

активность снижалась на 20–69% в присутствии Cu в концентрации 1–25 мг/л. В то же время эмбриотоксическое действие хлорофоса и нитрозогуанидина вызывало снижение активности карбогидраз на 25–98%, при этом тормозящий эффект выявлен и при более низкой концентрации Cu 0.1 мг/л. Близкие результаты получены и при действии нитрозогуанидина в период эмбриогенеза на чувствительность карбогидраз сеголетков плотвы в действии Zn.

Таким образом, различные по природе антропогенные факторы (ацидификация водоемов, повышенный уровень тепловой нагрузки, хроническое действие метилртути и полихлорбифенилов, кратковременное действие органических ксенобиотиков) повышают чувствительность пищеварительных карбогидраз рыб к действию ионов Cu, Zn и Cd. Повышение чувствительности происходит как за счет увеличения силы тормозящего эффекта при одной и той же концентрации металла, так и снижением активности ферментов при более низких концентрациях металлов. Усиление негативного влияния тяжелых металлов на гидролиз углеводов в кишечнике рыб значительно замедляет скорость начальных этапов ассимиляции углеводов, негативно влияя на эффективность питания рыб, обитающих в районах с повышенной антропогенной нагрузкой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-05-00805).

EFFECT OF ANTHROPOGENIC FACTORS UPON FISH DIGESTIVE CARBOHYDRASE SENSITIVITY TO HEAVY METALS

I.L. Golovanova, A.A. Filippov

Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

The different anthropogenic factors (water acidification, sharp increases of water temperature, chronic exposure to Cd, methylmercury and polychlorinated biphenyls, a short-term action ultralow chlorophos and nitrosoguanidine concentrations) decrease the rate of carbohydrate hydrolysis and considerably reduce digestive carbohydrase stability to Cu, Zn, and Cd in vitro. The increase of inhibitory effect of heavy metals on the intestinal carbohydrase activities result in decreased rate of carbohydrate assimilation, negatively influencing on efficiency of fish feeding.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ КОМПЛЕКС ТКАНЕЙ У САМЦОВ И САМОК КАМБАЛЫ-КАЛКАН *PSETTA MAEOTICA* PALLAS В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД

И.В. Головина, О.Л. Гостюхина

Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
ivgolovina@mail.ru gostolga@yandex.ru

Для оценки физиологического состояния рыб в качестве биомаркеров все чаще применяются показатели антиоксидантного (АО) комплекса и перекисного окисления липидов (ПОЛ). Они отражают устойчивость рыб к условиям окислительного стресса, который может развиваться под действием гипоксии, загрязнения и других факторов. Эти маркеры принадлежат к универсальным, способным откликаться как на антропогенные воздействия, так и на эндогенные процессы, связанные с развитием ПОЛ. Ранее нами было показано, что у двустворчатых моллюсков влияние физиологического состояния (нереста) на АО комплекс и ПОЛ может быть сравнимо с эффектом ксенобиотиков. Определение критериев для выбора параметров АО системы и ПОЛ, используемых в целях экодиагностики, по-прежнему, является актуальным. Важно выявить реакции этих показателей в период естественной окислительной нагрузки, в качестве модели которой мы рассматриваем нерест.

Целью настоящей работы было установить изменения в системе АО защиты и уровне ПОЛ в тканях самцов и самок черноморской камбалы в нерестовый период.

Камбала-калкан – ценный промысловый вид, обитающий в шельфовой зоне всех причерноморских государств. В прибрежных водах Севастополя нерестится с апреля по июнь, совершает весенние миграции на глубины 30–100 м.

Объектом исследования служили половозрелые особи, выловленные в апреле – мае 2006 г. в районе Севастополя на глубине не менее 50 м. По стадии зрелости гонад рыб разделили на две группы: А (самцы и самки с нетекучими половыми продуктами, V стадия) и Б (самцы и самки с текучими половыми продуктами, VI стадия).

Препарирование тканей, гомогенизацию и центрифугирование проводили общепринятыми методами при температуре 0–4°C. Активность ферментов определяли в супернатанте, а содержание ТБК-активных продуктов – в гомогенате. Для определения уровня восстановленного глутатиона (GSH) гомогенат готовили отдельно, в качестве среды выделения использовали 5%-ный раствор метафосфорной кислоты.

Активность ферментов измеряли при стандартной температуре 25°C. Определяли активность глутатионпероксидазы (ГП) по накоплению окисленного глутатиона (GSSG), активность глутатионредуктазы (ГР) – по убыли НАДФН, активность каталазы – по реакции с молибдатом аммония, содержание GSH – по образованию комплекса с аллоксановым реактивом. Содержание белка определяли по методу Лоури. Измерения экстинкции проводили на спектрофотометре СФ-26. Цифровой материал обработан статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Сравнивали средние величины, рассчитанные для выборочных совокупностей из 5–8 особей.

ПОЛ. Значительные и однонаправленные отличия в интенсивности ПОЛ при изменении стадии зрелости гонад установлены у самцов. Во всех исследованных тканях уровень ТБК-активных продуктов у самцов группы Б был в 1,4–2,8 раза ниже, чем в группе А. Максимальная разница установлена в красных мышцах и гонадах, различия достоверны для всех тканей ($p \leq 0,05$), кроме жабр.

У самок группы Б уменьшение уровня ТБК-активных продуктов произошло в гонадах и печени в 1,6 и 2,1 раза соответственно ($p \leq 0,05$), в жабрах изменения не были существенны, а в белых мышцах отмечена тенденция к увеличению.

АО комплекс.

Гонады. Наибольшие изменения обнаружены у самок с текучими половыми продуктами (группа Б). Они затрагивали только глутатионпероксидную систему (ГПС) и были разнонаправленными. Активности ГП и ГР снижались в 1,6–1,8 раза ($p \leq 0,05$) – до 6,9 и 0,4 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка соответственно, в то время как ресурс GSH, напротив, значительно возрастал – в 1,9 раза ($p \leq 0,05$). В АО комплексе гонад у самцов достоверных изменений между группами А и Б не обнаружено.

Жабры. У самцов и самок группы Б отмечен рост активности ГП до 39,6 и 36,1 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, что превысило активность этого фермента у рыб группы А в 1,5–1,7 раза ($p \leq 0,05$). Одновременно в жабрах самок группы Б зарегистрировано увеличение уровня GSH в 1,6 раза – до 247,1 мкг·г⁻¹ ткани ($p \leq 0,05$).

Печень. Достоверных различий в АО активности между особями групп А и Б не установлено. В группе Б происходило некоторое снижение активности ГП и ГР у самцов и активности каталазы у особей обоего пола. Обнаружена также тенденция к росту содержания GSH у самок группы Б.

Красные мышцы самок группы Б характеризовались чрезвычайно высокой активностью каталазы – 15,2 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, что было выше по сравнению с группой А в 8,8 раза ($p \leq 0,05$). У этих же особей отмечена тенденция к росту уровня GSH. В отличие от самок, в красных мышцах самцов группы Б, как и в большинстве других их тканей, изменений в состоянии АО комплекса не выявлено.

Белые мышцы. В АО комплексе самок группы Б установлено снижение активности ГР в 1,6 ($p \leq 0,05$) по сравнению с самками группы А. Самцы группы Б отличались значительным ростом содержания GSH – до 189,4 мкг·г⁻¹ ткани, что в 2,6 раза выше ($p \leq 0,05$) по сравнению с особями группы А и тенденцией к снижению активности ГР.

Таким образом, наиболее существенные изменения обнаружены у самок калкана VI стадии зрелости: в гонадах снижался уровень ТБК-активных продуктов, активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, а ресурс глутатиона увеличивался. В жабрах этих самок повышались активность глутатионпероксидазы и уровень глутатиона, в красных мышцах – активность каталазы, а в белых – уменьшалась активность глутатионредуктазы. Печень характеризовалась понижением интенсивности ПОЛ.

В тканях самцов камбалы VI стадии зрелости гонад во всех тканях происходило снижение уровня ТБК-активных продуктов, в жабрах – увеличение активности глутатионпероксидазы, а в белых мышцах – повышение содержания глутатиона.

Исследованные показатели являются чувствительными индикаторами процессов, происходящих в системе антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов в тканях самцов и самок камбалы в период нереста.

THE STATE OF THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENSE IN TISSUES OF MALES AND FEMALES OF THE BLACK SEA FLOUNDER *PSETTA MAEOTICA* PALLAS DURING THE SPAWNING

I.V. Golovina, O.L. Gostyukhina

Institute of biology of the southern seas, NANU, Sevastopol, Ukraine
ivgolovina@mail.ru gostolga@yandex.ru

The system of antioxidant (AO) defense and processes of lipid peroxidation (LP) of the Black Sea flounder *Psetta maeotica* have been investigated during the spawning. The activity of glutathioneperoxidase (GP), glutathionereductase (GR), catalase and content of reduced glutathione (GSH) and TBA-active products (TBARS) have been determined in gonads, gills, liver, red and white muscles of males and females at different stages of gonad's maturity (V and VI stages). The peculiarities of AO complex and LP depending on tissue specificity and sexual distinctions of the flounder have been found. The flounder females at VI stage were found to have the most significant changes. In gonads and liver the level of TBARS decreased. In gonads the activities of GP and GR decreased, but the level of GSH increased. In gills of these females the activity of GP and the level of GSH increased, while in the red muscles the activity of catalase raised. In white muscles the activity of GR dropped. In the males' tissues of the flounder at VI stage the growth of the activity of GP in gills and GSH content in white muscles have been found. In all tissues the decrease of the TBARS content has been observed.

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЛИПИДОВ У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. ИОНАМИ ЦИНКА И СВИНЦА

А.И. Горда

Тернопольский педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
hiazunt@mail.ru

Микроводоросли – одни из наиболее чувствительных организмов к действию токсических веществ, в том числе и к тяжелым металлам. Такие микроэлементы как Zn, Cu, Mn, Mo, Fe, Co, B, Se, Vg и др. у водорослей принимают активное участие в большинстве жизненных процессов, выступают регуляторами ферментов, а также скорости и направленности метаболических превращений. Вместе с тем в избыточных концентрациях они оказывают на водоросли токсический эффект.

Нами экспериментально изучено влияние ионов цинка (микроэлемент) и свинца (типичный токсикант) на биосинтез липидов у одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer.

Культуру водоросли выращивали в стеклянных колбах на минеральной среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горема при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ и освещении 2500 лк. В экспериментальных условиях к культуре добавляли водные растворы ZnSO_4 и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ в пересчете на количество ионов $\text{Zn}^{2+} - 5 \text{ мг/дм}^3$ и $\text{Pb}^{2+} - 0,5 \text{ мг/дм}^3$, что соответствует уровню 5 санитарно-токсическим ПДК. Период инкубации культуры водоросли с токсическими веществами составлял 1, 3 и 7 сут., по истечении которых суспензию водоросли инкубировали или с 200 кБк $[1-^{14}\text{C}]$ -ацетата натрия, или с 20 кБк $[1-^{14}\text{C}]$ -бикарбоната натрия при температуре 20°C и освещении 2500 лк в течении 90 мин. После остановки реакции трихлоруксусной кислотой липиды экстрагировали с помощью смеси изопропанол-хлороформ по методу В. Ничалса (Nichols, 1963) в модификации, промывали согласно методики и затем измеряли радиоактивность на сцинтилляционном счетчике LS-100C «Beckman» (США) и выражали в имп/(мин*мкг хл.а). Количество хлорофилла определяли спектрофотометрически.