

Министерство образования Республики Беларусь
Учреждение образования
«Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»
(ВГУ имени П.М. Машерова»)

Индекс УДК 577.3
Рег.№ НИОКТР 20192965

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе
ВГУ имени П.М. Машерова
_____ И.М. Прищепа
" ____ " _____ 2020 г.

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Изучение водных экосистем на основе модельного химического
эксперимента как средство исследования учащимися биологических
объектов

(заключительный)

согласно договору с Отделом по образованию
Дубровенского районного исполнительного комитета
№ 20/19 от 21.10.2019 г.

Руководитель НИР _____ О.М. Балаева-Тихомирова
зав. каф. химии, к.б.н., доцент

Нормоконтроль _____ Т.В. Харкевич

РЕФЕРАТ

Отчет 37 с., 1 кн., 10 табл., 36 источников

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА,
СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА, КАТАЛАЗА, ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗА,
ГЛУТАТИОНРЕОКСИДАЗА, ЛЕГОЧНЫЕ МОЛЛЮСКИ.

Объект исследования – гемолимфа и гепатопанкреас легочных пресноводных моллюсков (*Lymnaea stagnalis*, *Planorbarius corneus*).

Предмет исследования – изменения показателей активности ферментативной антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы в гепатопанкреасе и гемолимфе, глутатионпероксидазы в гемолимфе и каталазы в гепатопанкреасе легочных пресноводных моллюсков природных водоёмов в зависимости от сезонных изменений, места обитания и переносчика кислорода.

Цель работы – оценить активность ферментативной антиоксидантной системы тканей легочных пресноводных моллюсков природных водоёмов Республики Беларусь с учётом сезонности, места обитания и переносчика кислорода.

Методы исследования: описательно-аналитические, экспериментальные, статистические.

Элементы новизны: определена активность ферментативной антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы в гепатопанкреасе и гемолимфе, глутатионпероксидазы в гемолимфе и каталазы в гепатопанкреасе легочных пресноводных моллюсков природных водоёмов в зависимости от сезонных изменений, места обитания и переносчика кислорода.

Теоретическая и практическая значимость: полученные результаты позволят выявлять закономерности изменения активности антиоксидантных ферментов под влиянием сезона года, места обитания и типа транспорта кислорода и дает возможность обосновать использование легочных

моллюсков для мониторинга поверхностных вод Республики Беларусь. Полученные результаты дополняют данные о работе ферментативной антиоксидантной системы пресноводных гидробионтов в ответ на стрессовые факторы, вследствие природных и антропогенных воздействий, что представляет практический интерес для науки и дает возможность для использования легочных моллюсков в качестве тест-систем.

Эффективность полученных результатов и их практическая значимость связана с применением способа экологического анализа, основанного на исследовании биохимических показателей в тканях двух видов моллюсков в зависимости от времени года. В настоящее время в ряде проанализированных научных сообщений не учитывается фактор сезонности, что может искажать качество биомониторинга водных сред обитания моллюсков, используемых в качестве тест-организмов. Полученные результаты данной работы применимы в биологическом мониторинге водных объектов с использованием пресноводных легочных моллюсков в качестве тест-организмов.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
Основная часть.....	7
1 Анализ литературных данных по теме исследования.....	7
2 Материал и методы исследования.....	18
2.1 Характеристика экспериментальных моделей.....	18
2.2 Методы экспериментальных исследований.....	20
3 Результаты и их обсуждение.....	25
3.1 Исследование активности ферментов антиоксидантной системы моллюсков и оценка состояния водной экосистемы Витебской области.....	25
Заключение.....	31
Список использованных источников.....	32

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуальным является определение состояния природных водоемов, поскольку наблюдается их повсеместное загрязнение. Одним из наиболее существенных факторов, влияющих на качество воды, является величина антропогенной нагрузки. Широкое использование ресурсов поверхностных вод в различных отраслях промышленности и сельского хозяйства, развитие хозяйственно-бытового водоснабжения, воздействие загрязняющих веществ различного происхождения обуславливают многообразие факторов антропогенной нагрузки на водные объекты. Основной угрозой для жизни гидробионтов является загрязнение вод органическими отходами и тяжелыми металлами. Актуальность работы заключается в обосновании возможности использования пресноводных моллюсков как организмов-индикаторов для оценки состояния окружающей среды. Данные организмы являются высокочувствительными к загрязнению водоемов тяжелыми металлами и играют ведущую роль в накоплении и переносе химических веществ в водоемах. Аккумулируя различные химические вещества, моллюски выступают как основной фактор, повышающий самоочищающуюся способность водоемов. Они удовлетворяют многим требованиям к биоиндикаторам, среди которых: повсеместная встречаемость, достаточно высокая численность, относительно крупные размеры, удобство сбора и обработки, сочетание приуроченности к определенному биотопу с определенной подвижностью, достаточно продолжительный срок жизни, чтобы аккумулировать загрязняющие вещества за длительный период. Бентосные организмы, к которым относятся и моллюски, как правило, не являются хозяйственно ценными или уникальными объектами, поэтому их отлов из водоема в исследовательских целях не наносит ущерб экосистеме.

Цель работы - оценить состояние природных водоемов Витебской области по активности ферментативной антиоксидантной системы тканей

легочных пресноводных моллюсков природных водоёмов Витебской области с учётом сезонности, места обитания и типа транспорта кислорода.

Задачи исследования:

1. Изучить активность ферментативной антиоксидантной системы у легочных пресноводных моллюсков Витебской области с учетом антропогенной нагрузки.
2. Определить активность ферментативной антиоксидантной системы у легочных пресноводных моллюсков Витебской области в зависимости от сезона года.
3. Оценить активность ферментативной антиоксидантной системы у легочных пресноводных моллюсков Витебской области в зависимости от типа транспорта кислорода.

Объект исследования – гемолимфа и гепатопанкреас легочных пресноводных моллюсков (*Lymnaea stagnalis*, *Planorbarius corneus*).

Предмет исследования – изменения показателей активности ферментативной антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы в гепатопанкреасе и гемолимфе, глутатионпероксидазы в гемолимфе и каталазы в гепатопанкреасе легочных пресноводных моллюсков природных водоёмов в зависимости от сезонных изменений, места обитания и переносчика кислорода. Результаты исследования можно использовать для биомониторинга и биодиагностики состояния пресных водоёмов, при оценке степени антропогенного воздействия на окружающую среду. Работа соответствует приоритетному направлению фундаментальных и прикладных научных исследований и научно–технической деятельности в Республике Беларусь на 2016-2020 годы: 10. Экология и природопользование, 8. Рациональное природопользование и глубокая переработка природных ресурсов: устойчивое использование природных ресурсов и охрана окружающей среды (Указ Президента Республики Беларусь от 22.04.2015г. №116). Достоверность результатов работы подтверждается корректностью методов исследования, анализом

воспроизводимости результатов с применением статистических программных комплексов; исследования осуществлялись с использованием сертифицированного оборудования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Флеров, Б.А. Актуальные проблемы водной токсикологии / Б.А. Флеров // Борок. - 2004. - С. 248.
- 2 Никаноров, А.М. Научные основы мониторинга качества вод / А.М. Никаноров // СПб: Гидрометиздат. - 2005. - С. 569.
- 3 Чуйко, Г.М. Современные подходы использования методов биодиагностики при экотоксикологической оценке водных экосистем/ Г.М. Чуйко // В кн.: «Современные проблемы водохранилищ и их водосборов», труды VI Международной научно-практической конференции. Пермь: Пермский гос. нац. исслед. ун-т. - 2017. - Т. 3.- С. 9094.
- 4 Никаноров, А.М. Словарь-справочник по гидрохимии и качеству вод суши (понятия и определения) / А.М. Никаноров, В.М. Иваник // - Ростов-на-Дону: АртАпель. - 2014. - С 548.
- 5 Livingstone, D.R. Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Pollution and Aquaculture / D.R. Livingstone // *Revue de Médecine Vétérinaire*. - 2003. - V. 154. - № 6. - P. 427–430.
- 6 Флеров Б.А. Экофизиологические аспекты токсикологии пресноводных животных/ Б.А. Флеров // Л. - 1989. - С. 144.
- 7 Луцкий, М.А. Свободнорадикальное окисление липидов и белков – универсальный процесс жизнедеятельности организма / М.А. Луцкий [и др.] // *Успехи современного естествознания*. – 2014. – № 12-1. – С. 24-28.
- 8 Peskin, A.V. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) / A.V. Peskin // *Clinica Chimica Acta*. – 2000. - № 293. - P. 157–166.
- 9 Дубинина, Е.Е. Окислительный стресс – одна из возможных причин развития сосудистой деменции у пожилых людей // Е.Е. Дубинина, С.В. Ковругина, И.Б. Солитернова // *Успехи геронтологии*. – 2000. – Вып.4. – С. 97-101.

10 Кулинский, В.И. Активированные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И.Кулинский // Соросовский образовательный журнал. - 1999.– № 1.– С. 2-7.

11 Sandhu, S.K. Biogerontol / S.K. Sandhu, G Kaur // Clinica Chimica Acta. - 2003. - Vol. 4. - № 1. - P. 19–29.

12 Зайцев, В.Г. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / В.Г. Зайцев, В.И. Закревский // Вестник Волгоградской медицинской академии – Волгоград. - 1998. – С. 49-53.

13 Halliwell, B. Free radicals and antioxidants: a personal view / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge // Arch. Biochem. Biophys. - 1994. - V.246. - № 2. - P. 501–506.

14 Winterbourn, C.C. Biological Production, Detection, and Fate of Hydrogen Peroxide / C.C. Winterbourn // Antioxid Redox Signal. – 2017. - P. 877–880.

15 Winston, G.W. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms/ G.W. Winston, R.T. Di Giulio // Aquatic Toxicology. - 1991. - V. 19. - № 2. - P. 137–161.

16 Калинина, Е.В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутатионредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, М.Д. Новичкова // Успехи биологической химии. - 2014. - Т. 54. - С. 299–348.

17 Ames, B.N. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging / B.N. Ames, M.K. Shigenaga, T.M. Hagen // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 1993. - V. 90. - № 17. - P. 7915–7922.

18 Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation and toxicity/ R.T. Di Giulio [и др.] // Fundamental of Aquatic Toxicology Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. Taylor and Francis: Washington. - 1995. - P. 523–561.

19 Лобарева, Л.С. Витамины антиоксидантного действия и ревматические заболевания / Л.С. Лобарева, Л.Н. Денисов, О.Е. Якушева // Вопросы питания. – 1995. - №4 – С. 24-29.

20 Костюк, В. А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В. А. Костюк, А. И. Потапович // – Минск: БГУ. - 2004. – С 179.

21 Голубев, А.П. Функциональная роль брюхоногих моллюсков в процессах миграции радионуклидов в водоемах белорусского сектора зоны отчуждения ЧАЭС / А. П. Голубев, В. Ю. Афонин, В. Н. Калинин // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. – 2005. – Вип. 11. – С. 502–508.

22 De Zwaan, A. Facultative anaerobiosis in molluscs / A. De Zwaan, J.H. Kluytmans, D.I. Zandee // Biochem. Soc. Symp. – 1976. – Vol. 41. – P. 133–168.

23 Burnett, L.E. Physiological Responses to Hypoxia / L.E. Burnett, W.B. Stickle // Coastal Hypoxia: Consequences for Living Resources and Ecosystems. Coastal and Estuarine Studies. – 2001. – P. 101–114.

24 Sukhotin, A.A. Agedependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea / A.A. Sukhotin, H.O. Portner // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. – 2001. – Vol. 257. – P. 53–72.

25 Константинов, А.С. Общая гидробиология / А.С. Константинов. – 4-е изд. – Москва: Высшая школа. - 1986. – С. 483.

26 Le Pennec, G. Induction of glutathione S-transferases in primary cultured digestive gland acini from the mollusk bivalve *Pecten maximus* L.: application of a new cellular model in biomonitoring studies / G. Le Pennec, M. Le Pennec // Aquatic toxicology. – 2003. – № 64 (2). – P. 131-142.

27 Биргер, Т.И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде / Т.И. Биргер // – Киев: Наукова Думка. – 1979. – С. 192.

28 Челомин, В.П. Биохимические механизмы адаптации мидии *Mytilus trossulus* к ионам кадмия и меди / В.П. Челомин, Н.Н. Бельчева, М.В. Захарцев // Биология моря. – 1998. – № 5. – С. 319-325.

29 Valko, M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M.T.D. Cronin // *Cur. Med. Chem.* - 2005. - Vol. 12. - P. 1161–1208.

30 Freedman, J.H. The role of glutathione in copper metabolism and toxicity / J.H. Freedman, M.R. Ciriolo, J. Peisach // *J. Boil. Chem.* - 1989. - Vol. 264, № 10. - P. 5598–5605.

31 Cappello, T. Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*) / T. Cappello // *Marine Environmental Research.* – 2013. - Vol. 91. - P. 52–60.

32 Sukharenko, E.V. Biomarkers of metabolism disturbance in bivalve molluscs induced by environmental pollution with processed by-products of oil / E.V. Sukharenko, V.S. Nedzvetsky, S.V. Kyrychenko // *Biosystems Diversity.* – 2017. - Vol. 25(2). - P. 113–118.

33 Кулинский, В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колисниченко // *Успехи современной биологии*, 1990. – Т. 110, №1. – С. 20–33.

34 Imlay, J.A. What biological purpose is served by superoxide reductase / J.A. Imlay // *J Biol Inorg Chem.* – 2002. - Vol. 7. - P. 659–663.

35 Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // *Лаб. Дело.* - 1988. – № 1. – С. 16–19.

36 Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учебное пособие / Е.В.Барковский [и др.]; под ред. Проф. А.А.Чиркина. – Минск: Выш. шк. - 2013. – С. 77 - 91.