

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛИЧИНОК РЫБ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА МОРСКОЙ СРЕДЫ

Изучена активность ферментов антиоксидантной системы (АО) личинок атерины *Atherina hepsetus* L в прибрежной акватории Севастополя с различной степенью антропогенной нагрузки. Активность супероксиддисмутазы (СОД) изменялась в диапазоне $9,51 \pm 1,13 - 14,05 \pm 1,13$ nM NADH/(г ткани · мин), глутатионпероксидазы (ГП) – $0,95 \pm 0,08 - 9,13 \pm 3,02$ у.е.а./г ткани · мин). Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) составляла $27,79 \pm 1,25 - 167,4 \pm 43,9$ nM МДА/(г ткани). В загрязненных районах отмечено некоторое повышение активности СОД, значительное снижение активности ГП, а также активизация процессов ПОЛ.

Известно, что при нормальной жизнедеятельности организма в клетке образуются свободные радикалы - метаболитически активные соединения, нарушающие обмен веществ в ней [14]. Их образование активируется при различных стрессовых ситуациях, особенно при токсическом воздействии. Для защиты от повреждения в клетке существует механизм нейтрализации свободных радикалов, включающий работу антиоксидантной (АО) системы. К элементам АО комплекса относятся супероксиддисмутаза (СОД), нейтрализующая свободные радикалы с образованием перекиси водорода, а также каталаза и глутатионпероксидаза (ГП), обезвреживающие перекись [6]. На активность ферментов АО системы позвоночных, в частности рыб, влияет широкий спектр загрязнителей - тяжелых металлов, полихлорбифенилов, полициклических ароматических углеводородов [8, 9, 10]. В тех случаях, когда токсическое воздействие фактора окружающей среды усиливается и превышает величины, определяемые как фоновые, в антиоксидантной защите гидробионтов происходит сбой, ведущий к активизации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3]. Учитывая универсальность АО отклика организмов на различные загрязнители, его показатели применяют для контроля состояния морских экосистем [9, 10, 12]. Однако работ по исследованию параметров АО комплекса рыб на ранних стадиях онтогенеза, находящихся в различных условиях токсического воздействия, немного [12]. В то же время известно, что наиболее подвержены токсическому воздействию именно ранние стадии онтогенеза рыб. Возможность использования активности каталазы личинок рыб для контроля качества морской среды была показана в [7].

Целью нашей работы было исследование активности параметров АО комплекса личинок рыб как показателя экологического состояния прибрежных вод Севастополя.

Материал и методы. В качестве объекта исследований выбраны личинки атерины *Atherina hepsetus* L., а районами исследований - два прибрежных участка, отличающихся степенью загрязнения и водообмена, - Севастопольская бухта и открытая часть моря на траверзе бухты Омега. Первый из них характеризуется нарушением водообмена с открытой частью моря и значительными антропогенными источниками загрязнения; его вода отнесена к 5 классу качества [2]. Пробы личинок были отобраны на 3-х станциях, являющихся частью стандартной сетки отбора проб, используемой в ИнБЮМ. Станции 3, 5А и 6 характеризуются различной степенью загрязнения: ст. 3 отличается тепловое загрязнение, обусловленное присутствием ГРЭС, ст. 5А - в районе понтонного моста и зоны купания, на ст. 6 базируется флот и здесь отмечают как бытовые, так и химические сбросы. Район бухты Омега отнесен к разряду относительно чистых [4].

Личинок и молодь рыб на указанных станциях собирали в июне - июле 1998 - 1999 гг. Живых личинок и мальков размером 8 - 15 мм отлавливали сачком. В опыт отбирали по 6 экз. личинок (по две особи трех размерных групп - 8, 10 и 15 мм), растирали их на холоду с физраствором в гомогенизаторе. Работали с 10% раствором ткани. Отбор материала проводили 36 раз, количество параллельных проб - от 4 до 12. С момента сбора материала до начала эксперимента проходило не более часа.

Активность исследуемых ферментов АО системы личинок определяли: СОД - по способности ингибировать восстановление нитросинего тетразолия [11], ГП - по накоплению окисленного глутатиона [5], уровень ПОЛ - по накоплению конечного продукта, малонового диальдегида [13]. Уровень показателей рассчитывали на грамм сырой

ткани. Результаты обработаны статистически, разброс данных представлен стандартным отклонением.

Результаты и обсуждение. Определение активности СОД у личинок *Atherina hepsetus* проводили по станциям 3, 5А, 6 и 9. В чистом районе (станция 9) активность СОД составляла $14,05 \pm 2,07$ mM NADH/(г ткани·мин) (рис.1). Некоторое увеличение активности СОД отмечено при наличии теплового загрязнения (ст. 3), а также на ст. 6 - $17,62 \pm 1,02$ mM NADH/(г ткани·мин) и $16,34 \pm 1,43$ mM NADH/(г ткани·мин) соответственно., что может свидетельствовать о стрессе, который испытывают личинки в данных районах, в результате чего увеличиваются свободнорадикальная продукция и метаболический беспорядок, стимулирующие работу СОД. Некоторое снижение активности СОД наблюдали на ст. 5А - $9,51 \pm 1,129$ mM NADH/(г ткани·мин). Однако имеющиеся в нашем распоряжении данные не позволяют дать этому явлению адекватное объяснение.

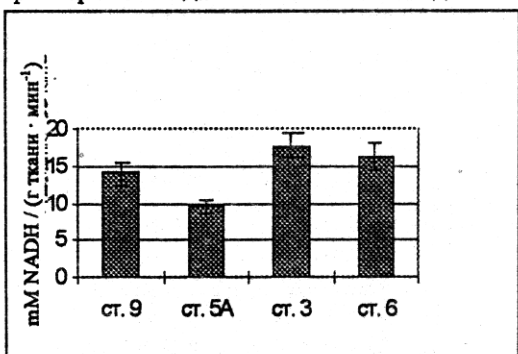


Рисунок 1. Активность супероксиддисмутазы личинок *Atherina hepsetus*

Figure 1. Superoxiddismutase activity of *Atherina hepsetus* larvae

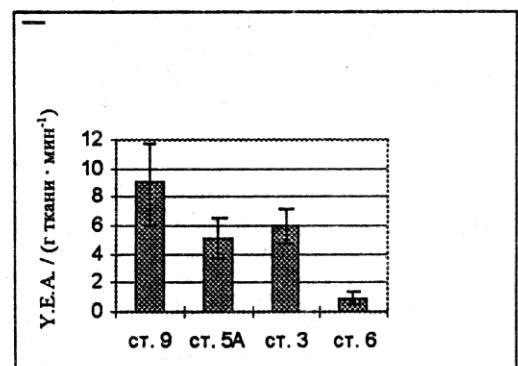


Рисунок 2. Активность глутатионпероксидазы личинок *Atherina hepsetus*

Figure 2. Glutathionperoxidase activity of *Atherina hepsetus* larvae

При исследовании ПОЛ у личинок *A. hepsetus* отмечено усиление этого процесса в загрязненных районах (рис.3). Особенно существенно это проявилось при наличии теплового загрязнения на ст. 3, где интенсивность перекисных процессов увеличилась в 6 раз по сравнению с чистым районом и составила $167,6 \pm 47,9$ nM MDA/г ткани и $27,8 \pm 1,3$ nM MDA/г ткани соответственно. На этой же станции наиболее высокой была активность СОД, что дает возможность предположить, что эти показатели (активность СОД и ПОЛ) реагируют на тепловое загрязнение, тогда как активность ГП и каталазы –

Активность глутатионпероксидазы у личинок снижалась с увеличением степени загрязнения станций (рис.2). Наиболее высокой она была на ст. 9, самой чистой из всех исследуемых станций, и составляла $9,13 \pm 3,02$ у.е.активности/(г ткани·мин) На ст. 3 было отмечено снижение активности ГП до $6,07 \pm 1,12$ у.е.а./ (г ткани·мин), на ст 5 – до $5,08 \pm 1,52$ у.е.а./ (г ткани·мин). На ст. 6, одной из наиболее загрязненных, активность ГП уменьшалась в 10 раз по сравнению с контролем и составляла $0,95 \pm 0,08$ у.е.а./ (г ткани·мин). Этот факт можно объяснить усилением процессов трансформации продуктов свободнорадикального окисления при токсическом стрессе, накоплением высоких концентраций перекиси, блокирующей активность ГП, функционирующей при низких концентрациях пероксида, и включением в работу каталазы, увеличение активности которой в загрязненных районах было показано ранее [7].

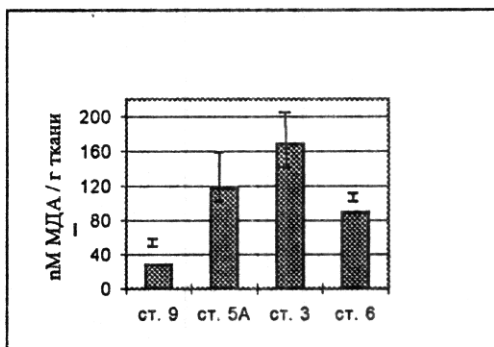


Рисунок 3. Перекисное окисление липидов у личинок *Atherina hepsetus*

Figure 3. Lipid peroxidation of *Atherina hepsetus* larvae

на токсическое. Усиление процессов ПОЛ на станциях 5А и 6 также было довольно существенным - $117.6 \pm 34,2$ nM MDA/г ткани и $89,2 \pm 2,5$ nM MDA/г ткани – соответственно.

Выводы. Полученные данные позволили выявить наиболее загрязненные участки в пределах Севастопольской бухты. Повышение активности супероксиддисмутазы личинок рыб *Atherina hepsetus* на станциях 3 и 6, существенное увеличение в этих зонах процессов перекисного окисления липидов, а также значительное снижение активности глутатионпероксидазы свидетельствуют о неблагоприятной экологической ситуации на станциях 3 и 6.

Настоящая работа выполнена по гранту INTAS-96-1961. Автор выражает благодарность с. н. с. А. Д. Гординой за консультативную помощь.

1. Колупаев В. И., Путинцева В. А. Активность дыхательных ферментов рыб в токсической среде // Гидробиол. журн. - 1986. - 22, 2. - С. 66-68.
2. Кравец В. Н., Моница Т. Л. Состояние загрязнения вод Севастопольской бухты и Южного берега Крыма в 1992 - 1996 гг. / Диагноз состояния экосистемы Черного моря и зоны сопряжения суши и моря. - "Экоси" - Гидрофизика, 1997. - С. 55-56.
3. Кучеренко Н. Е., Васильев А. Н. Липиды. - Киев: Вища школа. - 1985. - 247 с.
4. Куфтаркова Е. А., Ковригина Н. П., Родионова Н. Ю. Гидрохимический режим района, прилегающего к бухте Омега и факторы, его формирующие / Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. - Севастополь, 1999. - С. 175-192.
5. Пересленина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабор. дело. - 1989. - 11. - С. 20-22.
6. Фридович И. Биологическая роль супероксиддисмутазы / Свободные радикалы в биологии. - М.: Мир, 1979. - С. 300-308.
7. Шахматова О. А. Активность каталазы личинок рыб как показатель качества морской среды. // Экология моря. - 2000. - Вып. 51. - С. 52-54.
8. Di-Giulio R.T. Indices of oxidative stress as biomarkers for environmental contamination // Aquatic toxicology and risk assessment: fourteenth volume. - 1991. - P. 15-31.
9. Livingstone D.R., Archibald S., Chipman J.K. et al. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda limanda* from the North Sea // Mar. Ecol. Prog. Ser. - 1992. - 91, № 1-3. - P. 97-104.
10. Livingstone D.R., Lemaire P., Mattheuws A. et al. Pro-oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses in liver of dab (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemical // Mar. Pollut. Bull. - 1993. - 26, 11. - P. 602-606.
11. Nishikimi M., Rao N.A., Yagik K. The occurrence of superoxid anion in the reaction of reduced phenazine // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1972. - № 46. - P. 849-854.
12. Peters L.D., Porte C., Albaiges J. et al. 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and antioxidant enzyme activities in larvae of sardine (*Sardina pilchardus*) from the north coast in Spain // Mar. Pollut. Bull. - 1994. - 28, 5. - P. 299-304.
13. Sakava T.A., Matsushita S. Coloring conditions of tiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides // Lipids. - 1980. - 15, 3. - P. 137-140.
14. Winstone G.W., Di-Giulio R.T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // Aquat. Toxicol. - 1991. - 19, 2. - P. 137-161.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 16.05.2001

О. А. ШАХМАТОВА

ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITY OF FISH LARVAE AS AN INDICATOR OF MARINE ENVIRONMENT CONDITION

Summary

The enzymes activity of antioxidant system and lipid peroxidation of Black Sea *Atherina hepsetus* L. larvae were studied in the Sevastopol Bay in relation to different degree of anthropogenic influence. SOD-activity was increased from $9,51 \pm 1,13$ to $14,05 \pm 1,13$ mM NADH/(g tissue·min), GP-activity was decreased from $9,13 \pm 3,02$ to $0,95 \pm 0,08$ (g tissue·min), and POL was increased from $27,79 \pm 1,25$ to $167,38 \pm 43,90$ nM MDA/(g tissue·min) accordingly to the increase of pollution.