

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИ МОНИТОРИНГЕ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ

Н.С.Кузьмина*, Е.Н.Скуратовская*,
Т.Б.Вахтина*, С.О.Омельченко**

*Институт биологии южных морей
НАН Украины
г. Севастополь, пр. Нахимова, 2
E-mail: kunast@rambler.ru

** Государственное предприятие «Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации»
г. Симферополь, ул. Крымская правда, 61

В работе приведены результаты анализа химических и микробиологических данных морской воды бухт Карантинной и Мартыновой г. Севастополя. Исследована активность антиоксидантных ферментов морского ерша, бычка-кругляка, личинок атерины, ульвы, медуз, мидий этих бухт в районах близких и удаленных от источников загрязнения. Дана оценка состояния бухт и предложены рекомендации по использованию молекулярных биомаркеров для целей биологического мониторинга.

Введение. В последние десятилетия наибольший вред здоровью Мирового океана наносит мультифакторное действие загрязняющих веществ, содержащихся в сточных водах различного происхождения. Эта ситуация характерна и для Черноморского региона, в прибрежную зону которого ежегодно поступает 570 млн. м³ стоков [1]. Анализ ксенобиотиков в морской воде и грунтах не позволяет дать полного представления о пригодности среды обитания для гидробионтов. В связи с этим в настоящее время используют комплекс параметров, характеризующих ответные реакции организмов на действие повышенных концентраций токсикантов. Известно, что действие химических токсикантов в первую очередь отражается на изменении молекулярных показателей, что выражается в развитии реакций «окислительного стресса». Это приводит к индукции свободнорадикальных процессов, усилению перекисного окисления липидов, следствием чего является нарушение структуры ДНК и мембран, энергетического метаболизма, ингибиро-

вание синтеза АТФ и катионного АТФ-насоса [2]. Однако, у организмов существует система детоксикации ксенобиотиков, включающая фазы биотрансформации и конъюгации [3]. Поэтому использование в биологическом мониторинге молекулярных показателей функционирования морских гидробионтов является весьма перспективным и важным направлением исследований.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния общего загрязнения двух бухт Севастополя (Карантинной и Мартыновой) на антиоксидантную систему морских гидробионтов, обитающих на отдаленном и близком расстоянии от источников выпуска сточных вод.

Материалы и методы. Данные о химическом составе морской воды бухт Карантинной, Мартыновой и района сброса сточных вод предоставлены Севастопольским отделением инспекции по охране Черного и Азовского морей. Микробиологические исследования морской воды проведены на базе Государственного предприятия «Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации» в соответствии со стандартными методами [4].

Объектами исследований явились бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas), скорпена *Scorpaena porcus* (L.), ульва *Ulva rigida* (Ag.), медузы *Aurelia aurita* (N.), мидии *Mytilus galloprovincialis* (L.) и личинки атерины *Atherina mochon pontica* (Eich.). У данных объектов анализировали активность следующих антиоксидантных ферментов: каталазы, пероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы (GST) в соответствии с методами, изложенными ранее [3]. Биохимические анализы крови взрослых рыб, были проведены на экземплярах, пойманных в донных ставниках в течение 2003 года. Бычок-кругляк и морской ерш были взяты как объекты, обитающие в бухтах Карантинной и Мартыновой вдали от непосредственного выпуска сточных вод, а образцы от 3-х и более экземпляров ульвы, медуз, мидий и личинок атерины были собраны в зоне наибольшего влияния выпусков сточных вод в обеих бухтах (рис. 1). Все полученные результаты обрабатывали статистически, используя t-критерий Стьюдента, при уровне значимости $p \leq 0,05$ [5].

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, средние показатели содержания химических веществ в воде бухт Карантинной

и Мартыновой отличаются незначительно. Превышение ПДК наблюдается только по показателю «взвешенные вещества».

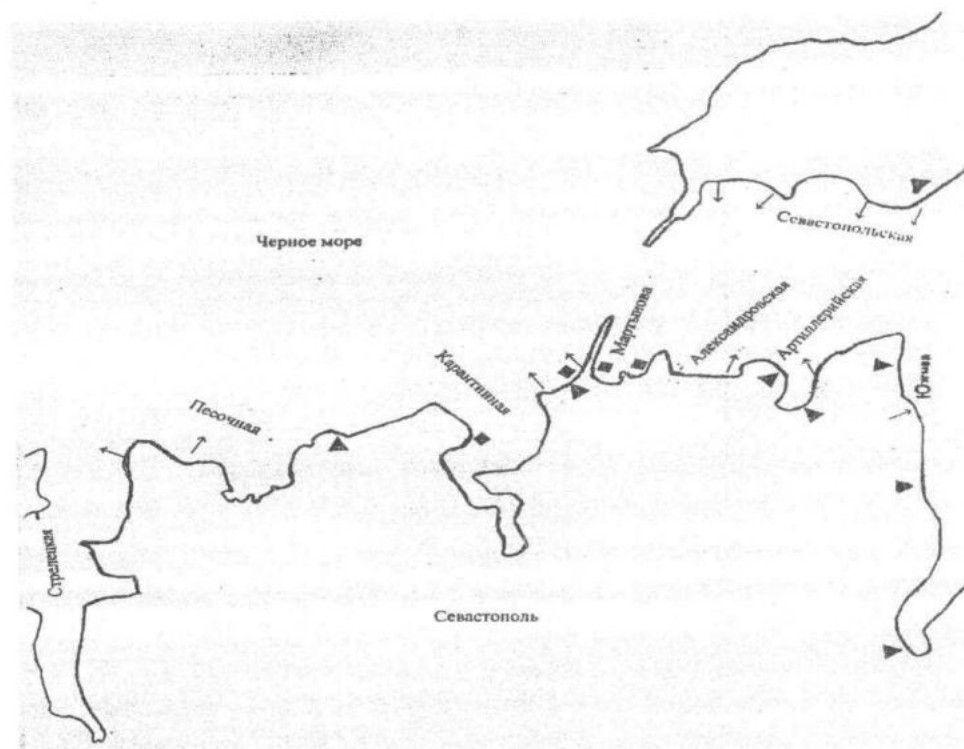


Рис. 1 - Расположение бухт г. Севастополя: ■ - точки отбора гидробионтов; ▲ - ливневой сток; → - выпуски хозяйственно-бытовых сточных вод

Микробиологическое загрязнение отмечено для всех бухт по показателям «БГКП», «свежие фекальные загрязнения» и «МА-ФАМ» (табл. 2). В бухте Карантинной, в районе, удаленном от источников загрязнения, БГКП выше такового в б. Мартыновой более чем в 2,5 раза и больше нормы в 198 раз. В районе аварийного сброса сточных вод городского коллектора БГКП превышает ПДК почти в 367 раз. По показателю «микробное число» бухта Мартынова загрязнена сильнее, чем бухта Карантинная, а в районе аварийного сброса городских сточных вод этот показатель выше нормы более, чем в 9 раз. В табл. 3 представлены данные активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови бычка кругляка, обитающего в двух бухтах г. Севастополя. Активность каталазы и пероксидазы в крови бычка из б. Мартыновой была выше, в то время как активность ключевого фермента детоксикации – СОД, ГР и GST, уча-

ствующие в конъюгации и выносе из клетки токсичных гидро и органических перекисей – ниже, чем таковые показатели у животных из б. Карантинной. Достоверных отличий между активностью исследуемых ферментов в крови бычка из двух бухт обнаружено не было. Анализ активности антиоксидантных ферментов морского ерша показал, что активность СОД, GST, каталазы и пероксидазы была выше у рыб, отловленных в Карантинной бухте. При исследовании гидробионтов прибрежной зоны бухт с наибольшей степенью влияния стоков (рис. 1), нами было установлено, что вблизи выпуска в б. Карантинной активность антиоксидантных ферментов у ульвы и медузы ниже, чем аналогичные показатели у этих объектов из б. Мартыновой. Активность GST у медуз из двух бухт имеет сходные значения. Согласно данным табл. 3 видно, что в бухте Карантинной активность каталазы, пероксидазы и ГР у мидий выше,

Таблица 1 - Химические показатели воды Карантинной и Мартыновой бухт (в мг/л)

Район	Взвеш. в-ва	БПК ₅	NH ₄	NO ₃	NO ₂	Fe	н/п	СПАВ	Фенолы
ПДК	1.75	2	0.5	10	0.08	0.05	0.1	0.1	0.001
Бухта Карантинная	2	1	0.02	н.о.	0.001	0.03	0.04	0.002	н.о.
Бухта Мартынова (мыс Константиновский)	3	2	0.03	н.о.	0.002	0.04	0.03	0.001	н.о.

Таблица 2 - Микробиологические показатели воды Карантинной и Мартыновой бухт

Район	БГКП, Коли индекс	Свежие фекальные загрязнения на лактозе	Salmonella	МАФАМ	Бляшкообразующие единицы
Бухта Карантинная	Выявлена E.colli 594	Выявлена	Не выявлена	375	Не выявлена
Бухта Мартынова	выявлена E.colli 234	Выявлена	Не выявлена	500	Не выявлена
Район выпуска сточных вод	выявлена E.colli более 1100	Выявлена	Не выявлена	910	Не выявлена
ПДК	БГКП в 100 см³ - Менее 3	Не допускается	Не допускается	100	100

Примечание: БГКП – бактерии группы кишечной палочки (E. coli); стафилококк - St. aureus; сальмонелла - Salmonella; МАФАМ – мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы (общее микробное число)

чем у особей из б. Мартыновой. Интересно отметить, что у *M. galloprovincialis* активность СОД и GST превышает таковые показатели в Карантинной бухте. У личинок атерины, выловленных в районе непосредственного действия выбросов нечистот, в б. Карантинной, значения активности каталазы, ГР выше, в то время как у особей из б. Мартыновой происходит большая активизация СОД и пероксидазы.

В результате проведенных биохимических исследований можно сказать, что в зоне наибольшего загрязнения, б. Карантинной (см. табл. 1), у бычка-кругляка повышается активность СОД, ГР и GST, у скорпены - СОД, каталазы и GST. Важно отметить, что в этом случае активность ключевого фермента детоксикации СОД в крови как бычка, так и скорпены выше почти в два раза. Активность СОД в эритроцитах бычка-кругляка в период 2001 – 2002 г. также была выше у рыб из б. Карантинной, чем у рыб из Мартыновой бухты, хотя активность каталазы, пероксидазы, ГР и GST, наоборот, была выше у экземпляров из б. Мартыновой [6]. За период 2000 – 2002 г. в

крови морского ерша, обитающего в б. Мартыновой активность СОД, ГР и GST значительно превышала аналогичные показатели скорпены из б. Карантинной, но при этом значения активности СОД и GST оказались выше по сравнению с результатами, полученными для чистого района (б. Омега) [7]. Есть данные и о значительном повышении активности СОД в крови скорпены, обитающей в таких загрязненных бухтах г. Севастополя как Стрелецкая и Севастопольская уже в 1998 году [8].

На основании наших исследований можно заключить, что в условиях прибрежья в районах непосредственной близости к источнику загрязнения исследованные гидробионты испытывают наибольший антропогенный прессинг, который стимулирует, в большинстве случаев, повышение активности антиоксидантных ферментов у гидробионтов б. Мартыновой. Значительное же снижение активности ферментов у объектов из б. Карантинной объясняется тем, что в условиях хронического загрязнения, особенно в зоне прибрежья, у ульвы, медуз, мидий и молоди атерины, вероятно, проис-

в содержании антиоксидантов [3]. Активность антиоксидантных ферментов личинок атерины *Atherina hepsetus* L. зависела от уровня загрязнения мест обитания [21], кроме этого у особей из более загрязненных бухт значения теплопродукции были ниже, чем у рыб из чистого района [22]. Микрокалориметрические исследования воздействия ПХБ на личинок бычка-кругляка и атерины показали снижение теплопродукции особей, подвергнутых 0,1 и 1 нг/л ПХБ по сравнению с интактными особями [23].

Таким образом, в результате проведенных исследований можно отметить, что при мониторинге морских акваторий изучение ответных реакций организмов с помощью параметров антиоксидантной системы является весьма перспективным. Наиболее выраженный отклик на негативное воздействие среды обитания имеет фермент СОД. Использование этого биомаркера позволяет выявить даже незначительные отличия в условиях сред обитания. Применение в подобных работах анализа активности фермента GST, как оказалось, не только позволяет отразить работу второго этапа детоксикации токсичных веществ, но, согласно литературным данным, активизация его является показателем наличия в акваториях повышенных концентраций ПХБ и/или нефтесоставляющих. На основании этого и руководствуясь данными о химическом составе морской воды, можно предположить, что в бухтах Карантинной, даже в зоне, удаленной от непосредственного выпуска сточных вод, в морской воде имеются токсичные вещества. Ингибирование активности антиоксидантных ферментов ульвы *Ulva rigida* и медузы *Aurelia aurita*, обитающих вблизи действующих выпусков нечистот в б. Карантинной, подтверждает не только неблагоприятную обстановку района, но и свидетельствует о том, что в условиях хронического загрязнения состояние защитной системы морских организмов ослаблено. У более высокоорганизованных организмов (мидии и личинки рыб) наблюдается та же тенденция, хотя в условиях большего загрязнения ферменты каталаза и ГР продолжают напряженно функционировать. На основании вышеприведенных исследований установлено, что по химическим и микробиологическим показателям воды, а также по активности ферментов антиоксидантной системы морского ерша

Scorpaena porcus (L.), бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (P.), личинок атерины *Atherina mochon pontica* (Eich.), ульвы *Ulva rigida* (Ag.), медуз *Aurelia aurita* (N.), мидий *Mytilus galloprovincialis* (L.) бухта Карантинная является более загрязненной, чем б. Мартынова, при этом в зонах, близких к выпускам сточных ливневых и хозяйственно-бытовых вод, морская вода неблагоприятна не только для исследованных объектов, но и для человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ragaini R.C. Environmental security issues in Black Sea region. UCRL - AR - 132297. Lawrence Livermore National Laboratory University of California 945551, January, 1999. - 26 p.
2. Parke D.V. Molecular mechanisms of chemical toxicity. Polish J. of Occupational Medicine, - 1988. - vol. 1. - № 1. - P. 18 - 38.
3. Руднева И.И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря. Диссерт. докт. биол. наук. М.: МГУ, 2000. - 357 с.
4. Методические указания по санитарно-биологическому анализу воды поверхностных водоемов №2285 - 81, от 19 января 1981 г., утверждено Санстанцией спецназначения в Крыму.
5. Лакин Р.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
6. Вахтина Т.Б. Активность ферментов крови черноморских бычков (*Gobidae*), обитающих в бухтах с разным уровнем антропогенной нагрузки. Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского, - 2003. - Т. 16 [55]. - № 2, Биология. - С. 35 - 38.
7. Скуратовская Е.Н., Ответные реакции антиоксидантных ферментов морского ерша (*Scorpaena porcus* L.) на антропогенное загрязнение. Там же, - С. 175 - 178.
8. Овен Л.С., Руднева И.И., Шевченко Н.Ф. Ответные реакции морского ерша *Scorpaena porcus* (*Scorpaenidae*) на антропогенное воздействие. Вопросы ихтиологии, - 2000. - Т. 40. - № 1. - С. 75 - 78.
9. Buckley J.A., Whitmore C.M., Matsuda R.I. Changes in blood chemistry and blood cell morphology in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) following exposure to sublethal levels of total residual chlorine in municipal wastewater. J. Fish Res. Board Can., 1976.

9. Buckley J.A., Whitmore C.M., Matsuda R.I. Changes in blood chemistry and blood cell morphology in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) following exposure to sublethal levels of total residual chlorine in municipal wastewater. *J. Fish Res. Board Can.*, - 1976. - vol. 33. - № 4. - Pt. 1. - P. 776 - 782.
10. Buckley J.A. Acute toxicity of residual chlorine in wastewater to coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and some resultant hematologic changes. *J. Fish Res. Board Can.*, - 1976. - vol. 33. - № 12. - P. 2854 - 2856.
11. Buckley J.A. Heinz body hemolytic anemia in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated wastewater. *J. Fish Res. Board Can.*, - 1977. - vol. 34. - № 2. - P. 215 - 224.
12. Adham K., Khaivalla A., Abu-Snabame M., Abdel-Maguid M., Abdel-Moneim A. Environmental stress in lake Marynt and physiological response of *Tilapia zillii* Gerv. *J. Environ. Science and Health*, - 1997. - Part A. - vol. 32 A. - № 9 - 10. - P. 2585 - 2598.
13. Mourad M.H. Acute and chronic effects of East and West treatment plants effluents on *Tilapia zillii* Gerv. *Bull. Natl. Inst. Oceanogr. Fish Egypt*, - 1994. - vol. 20. - № 2. - P. 223 - 228.
14. Stien X., Percic P., Gnassia Barelli M., Romeo M., Lafaurie M. 1998. Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to asses the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. *Environ. Pollut.*, - 1998. - vol. 99. - № 3. - P. 339 - 345.
15. Калугина-Гутник А.А. Развитие фитобентосных исследований на Черном море. Морские биологические исследования. Севастополь, - 1994. - С. 65 - 80.
16. Морозова-Водяницкая Н.В. Материалы к санитарно-биологическому анализу морских вод. Работы Новороссийской станции им. В.М. Арнольди, - 1930. - № 4. - С. 163 - 183.
17. Viarengo A. Molecular mechanism of heavy metal cytotoxicity in marine organisms. *Mar. Environ. Res.*, - 1989. - vol. 28. - № 1 - 4. - P. 298.
18. Wenning R.J., Di Guilio R.T. The effects of paraquat on microsomal oxygen reduction and antioxidant defences in ribbed mussels (*Glukensia demissa*) and wedge clams (*Rongia aurata*). *Mar. Environ. Res.*, - 1988. - vol. 29. - № 1 - 4. - P. 301 - 305.
19. Di Guilio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J., Winston G.W., Jewell C.S. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determination of oxidative stress. *Environ. Toxicol and Chem.*, - 1989. - vol. 8. - P. 1103 - 1123.
20. Boryslawski A.M., Garrod A.C., Reardon J.T., Woodhead D. Elevation of glutathione-S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds, in the fresh water mussel, *Sphaerium corneum*. *Mar. Environ. Res.*, - 1988. - vol. 24. - P. 100 - 104.
21. Руднева И.И., Залевская И.Н. Личинки атерины (*Atherina hepsetus* L.) как биоиндикатор загрязнения прибрежных акваторий Черного моря. Вопросы ихтиологии, - 2004. - № 2. - С. 107 - 112.
22. Руднева И.И., Чесалина Т.Л., Шайда В.Г., Шевченко Н.Ф. Морфология и энергетический обмен личинок атерины (*Atherina hepsetus* L.), обитающих в районах с различным уровнем загрязнения. Экология моря, - 1998. - вып. 47. - С. 33 - 36.
23. Руднева И.И., Шайда В.Г. Микрокалориметрические исследования действия ПХБ на ранние онтогенетические стадии развития гидробионтов. Микрокалориметрические исследования в морской биологии, - Севастополь, - 2000. - С. 149 - 156.