

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского  
Серия «Биология» Том 16 (55) №2 (2003)152-156.

УДК 597.587.9·591.3.577.1

## ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СКОРПЕНЫ

*Роццана О.В.*

В последнее время наблюдается заметное ухудшение экологического состояния Черного моря в результате возрастания темпов антропогенной нагрузки. В связи с этим появилась необходимость изучения физиологического состояния рыб, которые являются важными компонентами морских экосистем. Для достижения данной цели недостаточно одних морфологических и экологических исследований, необходимо также проводить биохимическое тестирование. Биохимические методы являются наиболее эффективными, так как они достаточно информативные и быстрые. Важным этапом биохимического анализа является изучение ферментативной активности. Существует строгая зависимость между активностью ферментов и уровнем общего метаболизма организмов [5]. Так активность ферментов позволяет оценить и прогнозировать физиологическое состояние рыб.

Аланин-аминотрансфераза (АлАТ), аспартат-аминотрансфераза (АсАТ), фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза (АЛД) являются важными ферментами организма. АлАТ и АсАТ играют ключевую роль в белковом обмене, принимая участие в процессах переаминирования аминокислот. Имеются данные о том, что АсАТ связана с транспортом, который осуществляется в мембранах клеток, с энергетической функцией митохондрий и передачей нервного импульса в синапсах [3]. АЛД участвует в углеводном обмене. АлАТ, АсАТ и АЛД обладают значительной чувствительностью к воздействию различных экологических факторов, которые могут быть как естественными (сезонные изменения, температура, соленость, обеспеченность пищей), так и антропогенными (действие различных токсикантов). Таким образом, данные ферменты участвуют в ответных реакциях организма на действие различных факторов наряду с антиоксидантными ферментами и другими показателями[7].

На этом основании целью данной работы явилось изучение изменения активности некоторых ферментов (АлАТ, АсАТ, АЛД) в сыворотке крови скрепены (*Scorpaena porcus Linnaeuse*), обитающей в бухтах, характеризующихся различной антропогенной нагрузкой, в разные сезоны года, а также выявление наиболее удобных и эффективных биохимических показателей для оценки физиологического состояния рыб.

### **Материалы и методы**

Объектом изучения служила скорпена (*Scorpaena porcus Linnaeuse*), являющаяся типичным представителем ихтиофауны прибрежной зоны г. Севастополя. Этот вид был выбран для изучения, так как вполне соответствует требованиям, предъявляемым "биомониторным" видам [4]. Сыворотку крови скорпены отбирали на протяжении 2001 – 2002 гг. в разные сезоны у особей, обитающих в бухтах г. Севастополя с различной антропогенной нагрузкой (б. Мартынова и б. Канаргинская). Кровь у рыб отбирали из хвостовой вены при помощи пастеровской пипетки. Сыворотку получали методом отстаивания на холода. Отобранныю сыворотку использовали для определения активности изучаемых ферментов.

Для измерения активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови скорпены использовали колориметрический метод (микрометод) Reitman и Frankel (1957) [1].

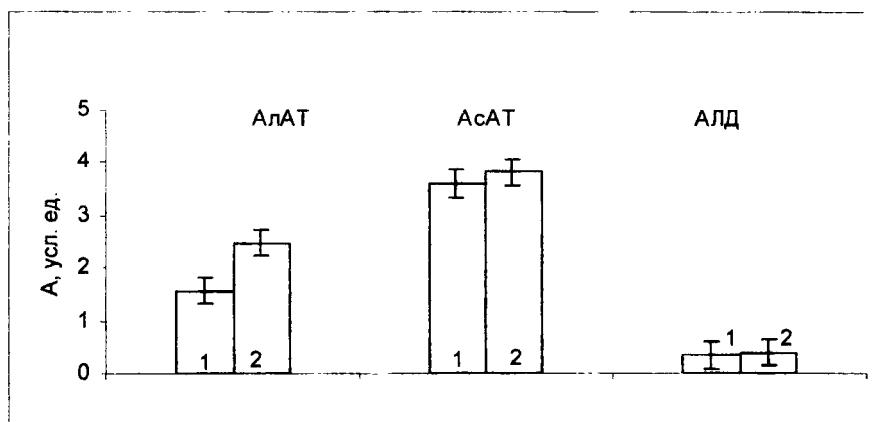
Определение активности АЛД в сыворотке крови скорпены проводили по методу В.И.Товарницкого и Е.Н.Волуйской в модификации (микрометод) В.А.Ананьева и В.Р.Обуховой [1].

Полученные данные подвергались статистической обработке [2]. Вычисляли среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (?), ошибку среднего арифметического (m), критерии достоверности Стьюдента для сравнения двух выборок (t).

### **Результаты и их обсуждение**

В результате данных исследований проанализированы изменения активности АлАТ, АсАТ и АЛД в сыворотке крови скорпены, обитающей в акватории г. Севастополя, а именно б. Мартыновой и б. Канаргинской (рис.1).

Согласно данным (табл. 1), которые были предоставлены Государственной инспекцией охраны Черного моря, экологическая ситуация в этих бухтах незначительно



*Рис. 1. Активность ферментов в сыворотке крови скорпены, обитающей в двух бухтах г. Севастополя:*  
1—б. Канаргинская, 2—б. Мартынова.

отличается и условия обитания можно считать почти одинаковыми. Таким образом, уровень антропогенной нагрузки не оказывает существенного влияния на исследуемые показатели.

В дальнейшем представляло интерес изучить действие других экологических факторов на физиологическое состояние скорпены. В ходе работы проанализированы изменения активности АЛАТ, АсАТ и АЛД в сыворотке крови рыб в зависимости от сезона года. Сравнения были проведены параллельно для двух бухт—Карантинной и Мартыновой (рис.2).

*Таблица 1*  
Экологическая характеристика бухт Карантинная и Мартынова

Бухты	Мартынова	Карантинная
Кол-во выбросов сточных вод, м <sup>3</sup> /сут	Аварийный выпуск КНС № 1	50
Нсфтеуглеводороды, мг/л	0,03-0,01	0,07-0,05
СПАВ, мг/л	0,002	0,003
БПК5, мг/л	2,1	2,5
Взвешенные вещества, мг/л	1,9	2,4
NO <sub>2</sub> , мг/л	0,003	0,003

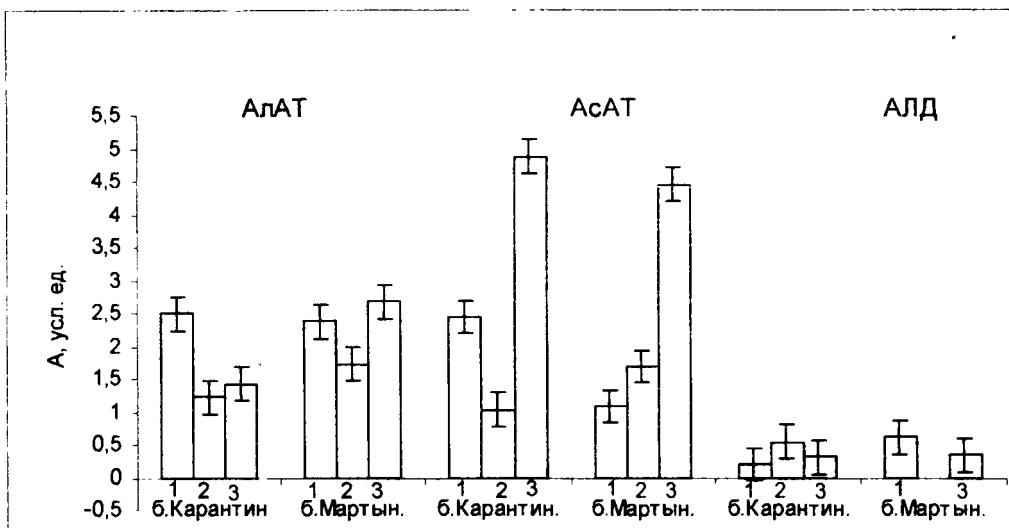


Рис.2. Активность ферментов в сыворотке крови скорпены в зависимости от сезона:  
1—зима; 2—весна; 3—лето.

Изменения активности АсАТ в сыворотке крови скорпены представлены на рис.2. Как можно видеть, наибольшее значение активности АсАТ приходится на летний

период. Этот факт достоверно установлен для скорпены как из б. Мартыновой, так из б. Каантинной ( $p<0,05$ ), и значения АсАТ соответственно равны  $4,88\pm0,372$  и  $4,45\pm0,352$  мкмоль/мл час. Значительной разницы между значениями активности данного фермента зимой и весной не обнаружено. Таким образом, отмечено увеличение активности АсАТ летом, что связано с усилением общего метаболизма у скорпены, так как на это время приходится период нереста. Наблюдается генеративный рост (созревание гонад), при этом происходит перераспределение энергетического и пластического материала. Данный процесс настолько энергоемок, что требует наряду с пищевым обеспечением значительной доли внутренних ресурсов организма [6]. Зимой наблюдается уменьшение активности АсАТ в сыворотке крови скорпены. Очевидно, это соотносится с понижением общего уровня обмена веществ в данный период, так как питание снижено, рыбы малоактивны, энергозатраты минимальны, окислительные процессы замедлены [5].

Совсем иная картина наблюдается при анализе активности АлАТ в сыворотке крови скорпены в зависимости от сезона года (рис.2). Наблюдается увеличение активности АлАТ зимой по сравнению с весной и летом. Эта разница достоверна для скорпены, обитающей в б. Каантинная ( $p<0,05$ ). Установлено снижение активности данного фермента в весенний период, что характерно для скорпены как из б. Мартынова, так и из б. Каантинная, и значения соответственно равны  $1,72\pm0,516$  и  $1,22\pm0,217$  мкмоль/мл час. Значительной разницы между активностью АлАТ в зимний и летний периоды не обнаружено.

В динамике активности АлАТ наблюдается следующая закономерность. Отмечено снижение данного фермента в весенне-летний период, что можно объяснить таким образом. Скорпена относится к группе холодолюбивых черноморских рыб, у которых фазы соматического и генеративного роста не совпадают. Первый тип роста приходится на осенне-зимний период, а второй на весенне-летний. Так как скорпена принадлежит к "тощим" рыбам, то белки выполняют не только структурную функцию, но и энергетическую, являясь главным источником резервной энергии в зимний период [5]. По-видимому, АлАТ активно задействована в реакциях, обеспечивающих соматический рост.

При проведении данных исследований не обнаружено достоверных отличий в изменении активности АЛД в сыворотке крови скорпены в зависимости от сезона года (рис.2). Примерно одинаковые значения активности фермента были получены в летний период у скорпены из двух изучаемых бухт (б. Мартынова— $0,34\pm0,059$  мкмоль мл/час и б. Каантинная— $0,305\pm0,067$  мкмоль мл/час). В то же время зимой значения существенно отличаются. В сыворотке крови скорпены из б. Мартынова отмечено возрастание активности данного фермента (0,609±0,121 мкмоль мл/час), а из б. Каантинная — наоборот, снижение (0,204±0,062 мкмоль мл/час,  $p<0,05$ ). Таким образом, у скорпены из б. Каантинная наблюдается увеличение активности АЛД

весной и снижение летом. На основании изложенного выше, в случае АЛД необходимо провести дальнейшие исследования.

Таким образом, активность исследованных ферментов является удобным маркером для определения физиологического состояния рыб в зависимости от сезона года.

#### **Список литературы**

1. Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Манкелов И.М. Введение в клиническую энзимологию.—Л.: Медицина, 1972.—277с.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия.—М.: Высш. шкл., 1989.—340с.
3. Маляровская А. Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного эвтрофирования водоемов.—Киев: Наук. думка, 1979.—345с.
4. Овен А.С., Руднева И.И., Шевченко Н.Ф Ответные реакции морского ерша (*Scorpaena porcus*) на антропогенное воздействие // Вопросы ихтиологии. – 2000 – Т.40. – №1. – С. 75 – 78.
5. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб.—М.: Пищевая пром., 1972.—368с.
6. Шульман Г.Е., Урденю С.Ю. Продуктивность рыб Черного моря.—Киев: Наук. думка, 1989.—188с.
7. Poleksi V., Karan V. Effects of trifluralin on Carp: biochemical and histological evaluation. – Ecotoxicol. Environ. Saf. – 1999. – Vol. 43, №2. – P.231 – 221.

Поступила в редакцию 20.03. 2003 г.