

УДК 577.152.1

**АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ ЧЕРНОМОРСКИХ БЫЧКОВ
(GOBIIDAE), ОБИТАЮЩИХ В БУХТАХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ
АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

Вахтина Т. Б.

В настоящее время экосистема Черного моря находится в состоянии хронического антропогенного воздействия. Что является следствием индустриализации, урбанизации прибрежных городов (таких как Одесса, Севастополь, Сочи и т. д.), очистные сооружения которых находятся в аварийном состоянии и требуют замены [1].

Огромный вклад в загрязнение Черного моря вносит судоходство (навигационное оборудование которого устарело и изнашивается), а также сельское хозяйство. В результате в водоеме оказываются большие количества нефтепродуктов, фенола, СПАВ, стойкие пестициды и тяжелые металлы. Многие из них, кроме первичного загрязнения, способны аккумулироваться, трансформироваться по трофической цепи, вызывая аномалии в развитии эмбрионов и личинок гидробионтов, снижение их жизнеспособности, развитие различных патологий и индукцию защитных молекулярных систем [2; 3].

Насыщение морской среды ксенобиотиками провоцирует окислительный стресс у морских организмов, приводящий к существенным нарушениям метаболизма и клеточным повреждениям. Неблагоприятные факторы среды способны усиливать интенсивность свободнорадикальных процессов, продукты которых токсичны для организма.

Но в ходе эволюции организмы выработали неспецифические системы защиты против стрессов. Одной из таких систем является антиоксидантная, включающая ряд ферментов и низкомолекулярных компонентов. По изменению параметров этой системы можно судить о состоянии организма, испытывающего на себе действие неблагоприятных факторов, а также интенсивность воздействия этих факторов.

Таким образом, целью настоящей работы является исследование активности некоторых антиоксидантных ферментов в крови бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1811), обитающего в трех севастопольских бухтах с разной степенью антропогенной нагрузки.

Материалы и методы

Объектом исследования служил бычок-кругляк (*Neogobius melanostomus*, P.) отловленный в трех севавтопольских бухтах: Карантинной, Мартыновой и Инкерманской (бухты расположены в порядке увеличения степени загрязненности) в период с лета 2001 года по 2002 год.

В гемолизатах определяли активность ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) – используя систему НАДФ-ФМС-НСТ, пероксидазы (Рх) – по реакции окисления бензидина, глутатионредуктазы (Гр) – по реакции разложения НАДФН, каталазы (Kat) по реакции разложения перекиси водорода в соответствии с описанными методами [4].

Активность глутатион-S-трансфераза (GST) определяли в смеси фосфатного буфера (0,1M, pH 6,5), восстановленного глутатиона и 1Cl,1,4,динитробензола по наличию конъюгата при длине волны 346 нм [5].

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены данные, предоставленные Государственной инспекцией охраны Черного моря, о количестве выбросов сточных вод и содержании в них наиболее опасных загрязнителей по трем севавтопольским бухтам (Карантинная, Мартынова, Инкерман).

Из таблицы видно, что наиболее загрязненной бухтой является Инкерман, в котором показатели практически по всем загрязнителям в несколько раз превышают таковые в бухтах Карантинной и Мартыновой. Это связано с тем, что только в акваторию Инкермана 17 предприятий сбрасывают свои сточные воды.

Таблица 1.

Экологическая характеристика бухт г. Севастополя
(Карантинная, Мартынова, Инкерман)

Наименование бухты	Кол-во выбросов сточных вод м ³ /сут	Нефтеуглеводороды мг/л	СПАВ мг/л	БПК ₅ мг/л	Взвеш. в-ва мг/л	Fe мг/л	NH ₃ ⁺ -N мг/л	NO ₃ мг/л
Карантинная	50	0,07 – 0,05	0,003	2,5	2,4	0,03	0,04	0,003
Мартынова	аварийный выпуск КНС №1	0,003 – 0,01	0,002	2,1	1,9	0,02	0,03	0,003
Инкерман	2000	0,21 – 0,14	0,006	3,5	3,6	0,09	0,05	0,003

Данные по загрязнению в этих трех бухтах использовались нами при описании результатов, полученных в опыте.

Из представленных в таблице 2 данных можно видеть, что активность СОД в

Таблица 2.
Активность ферментов (мг. белка в мин, $M \pm m$), бычка-кругляка в трех севастопольских бухтах (Карантинной, Мартыновой, Инкермане)

Ферменты	Бухты		
	б. Карантинная $M \pm m$	б. Мартынова $M \pm m$	б. Инкерман $M \pm m$
СОД, усл. ед.	19,3 ± 3,3	15,2 ± 6,42	72,8 ± 12,5
Каталаза, мг H ₂ O ₂	0,48 ± 0,046	0,42 ± 0,04	1,8 ± 0,5
Пероксидаза, опт. ед.	10,3 ± 0,89	13,8 ± 2,06	3,8 ± 0,78
Глутатионредуктаза, н моль НАДФН	3,1 ± 0,78	3,5 ± 0,95	25,6 ± 5,23
Глутатион-S-трансфераза	15,3 ± 3,8	18,95 ± 3,34	181,3 ± 50,22

крови бычка из Карантинной и Мартыновой бухт не имеет достоверных различий, тогда как у рыб из Инкермана этот показатель почти в 4 раза выше ($p < 0,01$).

Такая же ситуация отмечена для каталазы и глутатионредуктазы. В последнем случае активность ферментов в крови бычков из Инкермана в 8 раз выше по отношению к соответствующим показателям рыб из Мартыновой и Карантинной бухт ($p < 0,001$).

Активность пероксидазы достоверно ниже в крови рыб из Инкермана ($p < 0,001$).

Активность глутатион-S-трансферазы (GST) почти в 11 раз выше у бычков из Инкермана, различия достоверны ($p < 0,001$). Таким образом, совершенно четко отмечена тенденция увеличения активности антиоксидантных ферментов (за исключением пероксидазы) в крови бычков, обитающих в Инкермане, характеризующемся ранее (таблица 1) как акватория с наибольшей степенью загрязнения. Здесь сложилась крайне неблагоприятная экологическая ситуация, вызывающая токсический стресс у ее обитателей, в том числе и у бычков. Это, в свою очередь, индуцирует защитные системы организма, такие как антиоксидантную и систему конъюгации. Совершенно четко прослеживающееся увеличение активности основных антиоксидантных ферментов в крови рыб загрязненных районов согласуется с работами других авторов [6; 7; 8].

Наиболее чувствительными ферментами в крови бычков к загрязнению является СОД, каталаза, глутатионредуктаза. Особенно следует отметить снижение активности такого антиоксидантного фермента, как пероксидаза, основной функцией которого является разложение органических перекисей. Ингибирование его может свидетельствовать о накоплении токсических соединений в организме рыб. Четко выраженное увеличение активности глутатион-S-трансферазы, основной функцией которой является конъюгация чужеродных веществ, связано со значительным увеличением в этой акватории (Инкерман) ароматических углеводов (нефтяное загрязнение).

Таким образом, данные ферменты могут характеризовать состояние токсического стресса у рыб и служить биомаркерами для оценки среды их обитания.

Выводы

1. Активность антиоксидантных ферментов (за исключением пероксидазы) наиболее высока в крови бычка, отловленного в Инкермане (акватории с наибольшей антропогенной нагрузкой) по сравнению с менее загрязненными бухтами (Карантинной и Мартыновой).

2. Активность глутатион-S-трансферазы в 11 раз выше в крови бычков из Инкермана, что может свидетельствовать об интенсификации процессов конъюгации ароматических углеводов.

3. Ферменты антиоксидантной системы и глутатион-S-трансфераза может служить молекулярными биомаркерами загрязнения и применяться в мониторинге.

Список литературы

1. Щипцов А. А., Иванов Л. М., Марголина Т. М. Риск – анализ техногенных катастроф в Азово-Черноморском бассейне: общий подход, оптимальное управление, приложение к нефтяным загрязнениям // Доп. НАН Украины. – 1999. – № 1. – С. 203 – 209.
2. Горбачева Л. Т., Исаева Л. Н., Даглин Е. В., Чихаев В. П. Влияние антропогенного загрязнения на результаты искусственного разведения осетровых рыб // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна. – Ростов на Дону: Полиграф, 1996. Сб. науч. тр. – С. 290 – 297.
3. Руднева И. И., Чесалина Т. Л., Кузьминова Н. С. Ответные реакции молоди черноморской кефали на загрязнение мазутом // Экология моря. – 2000. – № 4. – С. 304 – 306.
4. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабор. дело. – № 11. – С. 20 – 23.
5. Rudneva I. I. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts/ *Comp. Biochem Physiol* 1997; 118(c): 255 – 260.
6. Parke D. V. Molecular mechanisms of chemical toxicity. // *Polish. of Occupational Medicine.* – 1988. – V. 1. № 1. – P. 18 – 38.
7. Stegeman J. J., Klopffer-Sams P. J., Farrington J. W. Monooxygenase induction and chlorobiphenyls in the deep – see fish *Coryphaenoides armatus* // *Reprint Series science.* – 1986. – V. 231. – P. 1287 – 1289.
8. Stegeman J. J., Klopffer-Sams P. J. Cytochrome P – 450 isozymes and monooxygenase activity in aquatic animals // *Environ. Health Perspectives.* – 1987. – V. 71. – P. 87 – 89.

Поступила в редакцию 26.03.2003 г.