировано повышение содержания белков с молекулярной массой 60 кДа на 76 % и снижение уровня протеинов с молекулярной массой 260 кДа и меньше (фракции C и D), соответственно, на 35 и 48 % по сравнению с контролем.

У рыб при концентрации сульфаниламида 0,30 мг/дм³ в воде аквариума влияние указанного ксенобиотика на фракционный состав белков плазмы крови проявлялся в снижении уровня протеинов фракций C и D (260 кДа и меньше), G (140 кДа) и повышением содержания белков фракции M (60 кДа) параллельно с появлением ряда новых фракций (F, H, J и P), что может быть следствием изменения электрофоретической подвижности белков.

Сульфаниламид, добавленный в воду аквариума в концентрации 0,015, 0,15 и 0,30 мг/дм³, не влиял на общее содержание белка в плазме крови рыб.

Ключевые слова: КАРП, ПЛАЗМА КРОВИ, БЕЛКИ, СУЛЬФАНИЛАМИД

Широке використання при профілактиці та лікуванні хвороб тварин антимікробних засобів, зокрема сульфаниламідів, зумовлює їх накопичення у відходах тваринницьких підприємств та надходження у ґрунти та природні водойми [1, 10, 11]. У ставах із групи сульфонамідів, крім сульфаниламідів, виявлено також залишки сульфагуанідину, сульфадимезину, сульфамеразину, сульфаметоксазолу, вміст яких у воді змінюється в незначних межах [2]. Ксенобіотики, до яких належать і сульфаниламідні препарати, здатні змінювати мікробіоценоз водойм, руйнувати харчові ланцюги,

порушувати природний стан водних екосистем [6]. Вважають, що сульфаниламід є одним з основних широко розповсюджених полютантів ґрунтових вод, а його бактеріостатичні властивості пов'язують із гальмуванням ферментативних реакцій у клітині, зокрема фермента дигідроптероатсинтази [6]. Володіючи високою розчинністю у воді та органічних розчинниках, сульфаниламід здатний легко проникати через мембрани клітин, впливати на ріст тварин, проявляти мутаційні властивості [7]. Водночас сульфаниламід не впливає на активність холінестерази, ендокринні залози, не має нейро-

токсичної дії, однак за тривалого застосування може спричинити алергічні реакції в організмі. Гостра та хронічна токсичність сульфаниламідів для риб, інших гідробіонтів та водних рослин не встановлені, тоді як для ссавців LD₅₀ становить 3700 мг•кг⁻¹ маси тіла [8].

Оскільки сульфаниламід впливає на процеси синтезу білків у тканинах тварин, зокрема змінюючи активність ключових ферментів процесу, можна передбачити його здатність впливати на фракційний склад білків плазми крові риб. Мета роботи — дослідити фракційний склад та загальний вміст білків у плазмі крові дворічок коропа за дії різних концентрацій сульфаниламідів у воді акваріума.

Матеріали і методи

Експерименти проведено на 16-ти коропах (*Cyprinus carpio* L.) дворічного віку, середньою живою масою 450–500 г. Риб утримували впродовж 72 годин у відстояній водопровідній воді в акваріумах об'ємом 40 л, по дві особи в кожному. Під час досліду риб не годували та підтримували сталі значення температури води (18–20 °C), вмісту кисню (7–8 мг/л) та рН (7,85–8,14). Перед посадкою риб дослідних груп у воду акваріумів додавали сульфаниламід (4-амінобензенсульфонамід) («Sigma-Aldrich», Німеччина) в концентрації 0,015 (I), 0,15 (II) та 0,30 мг/дм³ (III дослідна група). Для риб контрольної групи сульфаниламід не вносили.

Під час експерименту спостерігали за поведінкою риб, контролюючи кількість дихальних рухів та рухову активність. У кінці досліду в риб відбирали зразки крові та проводили патоморфологічні дослідження, які охоплювали оцінку зовнішніх покривів тіла, плавців, зябер, кишечнику, гепатопанкреаса, селезінки та нирок [4].

У плазмі крові риб визначали загальний вміст [5] та фракційний склад білків [12]. Для розділення білків плазми крові на фракції використовували електрофоретичний метод, заснований на різній рухливості білків в поліакриламідному гелі (ПААГ) у градієнті концентрації (7–18 %). Гелі після завершення електрофорезу фіксували сумішшю метанолу, формальдегіду та води у співвідношенні 6:1:7.

Білкові зони на гелях виявляли фарбуванням їх 0,1 % розчином Кумасі R-250 («Serva», Швеція). Молекулярну масу окремих фракцій білків плазми крові риб встановлювали за стандартними білковими маркерами («Thermo Bioscience», Англія).

Для кількісної характеристики білкових зон гелів використовували гель-сканер («Hewlett-Packard HPS-5500C», США) та спеціальну комп'ютерну програму (*Densito Analyse*) [16]. Результати дослідження оброблено статистично за спеціальною програмою в *Microsoft Excel* [9].

Результати й обговорення

Витримування коропів впродовж 72 годин у воді акваріума з концентрацією сульфаниламідів 0,015; 0,15 і 0,30 мг/дм³ не впливало на загальний вміст білків у плазмі крові риб, але змінювало її білковий спектр, про що свідчать результати досліджень фракційного складу білків плазми крові риб (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Вміст білка в плазмі крові риб за дії сульфаниламідів (г/л, M±n, n=4)
The protein content in the blood plasma of fish under the action of sulfanilamide (g/l, M±n, n=4)

Група / Group	Вміст білка / The protein content
Контрольна / Control	40,25±1,78
Дослідні / Research:	
I	42,50±0,45*
II	48,00±5,34
III	43,00±0,38

Примітка: * — різниця вірогідна (P≤0,05) порівняно з контролем.

Note: * — the difference is significant (P≤0.05) compared to the control.

Встановлено, що білковий спектр плазми крові коропа, за одержаними даними досліджень, характеризується наявністю 17 білкових зон, а ідентифікація білків за допомогою стандартних маркерів показала, що їх молекулярні маси становлять від 25 до 450 кДа і більше.

Плазма крові коропа, подібно до теплокровних тварин, містить низькомолекулярні білки, до яких належать преальбуміни, альбуміни, постальбуміни та трансферини, а також

білки високомолекулярних фракцій, представлені фібриногеном, імунними глобулінами, гліко- та ліпопротеїнами. У коропа в плазмі крові виявлені також білки з молекулярною масою 80–140 кДа, до яких належать церулоплазмін, гаптоглобін та низка інших глобулярних протеїнів. Основними ж білками плазми крові корошових рибу залишаються фракції альбумінів та глобулінів [10].

За концентрації сульфаніламіду у воді акваріума 0,015 мг/дм³ вміст білків високомолекулярних фракцій у плазмі крові корошів, порівняно з контролем, практично не змінився, за винятком протеїнів з молекулярною масою 260 кДа, розміщених у зоні С, вміст яких знизився на 28 % (табл. 2). Оскільки білки плазми крові з такою молекулярною масою у теплокровних тварин входять до фракції імуноглобулінів, ймовірно, сульфаніламід навіть за концентрації у воді 0,015 мг/дм³ впливає на імунний статус рибу. Загальний вміст білків у плазмі крові рибу, а також інших фракцій, та розподіл їх по зонах за концентрації сульфаніламіду у воді 0,015 мг/дм³ не відрізнялися від контролю.

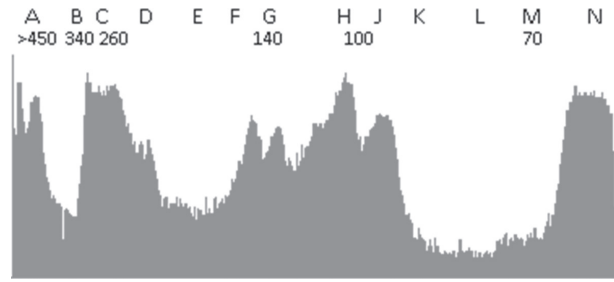


Рис. 1. Електрофореграма білків плазми крові рибу контрольної групи

Fig. 1. Electrophoregram of blood plasma proteins in control group of fish

Підвищення концентрації сульфаніламіду у воді акваріума до 0,15 мг/дм³ впливало на білковий спектр плазми крові корошів значно більшою мірою. Про це свідчить зниження у плазмі крові рибу вмісту білків з молекулярною масою 260 кДа і нижче (фракції С і D) — відповідно, на 35 і 48 % порівняно з аналогічними показниками у рибу контрольної групи. У корошів за такої концентрації сульфаніламіду у воді акваріума зареєстровано підвищення вмісту білків з молекулярною масою 60 кДа на 76 % порівняно з контролем. Відомо, що основни-

Таблиця 2

Фракційний склад білків плазми крові рибу за дії сульфаніламіду (г/л, М±m, n=4)
Fractional composition of fish blood plasma proteins for the actions of sulfanilamide (g/l, M±m, n=4)

Білкова зона Protein zone	М.м., кДа M.w., kDa	Контроль Control	Дослідні групи — концентрація сульфаніламіду у воді, мг/дм ³ Research groups — sulfanilamide concentration in water, mg/dm ³		
			I — 0,015	II — 0,15	III — 0,30
A	>450	3,24±0,45	3,02±0,73	3,68±0,28	3,68±0,39
B	340	2,44±0,24	1,96±0,60	2,59±0,28	2,70±0,15
C	260	10,43±0,66	7,54±0,97*	6,75±0,37*	7,32±0,61*
D	—	2,64±0,30	2,63±0,38	1,37±0,24*	1,56±0,37*
E	—	1,56±0,58	1,29±0,57	1,30±0,18	1,31±0,28
F	—	—	—	1,16±0,24	1,85±0,62
G	140	1,98±0,45	1,58±0,29	2,14±0,18	1,18±0,32**
H	100	—	—	1,84±0,29	1,75±0,12
J	—	—	—	4,00±0,78	3,07±0,31
K	—	2,97±0,62	2,59±0,36	2,28±0,25	2,19±0,12
L	—	2,70±0,35	2,74±0,49	—	—
M	60	3,96±0,50	4,40±0,37	6,99±0,50*	4,90±0,24**
N	—	2,80±0,33	2,66±0,93	2,65±0,34	2,54±0,22
O	50	0,96±0,25	0,97±0,36	—	—
P	—	—	—	2,15±0,32	2,05±0,35
Q	35	0,16±0,09	0,23±0,11	—	—
R	25	6,35±0,73	6,31±0,74	7,27±0,61	6,33±0,78

Примітка: * — різниця вірогідна (P≤0,05) порівняно з контролем, ** — різниця вірогідна (P≤0,05) порівняно з II дослідною групою.

Note: * — the difference is significant (P≤0.05) compared to control, ** — the difference is significant (P≤0.05) compared to the 2nd experimental group.

ми білками цієї фракції є альбуміни, головна роль яких пов'язана із транспортом біологічно активних речовин. Ймовірно, збільшення їх кількості у плазмі крові коропа за підвищених концентрацій сульфаніламід у воді пов'язано з активацією механізмів зв'язування вказаного ксенобіотика білками крові риб. Відомо, що в основі механізму зв'язування сульфаніламідних препаратів — сульфаніламід та сульфометоксазолу — з альбумінами сироватки крові лежать гідрофобні та електростатичні взаємодії і водневі зв'язки. Входження цих ксенобіотиків у гідрофобні «кишені» молекул альбумінів, поряд із електростатичними взаємодіями, ймовірно, може змінювати не тільки їх кількість, але й електрофоретичну рухливість [3]. Крім того, сульфаніламід, навіть за нетривалої експозиції коропів та з концентрацією у воді $0,15 \text{ мг/дм}^3$ спричиняв появу у плазмі крові риб додаткових білкових фракцій з молекулярною масою 100 кДа і менше, розміщених у зонах Н і J, а також з молекулярною масою менше 50 кДа (зона О), на відміну від контролю та аналогічних показників у риб із вмістом ксенобіотика у водному середовищі $0,015 \text{ мг/дм}^3$ (рис. 1, табл. 2).

Натомість у плазмі крові риб II групи з концентрацією сульфаніламід у воді $0,15 \text{ мг/дм}^3$ порівняно з контролем, виявились відсутніми деякі фракції білків — в основному з низькою молекулярною масою, що належали до зон L, O, Q і були виявлені у коропів контрольної та I дослідної груп. Таким чином, на основі одержаних результатів досліджень можна зробити висновок про вплив сульфаніламід на фракційний склад білків плазми крові риб, про що свідчить не тільки зміна вмісту білків, але й поява додаткових білкових фракцій, переважно у високомолекулярній та низькомолекулярній зонах.

Такий висновок підтверджено дослідженнями фракційного складу білків плазми крові риб, які перебували у воді акваріума з концентрацією сульфаніламід у воді $0,30 \text{ мг/дм}^3$ протягом 72 годин. У плазмі крові коропів III дослідної групи на фореграмі виявлено 14 зон білків, молекулярна маса яких становила від 25 до 450 кДа і більше (табл. 2). На відміну від риб контрольної групи, в плазмі крові яких виявлено 17 білкових зон, у коропів з концентрацією

сульфаніламід у воді акваріума, як і в риб II дослідної групи, не були виявлені деякі фракції білків з низькою молекулярною масою, розміщених у зонах L, O і Q. Молекулярна маса вказаних білків коливалася в межах $25\text{--}50 \text{ кДа}$, які, як відомо, входять до групи преальбумінів, що в першу чергу зазнають впливу ксенобіотиків [5]. Враховуючи те, що в теплокровних тварин білки з низькою молекулярною масою, до яких відносять фракції преальбумінів (до 55 кДа), крім осморегуляторних функцій, забезпечують участь у транспорті деяких органічних сполук, зміна їх вмісту та електрофоретичної рухливості у риб за дії сульфаніламід може впливати на функціональну активність низки органів та систем організму.

Поряд з цим, у плазмі крові риб за концентрації сульфаніламід у воді акваріума $0,30 \text{ мг/дм}^3$, порівняно з контролем, виявлено низку фракцій білків, розміщених у зонах H, I та P. Аналогічні фракції білків виявлені також у плазмі крові коропів II дослідної групи, що вказує на вплив високих концентрацій сульфаніламід у воді на білковий спектр плазми крові. Ці зміни пов'язані, ймовірно, з участю білків крові риб у механізмах їх адаптації до впливу ксенобіотиків, що мають антибактеріальну дію.

Проведені дослідження свідчать, що сульфаніламід у концентрації $0,15$ і $0,30 \text{ мг/дм}^3$ змінює білковий спектр плазми крові коропів за рахунок появи додаткових білкових зон (фракції F, M, J і P) з молекулярною масою білків близько 100 і 140 кДа і більше та спричиняє зниження вмісту білків в зонах (L, O і Q) з молекулярною масою 35 і 50 кДа .

Отже, сульфаніламід, доданий у воду акваріума у концентрації $0,015 \text{ мг/дм}^3$, не впливав, а за концентрацій $0,15$ і $0,30 \text{ мг/дм}^3$ змінював загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові дворічок коропа, знижуючи рівень білків високо- та низькомолекулярних фракцій, викликаючи появу додаткових та зникнення окремих білкових зон з молекулярною масою близько $100\text{--}140 \text{ кДа}$ та 35 і 50 кДа відповідно.

Висновки

На основі проведених досліджень можна зробити висновок, що дворічки коропа за не-

тривалого перебування у воді акваріума з концентрацією сульфаниламідів 0,015 мг/дм³ здатні адаптуватись до дії цього ксенобіотика, про що свідчить відсутність його впливу на фракційний склад білків плазми крові. За вмісту сульфаниламідів 0,15 і 0,30 мг/дм³ у воді акваріума спостерігаються значні зміни фракційного складу білків плазми крові, попри сталі значення загального вмісту протеїнів.

Перспективи подальших досліджень

полягають у вивченні механізмів впливу сульфаниламідів, зокрема сульфадимезину, сульфаметоксазолу, сульфатуанідину і сульфамеразину, виявлених у стічних водах тваринницьких об'єктів, на фракційний склад та властивості білків плазми крові коропа різних вікових груп.

1. Baklashova T. A. *Workshop on ichthyology*. Moscow, Agropromizdat, 1990, 223 p. (in Russian)

2. Bukreeva E. M., Lositsky O. S., Zimin Y. V. The biological activity of some derivatives of sulfanilamide and diaminopyrimidina. *Modern problems of science and education*, 2011, no. 3, (in Russian)

3. Chen J., Zhou X., Zhang Y., Gao H. Potential toxicity of sulfanilamide antibiotic: binding of sulfamathazine to human serum albumin. *Sci. Totae Environ.*, 2012, tug. 15, vol. 432, pp. 269–274. DOI: 10.1016/J.scintotenv. 2012. 06.003. Epub. 2012. jun.27.

4. Colman J., Rem K.-H. *Visual Biochemistry*. M., March, 2004, 469 p.

5. Gornely S. Determination of serum protein by mean of biuret reaction. *Journal of Biochemistry*, 1949, vol. 177, no. 2, pp. 751–755.

6. Gulkova A., Leung H. W., Jamashita N. Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Sheuzhen, China. *Water research*, 2008, vol. 42 (1–2), pp. 349–403.

7. Horzheyev V. M., Kotsyumbas I. Y., Kosenko Y. M., Tortkivska A. I., Zaruma L. E. *Handbook of veterinary drugs*. Lviv, publishing house “Afisha”, 2013, 1596 pp. (in Ukrainian)

8. Ivanova O. V., Zakharenko M. O. Sanitary sewage indicators pig enterprises for biological purification methods. *Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named S. Z. Gzhytsky*, 2013, no. 3 (57), pp. 335–341. (in Ukrainian)

9. Kokunin V. A. Statistical data processing with a small number of trials. *Ukrainian Biochemical Journal*, 1975, issue 47, no. 6, pp. 776–790.

10. Kurbatova I. M. The protein spectrum of blood plasma carp for the actions of chlortetracycline. *Hydrobiological Journal*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 103–108.

11. Kurbatova I. M., Tsedyk V. V. The quality of the water reservoirs of industrial fishing and its impact on the eggs of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Proceedings of Volyn Pedagogical University by L. Ukrainka*, 2012, no. 9, pp. 224–228.

12. Laemmly U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 1970, vol. 227, no. 5259, pp. 680–685.

13. Lukyanenko V. I. Environmental aspects of ichthyology. Moscow, “Agropromizdat”, 1987, 240 p. (in Russian)

14. Muradova G. R., Raadanova A. I. Dynamics of proteins in the blood serum of carp fingerlings in chronic effects of heavy metals. *Successes of modern science*, 2012, no. 7, pp. 58–62.

15. Reshetnikov D. S., Popov O. A., Koschulin N. A. Evaluation of the well-being of the fishing community of water as a result of the morphological analysis of fish. *The successes of modern biology*, 1999, no. 2, pp. 165–177.

16. Shandrenko S. G., Golovin A. S., Dimitrenko M. P., Yurchenko A. I. The computer registration and analysis of TLC. *Journal of chromatography of the Society*, 2003, vol. 2, no. 4, pp. 22–30.