

- Al-Sharif W.Z., Sunyer J.O., Lambris J.D., Smith L.C., 1998. Sea urchin coelomocytes specifically express a homologue of the complement component C3 // *J. Immunol.* V. 160. P. 2983–2997.
- Clow L.A., Gross P.S., Shih C., Smith L.C., 2000. Expression of SpC3, the sea urchin complement component, in response to lipopolysaccharide // *Immunogenetics.* V. 51. P. 1021–1033.
- Clow L.A., Raftos D.A., Gross P.S., Smith L.C., 2004 The sea urchin complement homologue, SpC3, functions as an opsonin // *J. Exp. Biol.* V. 207 (12). P. 2147–2155.
- Colten H.R., Strunk R.C., Perlmutter D., Cole F.S., 1986. Regulation of complement protein biosynthesis in mononuclear phagocytes // *Ciba Found Symp.* V. 118. P. 141–154.
- Ghannam A., Pernollet M., Fauquert J.L., Monnier N., Ponard D., Villiers M.B., Péguet-Navarro J., Tridon A., Lunardi J., Gerlier D., Drouet C., 2008. Human C3 deficiency associated with impairments in dendritic cell differentiation, memory B cells, and regulatory T cells // *J. Immunol.* V. 181 (7). P. 5158–5166.
- Hibino T., Loza-Coll M., Messier C., Majeske A.J., Cohen A.H., Terwilliger D.P., Buckley K.M., Brockton V., Nair S.V., Berney K., Fugmann S.D., Anderson M.K., Pancer Z., Cameron R.A., Smith L.C., Rast J.P., 2006. The immune gene repertoire encoded in the purple sea urchin genome // *Dev. Biol.* V. 300. P. 349–365.
- Nonaka M., Azumi K., Ji X., Namikawa-Yamada C., Sasaki M., Saiga H., Dodds A.W., Sekine H., Homma M.K., Matsushita M., Endo Y., Fujita T., 1999. Opsonic complement component C3 in the solitary ascidian, *Halocynthia roretzi* // *J. Immunol.* V. 162. P. 387–391.
- Pancer Z., Cooper M.D., 2006. The evolution of adaptive immunity // *Annu. Rev. Immunol.* V. 24. P. 497–518.
- Reis E.S., Barbuto J.A., Köhl J., Isaac L., 2008. Impaired dendritic cell differentiation and maturation in the absence of C3 // *Mol. Immunol.* V. 45 (7). P. 1952–1962.
- Villiers C.L., Cretin F., Lefebvre N., Marche P.N., Villiers M.B., 2008. A new role for complement C3: regulation of antigen processing through an inhibitory activity // *Mol. Immunol.* V. 45 (13). P. 3509–3516.
- Walport M.J., 2001. Advances in immunology: complement (first of two part) // *N. Engl. J. Med.* V. 344. P. 1058–1066.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ И ЖАБР ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA L.*) ИЗ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В КАЧЕСТВЕ БИОИНДИКАТОРА ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫМИ БИФЕНИЛАМИ

А.А. Морозов¹, Г.М. Чуйко¹, Е.С. Бродский²

¹Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок Ярославской обл., Россия

²Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва
e-mail: morozov@ibiw.yaroslavl.ru

Введение

Одной из приоритетных групп загрязнителей водной среды являются полихлорированные бифенилы (ПХБ). Они способны аккумулироваться в тканях рыб, находиться в них длительное время и изменять ход важнейших процессов жизнедеятельности. В то же время, рыба, являясь одним из последних звеньев в пищевых цепях водных биоценозов, обладает способностью концентрировать многие токсические метаболиты, представляет собой угрозу здоровью человека при ее потреблении в пищу.

При мониторинге водных экосистем необходим индивидуальный анализ химических компонентов не только в окружающей среде, но также в тканях животных и растений. Это объясняет возрастающий интерес к изучению реакции обитателей экосистем на антропогенное воздействие. Интегральная оценка здоровья рыб может служить обобщенным показателем состояния всего водного сообщества, в том числе экологического благополучия или неблагополучия водоема. При этом необходимо проводить исследования на различных уровнях организации живых систем. Изменения на молекулярном и мембранном уровнях могут служить сигналом к далеко идущим последствиям для данного вида организмов задолго до того, как наступят необратимые изменения в численности, биологической продуктивности, ареале распространения вида и т.п.

За последние десятилетия накопился обширный материал о реакции рыб на химическое загрязнение. Растущий уровень антропогенного воздействия на природные популяции рыб остро ставит проблему их адаптивных возможностей. В этой связи особую важность представляет изучение наиболее чувствительных и быстро реагирующих систем организма. В число последних входит сис-

тема антиоксидантной (АО) защиты [Гостюхина, 2008; Довженко, 2006; Магомедгаджиева, 2002; Руднева, 2003; Di Giulio et al, 1995; Møller et al, 1996].

Рыбинское водохранилище – одно из крупнейших в Волжской системе водохранилищ. Ранее была показана пространственная неравномерность загрязнения экосистемы водохранилища веществами антропогенного происхождения, в том числе и ПХБ. Было установлено, что основным локальным источником химического загрязнения водохранилища является Череповецкий индустриальный комплекс. Наиболее загрязненным районом водохранилища является участок Шекснинского плеса от г. Череповца и на протяжении 40–50 км ниже его по течению вдоль бывшего русла р. Шексны. Наиболее чистый район – Моложский плес [Козловская и др., 1997; Флеров и др., 2000; Чуйко и др., 2008]. В связи с этим возникает необходимость сравнительной оценки состояния здоровья рыб, из районов водохранилища, с различной степенью загрязненности.

Цель работы – сопоставить величины показателей АО системы и процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени и жабрах леща из Рыбинского водохранилища с уровнем накопления общего количества ПХБ, а также отдельных групп конгенов, в печени леща для оценки состояния здоровья рыб.

Материалы и методы

Объектом исследования служил лещ *Abramis brama* L. обоего пола, со средними значениями длины и массы тела 35 см и 809 г соответственно. Вылов производился траловым методом в конце июля 2008 г. на 2-х станциях Рыбинского водохранилища: Любец и Первомайка (рис.). После отлова и проведения биоанализа у рыб выделяли печень и жабры, и хранили их при -18°C до последующего анализа.



Расположение станций отбора проб

Определение качественного состава и содержания ПХБ в рыбе проводилось в Лаборатории аналитической экотоксикологии ИПЭЭ РАН методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения в собственной модификации [Шелепчиков и др., 2008].

Исследования по определению содержания и активности продуктов ПОЛ и компонентов АО системы проводились в Лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН. Перед анализом печень и жабры промывали холодным 0,1 М фосфатным буфером с pH 7,5. Затем гомогенизировали тефлоновым пестиком в стеклянном гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма с электроприводом. В цельном гомогенате определяли: содержание малонового диальдегида (МДА) [Владимиров и др., 1972], восстановленного глутатиона (GSH) [Moron et al, 1979] и активность каталазы (К.Ф.1.11.1.6) [Королюк и др., 1988]. В супернатантах измеряли: активность супероксиддисмутазы (СОД, К.Ф.1.15.1.1) [Чевари и др., 1985]; конъюгирующую активность глутатион-S-трансферазы (GST, К.Ф.2.5.1.18) [Habig et al, 1974]. Содержание белка определяли по методу [Bradford, 1976]. Определение биохимических показателей проводилось на спектрофотометре Lambda 25 (Perkin Elmer, США). Каждую пробу измеряли дважды.

Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm SE$). Достоверность различий оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-test, $p=0.05$). Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6,0 и MS Excel 2003.

Результаты и обсуждение

Выбор станций обусловлен многолетними исследованиями ряда авторов [Козловская и др., 1997; Флеров и др., 2000; Чуйко и др., 2008]. Станция Любец находится в зоне хронического локального антропогенного загрязнения, тогда как станция Первомайка – в относительно чистом районе Моложского плеса. При сопоставлении полученных данных о содержании ПХБ в печени рыб, обнаружилось многократные различия между исследованными станциями. Эти различия относятся как к общему содержанию ПХБ, так и к содержанию отдельных групп конгенов (табл. 1).

Таблица 1

Показатели общего содержания и отдельных групп конгенов (по степени хлорированности) ПХБ в печени леща из разных районов Рыбинского водохранилища

Станция	N	Содержание ПХБ, нг/г липидов					
		Общее	ДиХБ	ТриХБ	ТетраХБ	ПентаХБ	ГексаХБ
Любец	7	1501,7	1,995	65,9	567,2	2885,4	1871,2
Первомайка	10	204,6	1,803	17,7	63,1	81,8	32,4

Примечание: N – количество исследованных особей.

Основной вклад в общее содержание ПХБ в печени рыб на обеих исследованных станциях вносит группа пентахлорированных бифенилов. Однако, наряду с этой группой конгенов, весомая доля от общего количества ПХБ в печени леща на станции Любец приходится на гексахлорированные бифенилы, а в печени леща на станции Первомайка – на тетрахлорированные бифенилы (табл. 2).

Таблица 2

Вклад отдельных групп конгенов ПХБ в общее содержание ПХБ в печени леща из разных районов Рыбинского водохранилища

Станция	Доля основных групп конгенов ПХБ в их общем содержании, %				
	ДиХБ	ТриХБ	ТетраХБ	ПентаХБ	ГексаХБ
Любец	0,04	1,16	9,95	50,61	32,82
Первомайка	0,88	8,64	30,83	40,00	15,85

Такой характер качественного и количественного содержания ПХБ указывает на разные источники их поступления в данные районы водохранилища. Загрязнение Шекснинского плеса носит локальный характер, а Моложского связано с глобальным трансграничным атмосферным переносом. В пользу этого свидетельствует и особый гидрологический режим водоема, не позволяющий

водам Шекснинского плеса попадать в Моложский плес (рис. 1). Смешение вод обоих плесов происходит только в Центральном плесе.

Сравнительный анализ данных по большинству исследованных биохимических параметров в печени показал достоверные различия между лещами, выловленными на исследованных станциях (табл. 3).

Таблица 3

Значения некоторых параметров биотрансформации ксенобиотиков, ПОЛ и АО системы в печени леща из разных районов Рыбинского водохранилища

Станция	N	Показатели				
		МДА, кмоль/мкг белка	GSH, пкмоль/мкг белка	ГСТ, нмоль/мкг белка в мин.	Каталаза, нмоль/мкг белка в мин.	СОД, $\Delta E \times 10^{-6}$ /мкг белка в мин.
Любец	7	$0,601 \pm 0,130^2$	$9,51 \pm 0,69^1$	$1,03 \pm 0,12^1$	$25,4 \pm 1,9^1$	$11,0 \pm 1,4^1$
Первомайка	10	$0,311 \pm 0,055^1$	$9,48 \pm 1,00^1$	$3,39 \pm 0,18^2$	$37,6 \pm 2,6^2$	$22,6 \pm 1,2^2$

Примечание: N – количество исследованных особей. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого параметра АОС, достоверно отличаются (ANOVA, LSD тест, $p=0,05$).

У лещей, выловленных на станции Любец, содержание МДА в печени почти в 2 раза больше, чем на станции Первомайка. Вместе с тем у них, относительно лещей со станции Первомайка, наблюдается низкий уровень GSH и слабая активность ГСТ, каталазы и СОД (табл. 3). С одной стороны, это указывает на высокую интенсивность образования АФК в печени рыб и, как результат, усиление процессов ПОЛ. С другой стороны, свидетельствует о подавленном функциональном состоянии АОС и ее неспособности успешно нейтрализовать АФК.

Лещи, выловленные на станции Первомайка, наряду с низким содержанием МДА и GSH характеризуются высокой активностью АО ферментов. В совокупности это позволяет говорить об активном функциональном состоянии АОС и, как результат, низком уровне АФК в печени этих рыб.

Сравнительный анализ величин биохимических показателей в жабрах рыб на исследованных станциях подтверждает данные, полученные при анализе печени лещей (табл. 4).

Таблица 4

Значения некоторых параметров биотрансформации ксенобиотиков, ПОЛ и АО системы в жабрах леща из разных районов Рыбинского водохранилища

Станция	N	Показатели				
		МДА, пкмоль/мкг белка	GSH, пкмоль/мкг белка	ГСТ, нмоль/мкг белка в мин.	Каталаза, нмоль/мкг белка в мин.	СОД, $\Delta E \times 10^{-6}$ /мкг белка в мин.
Любец	7	$3,09 \pm 0,92^1$	$1,08 \pm 0,53^1$	$0,08 \pm 0,03^1$	$12,4 \pm 2,60^1$	$23,4 \pm 4,35^1$
Первомайка	10	$2,89 \pm 0,81^1$	$1,09 \pm 0,63^1$	$1,80 \pm 0,48^2$	$17,5 \pm 6,73^1$	$32,0 \pm 6,64^2$

Примечание: N – количество исследованных особей. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого параметра АОС, достоверно отличаются (ANOVA, LSD тест, $p=0,05$).

Соответственно тому, что содержание МДА в жабрах лещей на станции Любец несколько превышает таковое у лещей на станции Первомайка, уровни большинства АО параметров в жабрах рыб на последней станции выше, чем на станции Любец.

При изучении АОС нельзя не учитывать тканевую специфику, связанную с конкретными физиологическими функциями исследуемых тканей, поскольку в разных тканях скорость процессов ПОЛ и активность ферментов АОС может различаться.

Продукты ПОЛ в печени образуются в меньшем количестве, чем в жабрах. При этом активность АОС печени отличается высокой эффективностью всех ее элементов. Полученные уровни активности каталазы и СОД свидетельствуют о том, что в клетках печени процессы ПОЛ протекают с высокой интенсивностью, а указанным ферментам принадлежит ключевая роль в АО защите данной ткани. Известно, что печень рыб принимает участие в процессах детоксикации, аккумуляции антигенов и выведения их из организма [Микряков и др., 2001]. Высокая эффективность работы каталазы и СОД реализуется в снижении количества АФК, на что указывает относительно невысокое содержание МДА.

АО профиль жабр характеризуется большим, чем в печени содержанием продуктов ПОЛ и гораздо меньшим количеством GSH. Такой профиль АОС в жабрах, видимо, обусловлен функцией дыхания и обмена кислородом между внешней и внутренней средой, которую они выполняют в организме рыб. По этой причине ткани жабр обладают высокой степенью насыщенности кровью, эритроциты которой имеют мощную собственную АОС. Видимо, основную нагрузку по АО защите в жабрах берет на себя АОС эритроцитов, где и генерируется основная часть АФК, как побочный продукт взаимодействия кислорода с гемоглобином. АОС ткани жабр в этом процессе может играть вспомогательную роль.

Анализ полученных данных позволяет предположить, что высокий уровень содержания МДА и низкая активность ферментов АОС в печени и жабрах леща из Любца обусловлены повышенным уровнем загрязнения этого района водохранилища.

Таким образом, при сопоставлении величин показателей АОС и ПОЛ в печени и жабрах леща из 2-х районов Рыбинского водохранилища с уровнем накопления общего количества ПХБ, а также отдельных групп конгенов, в печени леща, можно заключить, что лещ в районе Первомайки находится в более благоприятном состоянии, чем в районе Любца. Выявленные различия в состоянии АОС и ПОЛ в печени и жабрах леща на исследованных станциях хорошо соотносятся с данными о степени антропогенной нагрузки в этих районах водохранилища, что подтверждают результаты по содержанию ПХБ в печени этих рыб. Показатели АОС и ПОЛ можно использовать в качестве биомаркера для оценки состояния здоровья рыб.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 08-05-00805.

Литература

Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1972. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука. 242 с.

Гостюхина О.Л., 2008. Особенности антиоксидантного статуса тканей двустворчатого моллюска *Mytilus Galloprovincialis* Lam. в условиях окислительного стресса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Симферополь: Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. 25 с.

Довженко Н.В., 2006. Реакция антиоксидантной системы двустворчатых моллюсков на воздействие повреждающих факторов среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: ДВГУ МОН РФ. 23 с.

Козловская В.И., Герман А.А., 1997. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. Т. 24, № 5. С. 563–569.

Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е., 1988. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. № 1. С. 16–19.

Магомедгаджиева Д.Н., 2002. Токсическое воздействие среды на некоторые показатели липидного обмена и системы антиоксидантной защиты рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Махачкала: Институт прикладной экологии ДГУ. 23 с.

Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Силкина Н.И., 2001. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука. 126 с.

Руднева И.И., 2003. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов. // Усп. совр. биол. Т. 123, № 4. С. 391–400.

Флёров Б.А., Томилина И.И., Кливленд Л., Баканов А.И., Гапеева М.В., 2000. Комплексная оценка состояния донных отложений Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. №2. С. 148–155.

Чевари С., Чаба И., Секей Й., 1985. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. № 11. С. 678–681.

Чуйко Г.М., Законнов В.В., Герман А.В., Бродский Е.С., Шелепчиков А.А., Фешин Д.Б., Тиллитт Д.Э., 2008. Распределение полихлорированных бифенилов в экосистеме Рыбинского водохранилища при их локальном поступлении // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова. Владивосток: ТИНРО-центр. С. 680–685.

Шелепчиков А.А., Бродский Е.С., Фешин Д.Б., Жильников В.Г., 2008. Определение полихлорированных бифенилов и пестицидов в объектах окружающей среды и биоматериалах методом хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения // Масс-спектрометрия. Т.5, № 4. С.245–258.

Bradford M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding. // Anal. Biochem. V. 72. P. 248–254.

Di Giulio R.T., Benson W.H., Sanders B.M., Van Veld P.A., 1995. Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation, and toxicity / In: G.M. Rand (ed.) Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate, and risk assessment. Washington, D.C.: Taylor & Francis. Second edition. Ch. 17. P. 523–561.

Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B., 1974. Glutathion-s-transpherase: the first step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. V. 249. P. 7130–7139.

Møller P., Wallin H., Knudsen L.E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors // *Chemico-Biological Interactions*. 1996. V. 102. P. 17–36.

Moron M.S., Depierre J.W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione s-transferase activities in rat lung and liver // *Biochim. Biophys. Acta*, 1979. V. 582. P. 67–78.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОМЫСЛОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕЛОМОРСКИХ ФУКОИДОВ В ШХЕРНЫХ РАЙОНАХ ОНЕЖСКОГО ЗАЛИВА

О.Н. Мохова

Северный филиал ПИНРО, Архангельск, Россия
e-mail: mohova@sevpinro.ru

Острова Сумских и Кемских шхер относятся к категории промысловых районов для заготовки морских водорослей. Они расположены вдоль Поморского берега в западной части Онежского залива.

Сумские шхеры включают в себя острова, расположенные в прибрежье от д. Юково до мыса Тумище, Кемские шхеры занимают акваторию от Рабочеостровска до Мягреки.

Для определения современного состояния сырьевой базы фукусковых водорослей в этих районах в 2007 г. была обследована литоральная зона практически всех островов, составляющих указанные шхеры.

Работы выполнялись на НИС «Протей» согласно методическим рекомендациям СевПИНРО (Пронина и др. 2009).

Исследования показали, что одним из основных объектов для промысла являются фукоиды. Преобладают наиболее распространенные виды: это *Fucus vesiculosus* L. (*F. vesiculosus*) и *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis (*A. nodosum*).

По результатам исследований в районе Сумских шхер выделено три локальных участка с пригодными для организации промысла фукусowymi зарослями.

Первый участок включает побережье о. Сумостров. Промысловые скопления фукусowych водорослей расположены вдоль всего северного побережья. Здесь преобладают заросли с проективным покрытием дна водорослями от 30 до 60 %. На коргах отмечены единичные пятна зарослей с большей плотностью, проективное покрытие дна в них достигает 70 %.

Второй участок включает побережье островов Разостров и Седостров, где заросли фукоидов пятнистого характера сконцентрированы в северной части о. Разостров и в западной части о. Седостров. Проективное покрытие дна в зарослях варьирует в пределах от 30 до 70 %.

Третий участок – побережье материка с коргами и островками северо-западнее д. Юково. Заросли фукусowych водорослей расположены вдоль побережья от д. Юково до м. Медвежий и на корге севернее о. Юков. Проективное покрытие дна фукоидами изменяется от 30 до 70 %, на корге оно достигает 60–70%.

Первый и третий участок по промысловым характеристикам водорослей (биомасса, проективное покрытие дна и ширина зарослей) очень похожи (табл.1). Но, так как площади зарослей и запас различен, была рассчитана величина удельного запаса (отношение запаса к единице площади) с целью определения наиболее продуктивного участка для промысла. Показатель удельного запаса максимален в районе д. Юково, он составляет – 57,8 т/га, у о. Сумостров – 34,4 т/га, и, минимален в районе о-вов Разостров и Седостров – 23,1 т/га.

По результатам анализа видового состава водорослей на выделенных участках можно отметить, что на первом участке, практически во всех зарослях северо-западной и северной части о. Сумостров, доминирует *A. nodosum*, с восточной стороны острова наблюдается равнодоминантное соотношение *A. nodosum* и *F. vesiculosus*. В районе о. Разостров в зарослях фукоидов незначительно преобладает *F. vesiculosus* – процентное соотношение видов составляет 53 % к 47 %. В западной части о. Седостров отмечаются заросли со 100 %-ым доминированием *F. vesiculosus*, которые по направлению с юга на север постепенно переходят в равнодоминантное сообщество. Вдоль побережья д. Юково в более плотных скоплениях фукоидов преобладает *A. nodosum*, в наиболее разреженных зарослях наблюдается равнодоминантное соотношение обоих видов. На корге севернее о. Юков незначительно преобладает *F. vesiculosus*, его доля по отношению к *A. nodosum* составляет 60 %.