

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОТХОДОВ ЖЕЛЕЗОРУДНОГО ПРОИЗВОДСТВА НА СОСТОЯНИЕ МАССОВЫХ ВИДОВ РЫБ КОСТОМУКШСКОГО ХВОСТОХРАНИЛИЩА ПО АКТИВНОСТИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Р. У. Высоцкая, С. А. Такшеев, В. С. Скидченко

Учреждение Российской академии наук

Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия,

e-mail: gimma@bio.krc.karelia.ru

Введение

Реализация концепции устойчивого развития общества предполагает гармоничное сочетание интенсивной эксплуатации природных ресурсов с внедрением достижений технического прогресса и минимизации вреда, наносимого природе. Поверхностные воды суши среди природных объектов наиболее подвержены загрязнению, поскольку являются конечными коллекторами потока сточных вод и аэротехногенного загрязнения в региональном и глобальном масштабах (Моисеенко, 2009). Для своевременного выявления и прогнозирования развития негативных процессов, влияющих на качество вод, разработки и реализации мер по предотвращению этих процессов и оценки эффективности водоохраных мероприятий проводится мониторинг водных объектов. В Карелии одним из таких объектов, испытывающих значительную антропогенную нагрузку, является озерно-речная система Кенти – Кенто. Основным источником воздействия на водную систему р. Кенти являются техногенные воды Костомукшского горно-обогательного комбината по добыче и обогащению железорудного сырья (Лозовик и др., 2003). Верхнее озеро системы (оз. Костомукшское) преобразовано в хвостохранилище и используется для хранения отходов производства (хвостов обогащения) и оборотного водоснабжения предприятия. Особенностью техногенной воды хвостохранилища является высокая минерализация (с преобладанием ионов калия, сульфатов и гидрокарбонатов), аномальное соотношение щелочных и щелочноземельных катионов, щелочная среда и наличие мелкодисперсной взвеси. Из микроэлементов повышенное количество по сравнению с фоновыми значениями отмечается

для лития. В начальный период наблюдений содержание тяжелых металлов (Zn, Cu, Ni, Pb, Co, Cd, Cr) в воде хвостохранилища не превышало предельно допустимых уровней для рыбохозяйственных водоемов (Дубровина и др., 1995; Калинин и др., 2003; Такшеев, 2005). Такое преобразование слабоминерализованных гидрокарбонатно-кальциевых вод в сульфатно-калиевые повышенной минерализации вызвало существенные изменения состояния биоты озера Костомукшского и других нижележащих водоемов системы реки Кенти.

Особое значение для оценки трансформации водных экосистем имеют исследования на рыбах, часто являющихся конечным звеном в трофической цепи, в котором накапливаются и находят отражение изменения на предыдущих уровнях. При проведении работ, связанных с биомониторингом и тестированием водоемов в настоящее время наряду с традиционными биологическими и гидрохимическими методами всё более широко применяются молекулярно-генетические и физиолого-биохимические методы (Сидоров и др., 2003; Немова, Высоцкая, 2004; Мещерякова и др., 2010). Привлечение широкого комплекса биохимических показателей позволяет выявить механизмы воздействия поллютантов на определенные звенья метаболизма, провести раннюю диагностику токсикозов, определить основные загрязнители и степень их токсичности для гидробионтов.

При изучении влияния промышленных поллютантов органической и неорганической природы на гидробионтов было показано, что в защитных и приспособительных реакциях водных организмов на уровне клетки значительную роль играют лизосомальные, микросомальные и другие ферментные системы (Немова, Высоцкая, 2004; Такшеев, 2005; Морозов и др., 2007; Вы-

соцкая, Немова, 2008; Versteeg, Giesy, 1985; Köhler, 1991; Baba et al., 1997).

Целью исследования было сравнительное изучение активности лизосомальных ферментов у массовых видов рыб из Костомукшского хвостохранилища и из чистого, не подвергающегося загрязнению озера Каменного. Биохимические исследования рыб из района Костомукши проводились нами, начиная с 1993 года. Данная работа продолжает этот ряд наблюдений и выполняется для оценки современного состояния рыбной части сообщества Костомукшского хвостохранилища и сопоставления с результатами, полученными ранее.

Материал и методы исследования

Объектами исследования являлись самцы и самки щуки *Esox lucius* и сига *Coregonus lavaretus* из Костомукшского хвостохранилища и из оз. Каменного.

Сведения, полученные при проведении мониторинга озерно-речной системы реки Кенти, свидетельствуют о неблагоприятных изменениях химического состава воды под воздействием отходов комбината. В хвостохранилище к 2009 году по сравнению с 2000 годом возросла общая минерализация с 500 мг/л до 645 мг/л, концентрация ионов K^+ со 130 мг/л до 156 мг/л, сульфатов со 114 мг/л до 172 мг/л, в то же время концентрация гидрокарбонатов снизилась со 146 мг/л до 122 мг/л. Кроме того, к настоящему времени наряду с минеральным калийно-сульфатным загрязнением встал вопрос о загрязнении озерно-речной системы и хвостохранилища нитратами. Вместе с изменениями химического состава воды происходит перестройка в структуре фито- и зоопланктонных ценозов. Численность и биомасса фито- и зоопланктона снизилась в десятки раз, произошла перестройка видового состава. Типичные обитатели северных водоемов оказались менее устойчивыми к воздействию данного минерального загрязнения, в связи с чем произошло их вымирание. В верхних водоемах и в хвостохранилище фито- и зоопланктон представлен немногими эврибионтными видами (Состояние водных объектов ..., 2007). Проведенные в 1995 г. и в 2001 г. исследования ихтиофауны хвостохранилища показали её крайне бедный состав. Массовыми были только два вида: плотва и щука (Такшеев, 2005). В уловах 2009 г. в хвостохранилище были отмечены четыре вида рыб: плотва, щука, сиг, уклейка.

В соответствии с программой мониторинга поверхностных водных объектов проведены ис-

следования расположенных в районе Костомукши незагрязняемых озёр. Одним из таких фоновых объектов считается оз. Каменное, расположенное на территории государственного заповедника «Костомукшский». Из этого водоема были взяты контрольные образцы рыб. Озеро сохраняет статус чистого водоема с высоким качеством воды. Химические показатели в северной части этого водоема были следующими: общая минерализация – 11,3 мг/л, pH 6,5–6,7, содержание O_2 – 60–80%, цветность – 25 град., Геобщ – 0,08 мг/л, Робщ – 8 мкг/л, Нобщ – 0,30 мг/л. По видовому составу и количественному развитию фито- и зоопланктона оз. Каменное можно охарактеризовать как олиготрофный водоем (Состояние водных объектов ..., 2007). Рыбное население оз. Каменного представлено следующими видами: озерный лосось, ряпушка, сиг, щука, окунь, плотва, язь, голянь, ерш, налим, колюшка девятииглая, подкаменщик. В уловах 2009 г. были отмечены семь видов (окунь, сиг, плотва, щука, уклейка, хариус, ряпушка).

Взятые для исследований рыбы имели следующие характеристики. Самцы щук из хвостохранилища были второй стадии зрелости гонад, возраста от 3-х до 7 лет; самки – второй и шестой стадии зрелости гонад, возраста 5–8 лет.

Щуки из оз. Каменного также были представлены самцами второй стадии зрелости гонад, возраста – 5–9 лет; самки щук имели вторую и шестую стадии зрелости и возраст – 6–9 лет.

Как сказано выше, в предыдущий период исследований (1993–1995 гг. и в 2000 г.) в хвостохранилище сиг не отлавливался, поэтому исследования проводили на щуке и плотве. В уловах 2009 г. появился сиг. Для исследований были взяты самцы сига второй-третьей стадии зрелости в возрасте 3–4 года и самки третьей стадии зрелости гонад.

Из оз. Каменного самцы сегов были взяты второй стадии зрелости 2-х возрастных групп: 2–4 года и 6 лет; самки – второй-третьей стадии зрелости гонад, возраст – 3 года.

Активность ферментов определяли в печени, почках, жабрах, мышцах и гонадах исследованных рыб. Гомогенаты, приготовленные на 0,25 М растворе сахарозы с добавлением ЭДТА и неионного детергента тритона X-100, подвергали центрифугированию при 10 000 g на центрифуге с охлаждением. В надосадочной жидкости определяли активность ферментов (кислой фосфатазы, ДНКазы, РНКазы, β -глюкозидазы, β -галактозидазы) и содержание белка по методам, приведенным в наших работах (Высоцкая, Немова, 2008).

Расчет активности ферментов производили на 1 сырого веса ткани в минуту и на 1 мг белка. Полученные результаты обрабатывали общепринятыми статистическими методами, оценивая достоверность отличий по критерию U Вилкоксона – Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования показали различную реакцию на техногенные воды хвостохранилища как у представителей разных видов, так и у самцов и самок одного вида. У самцов щуки из хвостохранилища наблюдалось снижение активности кислой фосфатазы во всех органах кроме печени, особенно значительно в жабрах и почках. Угнеталась активность РНКазы в жабрах, гонадах и мышцах (рис. 1).

У самок второй стадии зрелости активность кислой фосфатазы немного возрастала в почках и жабрах. РНКаза повышалась в жабрах самок второй и шестой стадии зрелости. У тех и других на

более высоком уровне была активность ДНКазы во всех органах (рис. 2).

Очень интересным, на наш взгляд, является характер изменения активности гликозидаз. Во всех сравниваемых группах рыб активность β -глюкозидазы у щук из хвостохранилища была ниже, а β -галактозидазы – намного выше по сравнению со щуками из оз. Каменного. Эта закономерность сохранялась и при расчете удельной активности фермента (рис. 3).

Содержание белка было повышенным в органах самок щуки в хвостохранилище, причем на большую величину у самок второй стадии зрелости гонад.

Другой характер имели изменения изученных биохимических показателей под влиянием техногенной воды хвостохранилища у сига. Так, содержание белка во всех органах самцов повышалось, а у самок заметно возрастало только в гонадах (рис. 4).

Активность кислой фосфатазы у самок сига изменялась незначительно, у самцов уровень этого фермента заметно повышался в почках (рис. 5).

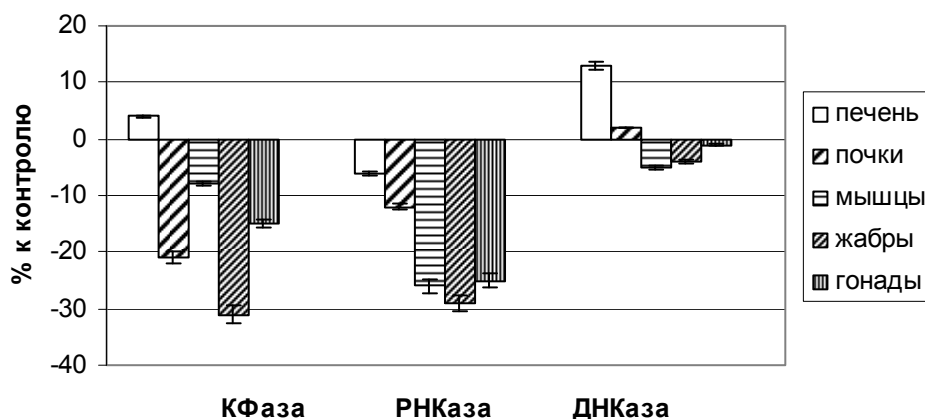


Рис. 1. Активность лизосомальных ферментов в органах самцов щуки (второй стадии зрелости гонад) из Костомукшского хвостохранилища

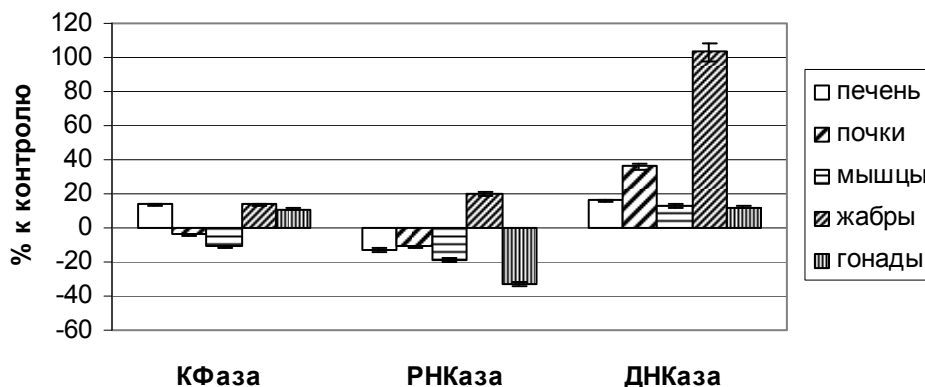


Рис. 2. Активность ферментов в органах самок щуки (шестой стадии зрелости гонад) из Костомукшского хвостохранилища



Рис. 3. Активность гликозидаз в органах самок щуки (второй стадии зрелости гонад) из Костомукшского хвостохранилища

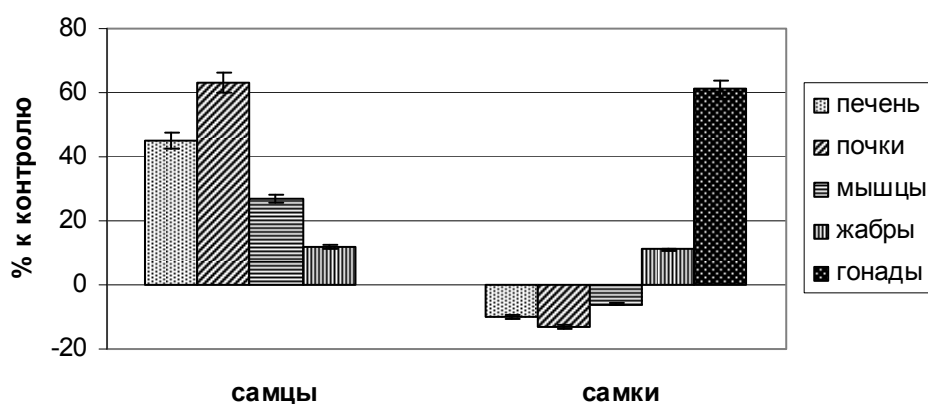


Рис. 4. Сравнительное содержание белка в органах сига из Костомукшского хвостохранилища и оз. Каменного (контроль)

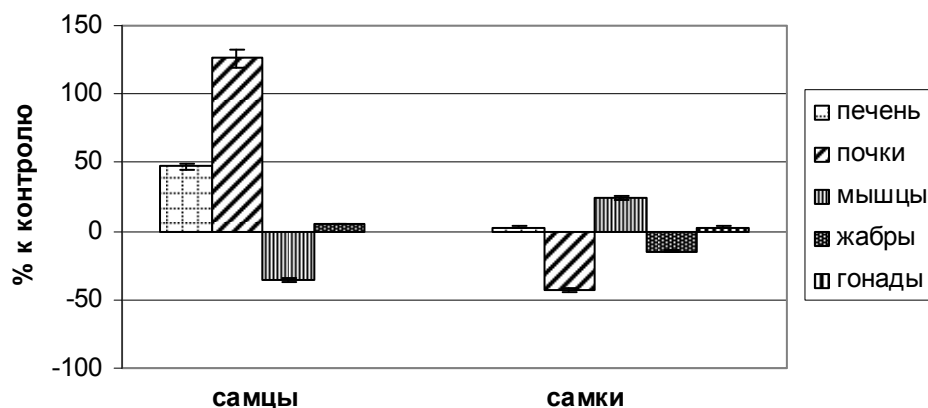


Рис. 5. Активность кислой фосфатазы в органах сига из Костомукшского хвостохранилища

Уровень активности β -глюкозидазы у самцов сига в большинстве органов (печень, почки, мышцы) возрастала, а у самок (за исключением мышц) – угнеталась.

Активность β -галактозидазы практически во всех органах сига из хвостохранилища так-

же была на более низком уровне по сравнению с сигами из контрольного водоема (рис. 6). Следует указать, что лишь в жабрах самцов отмечен более высокий уровень этого фермента.

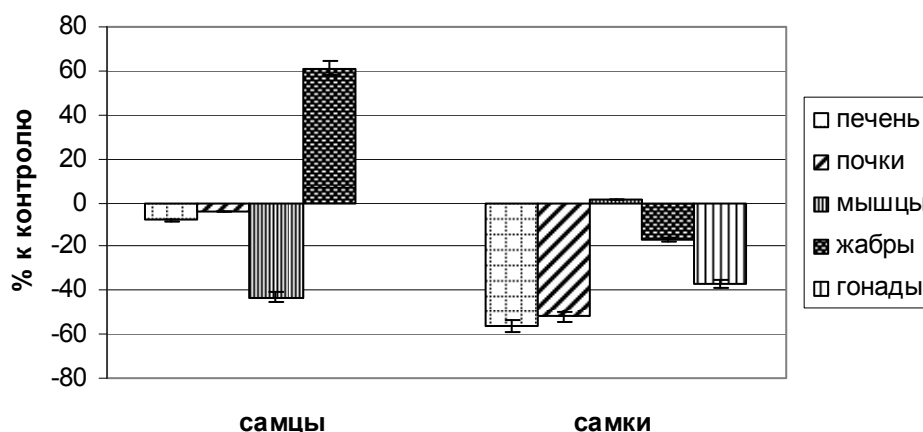


Рис. 6. Активность β -галактозидазы в органах сига из Костомукшского хвостохранилища

Анализ полученных результатов свидетельствует о существенных различиях в адаптивных реакциях рыб к наличию в среде обитания одного и того же загрязнения. У самцов щуки эта реакция проявляется в угнетении большинства ферментов, а у самок отмечается повышение тех же ферментов в таких органах как почки и жабры. Интересно, что в исследованиях прошлых лет биохимическая адаптация щук к данному типу загрязнения проявлялась в активации большинства лизосомальных гидролаз (Такшеев, 2005). Различия между самками второй и шестой стадии зрелости гонад не столь велики. Они характеризуются размахом амплитуды исследованных биохимических показателей, которая больше у самок второй стадии зрелости. Возможной причиной этого является отличающийся гормональный фон у самок двух изученных групп щуки.

Ранее при исследовании влияния отходов металлургических комбинатов на разные виды рыб был установлен высокий адаптивный потенциал щук (Высоцкая и др., 2006). В данной работе выявлено резкое возрастание активности β -галактозидазы во всех органах щук, и особенно значительное в жабрах и гонадах. Это может указывать на вовлечение в адаптивные реакции щуки галактозсодержащих липидов и протеогликанов.

Отличающаяся от ранее установленной реакция со стороны гликозидаз и других лизосомальных ферментов щуки на минеральное загрязнение, вероятно, связана с изменениями в химическом составе хвостохранилища (увеличение общей минерализации, сдвиг pH в менее щелочную область), сказывающимися, в свою очередь, на количественных и качественных показателях кормовой базы рыб. Кроме того, на

формирование адаптивного потенциала щуки накладывает отпечаток многолетнее пребывание щуки в сложившихся неблагоприятных условиях. Постепенно накапливающиеся небольшие изменения передаются в ряду поколений, происходит стабилизация адаптивного потенциала на более высоком уровне.

У сига также наблюдались различия в реакции на минеральное загрязнение между самцами и самками. Наибольший вклад в процессы адаптации к техногенной среде хвостохранилища у самцов вносили печень и почки. У самок наиболее значительным было повышение активности гликозидаз в мышцах и гонадах. Еще одним отличительным моментом, характеризующим видовые особенности реагирования на минеральное загрязнение среды, является отсутствие повышенного активирования галактозидазы в органах сига, которое было выявлено у щук во всех сравниваемых группах.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить ряд отличий в адаптивных реакциях рыб к хроническому загрязнению водоема отходами горно-обогатительного комбината по сравнению с предыдущим периодом. Эти отличия определяются произошедшими изменениями в химическом составе техногенной воды хвостохранилища и структурными преобразованиями в сообществах фито- и зоопланктона. Показана видовая и половая специфичность адаптивных реакций на уровне лизосомальных гидролаз.

Работа выполнена при поддержке Программы Президента РФ «Ведущие научные школы РФ» НШ-3731.2010.4, программ ОБН РАН «Биоресурсы 2009–2011» и Президиума РАН «Биоразнообразие 2009–2011».

Литература

- Высоцкая Р. У., Немова Н. Н., 2008. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб / Ред. А. С. Коничев, М.: Наука. 284 с.
- Высоцкая Р. У., Такшеев С. А., Немова Н. Н., Амелина В. С., Морозов Д. Н., 2006. О видоспецифичности биохимических реакций рыб на разные типы антропогенного воздействия // Северная Европа в XXI веке: Природа, культура, экономика. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. С. 75–78.
- Дубровина Л. В., Калинин Н. М., Лозовик П. А., 1995. Факторы токсичности для гидробионтов техногенных вод Костомукшского ГОКа // Влияние техногенных вод горно-обогатительного комбината на водоемы системы реки Кенти. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. С. 15–25.
- Калинкина Н. М., Кухарев В. И., Морозов А. К., Рябинкин А. В., Власова Л. И., 2003. Критические уровни минерального загрязнения экосистемы р. Кенти // Гидроэкологические проблемы Карелии и использование водных ресурсов. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. С. 103–110.
- Лозовик П. А., Куликова Т. П., Мартынова Н. Н., 2003. Мониторинг водных объектов республики Карелия в 1992–2000 гг. // Гидроэкологические проблемы Карелии и использование водных ресурсов. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. С. 135–144.
- Мещерякова О. В., Чурова М. В., Немова Н. Н., 2010. Изменение активности некоторых митохондриальных ферментов органов рыб при антропогенной нагрузке // современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы III междунар. конф. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. С. 116–117.
- Моисеенко Т. И., 2009. Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука. 400 с.
- Морозов Д. Н., Высоцкая Р. У., Немова Н. Н., Кашулин Н. А., 2007. Активность цитохрома Р-450 у сига *Coregonus lavaretus* и щуки *Esox lucius* из водоемов Субарктики при воздействии сточных вод горно-перерабатывающих предприятий // Вопросы ихтиологии. Т. 47, № 1. С. 101–106.
- Немова Н. Н., Высоцкая Р. У., 2004. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 216 с.
- Сидоров В. С., Немова Н. Н., Высоцкая Р. У., Такшеев С. А., 2003. Вариабельность интегрального биохимического индекса у рыб под влиянием техногенных вод горно-обогатительного комбината // Экология. № 4. С. 274–280.
- Состояние водных объектов Республики Карелия. По результатам мониторинга 1998–2006 гг., 2007. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. 210 с.
- Такшеев С. А., 2005. Состояние рыбной части сообщества Костомукшского хвостохранилища и его оценка биохимическими методами: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН. 23 с.
- Baba M., Osumi M., Scott S.V., Klionsky D.J., Osumi Y., 1997. Two distinct pathways for targeting proteins from the cytoplasm to the vacuole/ lysosome // J. Cell. Biol. V. 139, no. 7. P. 1687–1695.
- Köhler A., 1991. Lysosomal perturbations in fish liver as indicators of toxic effects of environmental pollution // Compar. Biochem. and Physiol. C. V. 100, no. 1–2. P. 123–127.
- Versteeg D.J., Giesy J.P., 1985. Lysosomal enzyme release in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirochirus* Rafinesque) exposed to cadmium // Arch. Environ. Contam. Toxicol. V. 14. P. 631–640.

ESTIMATION OF THE ORE-MINING INDUSTRY WASTES EFFECT ON THE MASS FISH SPECIES OF THE KOSTOMUKSHSKOE RESERVOIR USING LYSOSOMAL ENZYMES ACTIVITY ASSAY

R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, V.S. Skidchenko

*Institute of biology Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia,
e-mail: rimma@bio.krc.karelia.ru*

A comparative study of lysosomal enzymes activity was undertaken in different tissues of whitefish and pike from the Kostomukshskoe reservoir, polluted by ore-mining industry wastes, and from the pure lake Kamennoe. Species, age and sex specificity were discovered in adaptive reactions of fish to mineral pollution of this type. The results obtained differed from the data of the previous ones, probably, because of the ongoing

changes in chemical composition of technogenic waste waters (increasing total mineralization, decreasing pH) and concomitant alteration of phyto- and zooplankton. Besides of this, temporary distinction in biochemical responses of whitefish and pike to the pollution could be explained by stabilizing of adaptive reactions due to prolonged living in the anthropologically changed environment.