

## GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN FISH UNDER MINERAL CONTAMINATION

E.V. Borvinskaya, I.V. Sukhovskaya, L.P. Smirnov

Institute of Biology of Karelian Research Centre of RAS, Petrozavodsk, Russia  
katsu@inbox.ru

Glutathione S-transferase (GST) was measured in whitefish *Coregonus lavaretus* and pikes *Esox lucius* collected from lake near a the Kostomuksha mining factory in the North-West of Russia and from the reference lake regarded as relatively free of anthropogenic contamination. The mining factory release ore-dressing sewage into the lake leading to abnormally high mineralization (480 mg/l) with  $K^+$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HCO_3^-$  ions prevalence. Induction in the GST activity was observed in pike's and whitefish's kidneys and in pike's gills, decreasing of the GST activity was detected in whitefish's kidneys from polluted lake compared with the control, indicating adverse effect of contamination on fish detoxification system. This data may be of importance for ecological monitoring of boreal inland waters under the pressure of anthropogenic input.

## ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЦЕРИОДАФИЙ В УСЛОВИЯХ СОВМЕСТНОГО ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ФАКТОРОВ

О.А. Ботязова, Е.В. Рябухина

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия  
botyazh@bio.uniyar.ac.ru

В настоящее время тяжелые металлы являются неотъемлемым компонентом промышленных и хозяйственно-бытовых сточных, а также поверхностных природных вод. Несмотря на большое число работ, затрагивающих проблемы контроля загрязнения водной среды тяжелыми металлами, исследования по изучению взаимодействия токсического и температурного факторов и их совместному влиянию на жизнедеятельность гидробионтов практически отсутствуют. Вместе с тем они представляют несомненный интерес, поскольку сегодня деятельность тепловых и атомных электростанций приводит к перегреванию воды, особенно в летние месяцы, и, вероятно, изменяет влияние токсических веществ на водных животных в условиях повышенной температуры. Исследования в таком направлении выполнены преимущественно на рыбах и морских беспозвоночных. Данные по пресноводным беспозвоночным малочисленны, хотя эти организмы являются начальным звеном многих трофических цепей в водоемах и удобным тест-объектом для лабораторных исследований.

Целью настоящей работы было изучение сочетанного воздействия температуры и растворов токсикантов на показатель выживаемости *Ceriodaphnia affinis* L. Диапазон изученных температур составлял от +5°C до +30°C (шаг – 5°C). В качестве токсических растворов использовали соли тяжелых металлов: сульфата меди, сульфата никеля и их смесей.

Токсичность тяжелых металлов и их смесей изучали в соответствии с принципом биотестирования. Проводили острое (кратковременное, 48 часов) биологическое тестирование опытных растворов сернокислрой меди и сернокислрого никеля разной концентрации (0,1; 0,3; 0,5; 0,7 и 0,9 мг/л). Тестировали также три варианта смесей с различным количественным соотношением солей меди и никеля (1/3, 1/1 и 3/1 соответственно – медь/никель). Для приготовления смесей токсикантов учитывали ЛК<sub>50</sub> каждого вещества, которые были предварительно определены в острых опытах при разных температурах. В качестве тест-объекта использовали молодых одновозрастных особей *Ceriodaphnia affinis* L. Тест-функцией служила выживаемость рачков в тестируемом растворе и в контрольной пробе, в качестве которой брали биологизированную воду. Смесей токсикантов тестировали на фоне двойного контроля. Для этого кроме биологизированной воды использовали растворы солей в концентрациях LC50. На основании результатов выживаемости цериодафний в растворах разных концентраций рассчитывали количество погибших особей (%) в сравнении с контролем по формуле:  $A = (X_k - X_o) / X_k * 100$ , где A – количество погибших цериодафний, %;  $X_k$  и  $X_o$  – среднее арифметическое количество особей (из трех повторностей эксперимента), выживших в контро-

ле и в опыте соответственно. Сравнение токсичности сульфата меди, сульфата никеля и их смесей проводили с учетом LC50 и LC100, которые определяли графическим способом.

В соответствии с принципом биотестирования перед началом эксперимента было проведено определение диапазона реагирования цериодафний на стандартный токсикант, в качестве которого использовали бихромат калия. Определение чувствительности тест-объекта к бихромату калия показало, что LC50 составляет 1,4 мг/л, что укладывается в нормальный диапазон реагирования и дает возможность дальнейшего использования данной культуры рачков для установления токсичности опытных растворов.

В контрольных пробах (без токсикантов) верхняя температурная граница жизни цериодафний составляла 27°C, при t=30°C рачки погибали. Нижний предел выживания равнялся 8°C, при 5°C наблюдали летальный исход 100% особей. Температурный оптимум составлял 22–23°C, при этом выживаемость рачков равнялась 100% особей.

При помещении цериодафний в растворы сернокислой меди разных концентраций при различных температурах установили, что LC50 составляла 0,35 мг/л при t=10°C; 0,31 мг/л при t=15°C; 0,26 мг/л при t=20°C и 0,18 мг/л при t=25°C. Сопоставление LC50 CuSO<sub>4</sub> при различных температурах показывает прямую зависимость гибели рачков от температуры, т.е. при повышении температуры токсичность раствора сернокислой меди увеличивается, о чем свидетельствует увеличение показателя летальности особей. Аналогичная тенденция выявляется и при сравнении LC100 CuSO<sub>4</sub> при разных температурах.

Биотестирование раствора сернокислого никеля разных концентраций при различных температурах показало, что с повышением температуры выживаемость рачков уменьшается. Величина LC50 для NiSO<sub>4</sub> составляла 0,24, 0,19; 0,15 и 0,1 мг/л при повышении температуры от 10°C до 25°C (с шагом в 5°C). Увеличение токсичности сернокислого никеля с повышением температуры подтверждается и при сравнении LC100.

В целом анализ данных по результатам выживаемости цериодафний в растворах сернокислой меди и сернокислого никеля показал, что имеется прямой дозозависимый эффект токсичности тестируемых солей, который возрастает при повышении температуры.

При изучении влияния смесей солей сульфата меди и сульфата никеля на цериодафний в различных температурных условиях установили, что в диапазоне температур от 10°C до 25°C выживаемость рачков зависит от количественных соотношений компонентов в смеси Ni – Cu. Токсичность смеси увеличивается с возрастанием доли NiSO<sub>4</sub>. При этом сернокислый никель имеет более высокую токсичность по сравнению с сернокислой медью при всех изученных температурах. Вместе с тем, при любых соотношениях солей никеля и меди в смеси наблюдается антагонистический тип взаимодействия компонентов, что проявляется снижением токсичности смеси по сравнению с наиболее токсичным компонентом.

Таким образом, в контрольных средах максимальные верхняя и нижняя летальные температуры для цериодафний составляют соответственно 30°C и 5°C, при которых отмечается гибель 100% особей. Изученные токсиканты при оптимальной температуре (22–23°C) по степени негативного влияния на выживаемость цериодафний располагаются в ряд: сернокислый никель > сернокислая медь > смесь солей (1:1). Имеется прямой дозозависимый эффект токсичности сернокислого никеля и сернокислой меди, который возрастает при повышении температуры. При воздействии токсических веществ в любых концентрациях температурная толерантность рачков снижается, диапазон температур выживания сужается, что наиболее выражено в растворе сернокислого никеля.

## **SURVIVAL RATE OF *CERIODAPHNIA AFFINIS* L. IN CONDITIONS OF JOINT INFLUENCE OF TEMPERATURE AND TOXIC FACTORS**

**O.A. Botyazhova, E.V. Ryabuhina**

The P.G. Demidov Yaroslavl state university, Yaroslavl, Russia  
botyazh@bio.uniylar.ac.ru

The survival rate of *Ceriodaphnia affinis* L. in a temperature range from 5°C up to 30°C under influence of salts CuSO<sub>4</sub>, NiSO<sub>4</sub> and their mixes in the ratio 1/3, 1/1 and 3/1 accordingly – copper/nickel is studied. It is revealed direct dose-dependent effect of toxicity of tested salts which

increases at rise in temperature. On sizes LC50 and LC100 it is established, that NiSO<sub>4</sub> has higher toxicity in comparison with CuSO<sub>4</sub> at all studied temperatures. In a range of temperatures from 10°C up to 25°C toxicity of a mix of salts increases with increase of share NiSO<sub>4</sub>. At influence of toxic substances in any concentration the temperature tolerance *Ceriodaphnia affinis* decreases, the range of temperatures of a survival becomes less.

## АКТИВНОСТЬ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ДЕТОКСИКАЦИИ У АЗОВСКОЙ ТАРАНИ (*RUTILUS RUTILUS*) В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД

Л.А. Бугаев, И.Л. Левина, А.В. Войкина, Е.А. Федорова, Л.Я. Кузнецова

Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (ФГУП «АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия  
bugayov@list.ru

Тарань (*Rutilus rutilus heckeli, Nordman*) является ценным видом промышленного и любительского рыболовства на бассейне Азовского моря. В связи с этим исследования различных аспектов биологии данного вида весьма интересны и как элементы промыслового мониторинга, и в плане сохранения численности и оценки состояния популяции.

В естественных условиях организм подвергается обширному спектру воздействий со стороны биотических и абиотических факторов. Отделить какое-то отдельное воздействие от остальных и через него объяснить наблюдаемый отклик биологической системы просто невозможно. Тем не менее, проследить связь между величиной отдельного действующего фактора и динамикой некоторого физиологического или биохимического показателя вполне реально. Преднерестовый период у тарани характеризуется напряжением в работе различных систем организма: на фоне ослабленного питания, наблюдаются повышенные траты внутренних пластических и энергетических резервов, снижается толерантность к факторам внешней среды. Все эти особенности находят отражение в работе систем поддержания гомеостаза и в том числе в работе ферментативных систем антиоксидантной защиты и детоксикации.

Целью исследования являлось изучение выраженности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эффективности механизмов антиоксидантной защиты (АОЗ) и детоксикации у производителей тарани в наиболее важный период жизни – нерестовый.

Исследовались производители тарани, выловленные в прибрежной зоне во время нерестового хода. После вылова производился осмотр рыб на выявление патологий и морфологических отклонений. В гомогенатах печени рыб определяли содержание вторичного молекулярного продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА, мкМ/мг белка), содержание восстановленного глутатиона (GSH, нМоль/мг белка) и активность следующих ферментов: супероксиддисмутазы (СОД, усл. ед./мг белка/мин), каталазы (КТ, мкМоль/мг белка/мин), ацетилэстеразы (АцЭ, нМоль/мг белка/мин), карбоксилэстеразы (КарбЭ, нМоль/мг белка/мин), глутатион-S-трансферазы (GST, мкМоль/мг белка/мин).

Визуальный осмотр наружных покровов и состояния внутренних органов не выявил отклонений от нормы. Зрелость половых продуктов варьировала от 3–4 до 4–5 стадии. Многолетние исследования, проводимые в АзНИИРХе, показывают, что у тарани на всех этапах онтогенеза физиолого-биохимические и гистологические нарушения встречаются редко, в среднем в 8% случаев, что говорит об удовлетворительном состоянии популяции этого вида.

Популяция тарани в Азовском море представлена двумя субпопуляциями, имеющими различные нагульные и нерестовые ареалы: бассейн Таганрогского залива и бассейн Ясенского залива. Условия обитания этих субпопуляций различаются в основном уровнем загрязнения углеводородами, соленостью, а так же температурными и ледовыми режимами в весенний период. Можно утверждать, что ареал Таганрогского залива приходится на более загрязненные и менее комфортные условия обитания, чем Ясенский залив.

Проведен сравнительный анализ исследованных биохимических показателей у двух субпопуляций тарани (таблица 1). Результаты исследования свидетельствуют, что интенсивность процессов ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов СОД и КТ, компонентов глутатионовой системы GST и GSH были примерно одинаковы у двух субпопуляций рыб. Статистиче-