

УДК: 574.52(265.2)

## БЕНЗО[А]ПИРЕНГИДРОКСИЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЕСТОНА НА ГИДРОФИЗИЧЕСКОМ ПОЛИГОНЕ ЭКВАТОРИАЛЬНОЙ ЗОНЫ ТИХОГО ОКЕАНА

*Коломейченко Г.Ю., Петров С.А.*

*Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,  
кафедра биохимии, биологический факультет,  
Xenia2002@mail.ru*

Приведены результаты содержания белка в сестоне фотического слоя отражает продуктивность и может быть использовано при биомониторинге в тропической зоне Тихого океана. Фоновая активность бензо[а]пиренгидроксилазы ПАУ в летний период может быть использована для дальнейших исследований на гидрофизическом полигоне. Предложенный метод может служить раннедиагностическим показателем загрязнения водной среды полициклическими соединениями и дает возможность с помощью гидроксилазы ПАУ оценить степень антропогенной нагрузки.

**Ключевые слова:** бензо[а]пирен, гидроксилаза полициклических ароматических углеводов (ПАУ), сестон, фотический слой, белок.

### Введение

Экологические исследования в тихоокеанских экспедициях в районе гидрофизического полигона государственного океанографического института наряду с гидрологическими и гидробиологическими проводились и физиолого-биохимические исследования. Исследования активности гидроксилазы полициклических ароматических углеводов проводились, как интегрального показателя эффективности деструкции ароматических соединений.

Из литературы известно накопление полициклических ароматических углеводов в воде, данных отложениях и беспозвоночных из озер Эри, Гурон и Мичиган.

Из-за незначительного содержания ПАУ в данных отложениях, бентосные организмы получают значительную часть ПАУ из воды [1].

Канадские ученые отмечали накопления различных ПАУ в данных отложениях и в тканях ракообразных. При удалении от источников загрязнения содержание ПАУ уменьшается [2].

Фототоксичность бензо[а]пирена

для водорослей описана в работе американских ученых.

ПАУ и метаболиты бензо[а]пирена фототоксичны для *Selenastrum capricornutum* при освещении светом длиной волны меньше 550 нм [3].

В настоящее время интенсивно проводятся исследования активности различных ферментов, наряду с ферментами эндоплазматического ретикула биотрансформирующих ПАУ, для создания биохимического мониторинга в пресноводных и морских акваториях [4, 5, 6].

Активность бензо[а]пиренгидроксилазы сестона определяли на гидрофизическом полигоне в Тихом океане. На разрезе по 133° з.д. с 5° с.ш. по 16° с.ш. и на полигоне с координатами 131° 20' з.д., 12° с.ш.; 133° 20' з.д., 12° с.ш.; 133° 20' з.д., 16° с.ш.

### Объекты и методы исследования

В 44-м рейсе НИСП «Григорий Ушаков» в район гидрофизического полигона государственного океанографического научно-исследовательского института

Таблица 1

**Активность бензо[а]пиренгидроксилазы в сестоне  
ОЕ (ОП·мг<sup>-1</sup>белка·мин<sup>-1</sup>)·10<sup>-5</sup> (P < 0,05)**

№ станции	Координаты	Дата	Время	Поверхность
				M ± m
1	130° з.д. 5° с.ш.	28.05	16.00	41,0 ± 11,0
2	133° з.д. 5° с.ш.	30.05	09.00	107,0 ± 5,4
3	133° з.д. 7° с.ш.	31.05	14.00	49,0 ± 9,8
4	133° з.д. 9° с.ш.	01.06	07.00	20,0 ± 3,5
5	133° з.д. 11° с.ш.	01.06	23.00	106,0 ± 20,0
6	133° з.д. 12° с.ш.	02.06	13.00	122,0 ± 11,0
7	131° з.д. 12° с.ш.	08.06	23.30	47,0 ± 7,6
8	132° з.д. 14° с.ш.	09.06	22.15	42,0 ± 4,4
9	132° з.д. 12° с.ш.	10.06	16.20	74,0 ± 5,8
10	133° з.д. 12° с.ш.	11.06	00.30	15,0 ± 3,7
11	133° з.д. 14° с.ш.	12.06	11.30	34,0 ± 4,7
12	133° з.д. 16° с.ш.	13.06	08.00	93,0 ± 4,2
13	132° з.д. 16° с.ш.	14.06	21.00	14,0 ± 2,5

в северо-восточной тропической зоне Тихого океана наряду с гидрологическими и гидробиологическими исследованиями, были проведены и биохимические эксперименты. Определялась активность гидроксилазы ПАУ, как показателя фонового загрязнения и содержание белка, характеризующего продуктивность в фотическом слое.

Сестон отбирался с поверхностного по общепринятой методике [7].

Активность гидроксилазы ПАУ определяли по методу Nebert etc. [8] в нашей модификации, которая базируется на измерении интенсивности флуоресценции 3-оксибензо[а]пирена, который образуется в результате реакции гидроксилирования.

Оптическую плотность экстракта регистрировали на спектрофотометре СФ-26 с длиной волны 336 нм против контроля. Контролем служил экстракт смеси с бензо[а]пиреном без инкубации.

Активность бензо[а]пиренгидроксилазы выражали в относительных единицах ОЕ (ОП·мг<sup>-1</sup>белка·мин<sup>-1</sup>) 10<sup>-5</sup> [8].

Белок определяли по методу Лоури (Lowry et al.) [9]. Полученные данные подвергали вариационно-статисти-

ческой обработке [10].

**Результаты и их обсуждение**

Поверхностный слой в этой зоне развит до глубины 60-70 м, что характерно для восточных районов экваториальной структуры. Интенсивное выпадение осадков превышает испарение. Как следствие, поверхностный слой относительно опреснен, значение солености в нем изменяются в диапазоне 33,56 – 34,66 ‰.

Скорость реакции гидроксилирования бензо[а]пирена, которая катализируется гидроксилазами сестона определяли в образцах, отобранных на 13 станциях разреза и полигона в поверхностном слое в конце мая в начале июня в разное время суток.

Этот метод используется для ранней диагностики выявления антропогенной нагрузки на водные экосистемы [4, 5].

На разрезе, пересекающем внутритропический гидрофронт (табл. 1), активность гидроксилазы бензо[а]пирена изменилась от 20,0 ± 3,5 до 49,0 ± 9,8 и 41,0 ± 11,0 ОЕ на станциях 4, 3, 1 до 106,0 ± 20,0 и 107,0 ± 5,4 ОЕ на станциях 5 и 2 соответственно.

На гидрофизическом полигоне ак-

тивность гидроксилазы бензо[а]пирена в сестоне была следующей (табл. 1). На станциях 10, 11, 8, 7 она колебалась от  $15,0 \pm 3,7$  до  $47,0 \pm 7,6$  ОЕ. В то же время на станциях 6, 9, 12, 13 она была в 2-3 раза выше и данные  $14,0 \pm 2,5$  ОЕ на станции 13 ( $132^\circ$  з.д.  $16^\circ$  с.ш.) расположенной в северо-западной части гидрофизического полигона.

Из всех полученных групп данных на разрезе и полигоне в течение суток

явно видна тенденция к уменьшению активности гидроксилазы ПАУ в сестоне.

Содержание белка определялось на 6 станциях разреза (Табл. 2) и 18 станциях полигона (табл. 3).

Содержание общего белка в сестоне поверхностного фотического слоя на разрезе, пересекающем внутритропический гидрофронт, было довольно однородно и колебалось в пределах от  $2,18 \pm 0,15$  мг·л<sup>-1</sup> на станции 4 до  $4,75 \pm$

Таблица 2

Содержание общего белка в сестоне поверхностного слоя на разрезе,  $M \pm m$ ; мг·л<sup>-1</sup> ( $P < 0,05$ )

№ станции	Координаты	Дата	Время	$M \pm m$
1	$130^\circ$ з.д. $5^\circ$ с.ш.	28.05	16.00	$4,75 \pm 1,30$
2	$133^\circ$ з.д. $5^\circ$ с.ш.	30.05	09.00	$2,81 \pm 0,48$
3	$133^\circ$ з.д. $7^\circ$ с.ш.	31.05	14.00	$29,0 \pm 0,46$
4	$133^\circ$ з.д. $9^\circ$ с.ш.	01.06	07.00	$2,18 \pm 0,15$
5	$133^\circ$ з.д. $11^\circ$ с.ш.	01.06	23.00	$4,02 \pm 1,11$
6	$133^\circ$ з.д. $12^\circ$ с.ш.	02.06	13.00	$3,37 \pm 1,10$

Таблица 3

Содержание общего белка в сестоне на горизонтах гидрофизического полигона мг·л<sup>-1</sup> ( $P < 0,005$ )

№	Координаты	Дата	Время	$M \pm m$				
				Поверхн.	ВГТ	НГТ		
7	$131^\circ$ з.д. $13^\circ$ с.ш.	8.06	11.30	$0,8 \pm 0,4$	35 м	$0,78 \pm 0,05$	150 м	$1,60 \pm 0,41$
8	$131^\circ$ з.д. $12^\circ$ с.ш.	8.06	23.30	$2,35 \pm 0,30$	40 м	$2,53 \pm 0,07$	140 м	$3,55 \pm 0,51$
9	$132^\circ$ з.д. $14^\circ$ с.ш.	9.06	22.15	$2,25 \pm 0,16$	60 м	$2,30 \pm 0,41$	150 м	$2,50 \pm 0,11$
10	$132^\circ$ з.д. $13^\circ$ с.ш.	10.06	08.00	$1,55 \pm 0,52$	45 м	$1,98 \pm 0,19$	135 м	$2,38 \pm 0,36$
11	$132^\circ$ з.д. $12^\circ$ с.ш.	10.06	16.30	$1,70 \pm 0,11$	40 м	$1,43 \pm 0,26$	145 м	$1,55 \pm 0,27$
12	$133^\circ$ з.д. $12^\circ$ с.ш.	11.06	00.30	$1,63 \pm 0,38$	60 м	$1,35 \pm 0,06$	140 м	$1,10 \pm 0,22$
13	$133^\circ$ з.д. $13^\circ$ с.ш.	11.06	17.00	$1,55 \pm 0,60$	70 м	$1,93 \pm 0,37$	170 м	$1,65 \pm 0,16$
14	$133^\circ$ з.д. $14^\circ$ с.ш.	12.06	11.30	$1,90 \pm 0,50$	60 м	$1,80 \pm 0,41$	150 м	$1,55 \pm 0,30$
15	$133^\circ$ з.д. $15^\circ$ с.ш.	12.06	22.30	$1,60 \pm 0,25$	70 м	$1,73 \pm 0,11$	150 м	$1,90 \pm 0,29$
16	$133^\circ$ з.д. $16^\circ$ с.ш.	13.06	08.00	$2,10 \pm 0,74$	55 м	$1,85 \pm 0,47$	160 м	$2,10 \pm 0,56$
17	$132^\circ$ з.д. $15^\circ$ с.ш.	14.06	10.00	$0,68 \pm 0,06$	80 м	$0,90 \pm 0,1$	155 м	$1,00 \pm 0,08$
18	$132^\circ$ з.д. $16^\circ$ с.ш.	14.06	21.00	$0,63 \pm 0,08$	85 м	$2,50 \pm 0,63$	195 м	$0,75 \pm 0,05$

1,3 мг·л<sup>-1</sup> на станции 1 с координатами 133° з.д. 9° с.ш. и 130° з.д. 5° с.ш. соответственно (табл. 2).

На гидрофизическом полигоне содержание общего белка определялось в сестоне поверхностного фотического слоя в пределах 0,63 ± 0,8 мг·л<sup>-1</sup> на севере полигона и до 2,35 ± 0,20 мг·л<sup>-1</sup> на юге полигона (табл. 3).

На станциях 8 (131° з.д. 12° с.ш.); 9 (132° з.д. 14° с.ш.) и 16 (133° з.д. 16° с.ш.) содержание общего белка в сестоне было следующее: 2,35 ± 0,31 мг·л<sup>-1</sup>; 2,25 ± 0,16 мг·л<sup>-1</sup> и 2,10 ± 0,74 мг·л<sup>-1</sup> соответственно. На станциях 10 (132° з.д. 13° с.ш.), 11 (132° з.д. 12° с.ш.), 12 (133° з.д. 12° с.ш.), 13 (133° з.д. 13° с.ш.) 14 (133° з.д. 14° с.ш.), 15 (133° з.д. 15° с.ш.) содержание белка в сестоне поверхностного слоя определялось в пределах от 1,55 ± 0,60 мг·л<sup>-1</sup> до 1,90 ± 0,50 мг·л<sup>-1</sup>. На станциях 7 (131° з.д. 13° с.ш.), 17 (132° з.д. 15° с.ш.), 18 (132° з.д. 16° с.ш.) содержание белка было меньше 1 мг·л<sup>-1</sup>.

### Выводы

1. Ранняя диагностика загрязнения водной среды полициклическими соединениями дает возможность с помощью гидроксилазы ПАУ оценить степень антропогенной нагрузки.
2. Фоновая активность бензо[а]пирен-гидроксилазы ПАУ в летний период может быть использована для дальнейших исследований на гидрофизическом полигоне.
3. Содержание белка в сестоне фотического слоя отражает продуктивность и может быть использовано при биомониторинге в тропической зоне Тихого океана.

### Литература

1. Eadie B.I., Fanst., Landrum P.F. 1983, «Bioconcentrations of PAH by some benthic organisms of the Truett Takes» // Polycyclic Arom Hydrocarbons: Form Metabolism and Meas. Prac 7<sup>th</sup> Int. Symp. Columbus. oct.

26-28, 1982. Columbus Pichland, pp. 437-449.

2. Sitora J.R., Uthe I.F., Srudnaran A. et. all. 1983. «Polynuclear aromatic hydrocarbons in lobster and sediments in the vicinity of a coking facility» // Polynucl. Arom Hydrocarbons Form Metabolism and Meas. Prac 7<sup>th</sup> Int. Symp. Columbus. oct. 26-28, 1982. Columbus Pichland, pp. 1122-1136.
3. Caly T.E., Radike M.I., Warchawski, 1984. «The phototoxicity of benzo[a]pyrene in the green alga *Sebastrum capricornutum*», Environ Res, Vol. 35, № 1, pp. 122-123.
4. Rond J.A., Butler M.M., Medinsky et. all. 1984, «Pog pulmonary macrophage metabolism of free and particle associated [<sup>14</sup>C] benzo[a]pyrene», I. Toxicol and Environ Health, Vol. 14, № 2-3, pp. 181-189.
5. Коломейченко Г.Ю. Адаптация: внутриклеточные механизмы / Г.Ю. Коломейченко, О.А. Семенова. – Одесса, 2010 – 88 с.
6. Коломейченко Г.Ю. Ранняя диагностика состояния водоёмов / Г.Ю. Коломейченко, С.А. Петров, О.А. Семенова. – Одесса, 2012 – 13 с. «(In Russian)»
7. Цибань А.В. Руководство по методам анализа морской воды и донных отложений / А.В. Цибань. Гидролит. Издат. – 1980 – 182 с.
8. Nebert D.W., Telboin H.W. 1968, «Substrate inducible microsomal aryl hydrocarbon hydroxylase in mammalian cells culture», I. Assay and purification of induced enzyme I. Biol. Chem., Vol. 1243. № 23, pp. 6242-6249.
9. Lowry O.H. 1951, «Protein measurement with the folin – Phenol reagent», I. Biol. Chem, Vol. 193. № 3, pp. 265-274.
10. Гордон А. Спутник химика // А. Гордон, Р. Форд-М: Мир, 1976, с. 514-513.

### References

1. Eadie B.I., Fanst., Landrum P.F. 1983, «Bioconcentrations of PAH by some benthic organisms of the Truett Takes» // Polycyclic Arom Hydrocarbons: Form Metabolism and Meas. Prac 7<sup>th</sup> Int. Symp. Columbus. oct. 26-28, 1982. Columbus Pichland, pp. 437-449.
2. Sitora J.R., Uthe I.F., Srudnaran A. et. all. 1983. «Polynuclear aromatic hydrocarbons in lobster and sediments in the vicinity of a coking facility» // Polynucl.

- Arom Hydrocarbons Form Metabolism and Meas. Prac 7th Int. Symp. Columbus. oct. 26-28, 1982. Columbus Pichland, pp. 1122-1136.
3. Caly TE, Radike MI, Warchawski, 1984. «The phototoxicity of benzo [a] pyrene in the grien alga *Sebnastrum capriornutum*», *Enviran Res*, Vol. 35, № 1, pp. 122-123.
  4. Rond J.A., Butler M.M., Medinsky et. all. 1984, «Pog pulmonary macrophage metabolism of free and particle associated [14C] benzo [a] pirene», I. *Toxical and Enviran Heacith*, Vol. 14, № 2-3, pp. 181-189.
  5. Kolomeychenko GY Adaptation: intracellular mechanisms / GY Kolomeychenko, OA Semenov. - Odessa, 2010 - 88. (In Rus.)
  6. Kolomeychenko GY Early diagnosis sostoyaniya reservoirs / GY Kolomeychenko, SA Petrov, O. Semenov. - Odessa, 2012. - 13 p. (In Rus)
  7. A.V. Tsibanev. Manual methods of analysis of seawater and sediment / AV Tsibanev. *Hydrological. Izdat.* - 1980 - 182 p. «(In Russian)»
  8. Nebert D.W., Telboin H.W. 1968, «Substratein ducible microsomal aryb hydrocarbon hydroxybase in mamalion celts culture», I. Assay and proreilise indused enzyme I. *Biol. Chem.*, Vol. 1243. № 23, pp. 6242-6249.
  9. Lowry O.H. 1951, «Protein meagurment With the folin - Phenol meagent», I. *Biol. Chem*, Vol. 193. № 3, pp. 265-274.
  10. Gordon A. *Satellite chemist* // A. Gordon R. Ford M: Mir, 1976, p. 514-513. (In Rus.)».

### Резюме

#### БЕНЗО[А]ПІРЕНГІДРОКСИЛАЗНА АКТИВНІСТЬ СЕСТОНУ НА ГІДРОФІЗИЧНОМУ ПОЛІГОНІ ЕКВАТОРІАЛЬНОЇ ЗОНИ ТИХОГО ОКЕАНУ

*Колемейченко Г.Ю., Петров С.А.*

Приведені результати вмісту білка в сестоні фотичного шару відображає продуктивність і може бути використане при біомоніторингу в тропічній зоні Тихого океану. Фонова активність бензо[а]піренгідроксилази поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ) в літній період може бути використана для по-

дальших досліджень на гідрофізичному полігоні. Запропонований метод може служити раннедіагностичним показником забруднення водного середовища поліциклічними сполуками і дає можливість за допомогою гідроксилази ПАВ оцінити міру антропогенного навантаження.

**Ключові слова:** *бензо[а]пірен, гідроксилаза поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ), сестон, фотичний шар, білок.*

### Summary

#### BENZO[A]PYRENE HYDROXYLASE ACTIVITY OF SESTON ON THE GIDROPHYSICAL GROUND OF EQUATORIAL AREA OF THE PACIFIC OCEAN

*Kolomeychenko G.Yu., Petrov S.A.*

The results of maintenance of albumen are resulted in the seston of фотического of layer reflects the productivity and can be used for a biomonitoring in the tropical area of the Pacific Ocean. Base-line activity of benzo[a]pyrene hydroxylase PAHH in a summer period can be used for further researches on a gidrophysical ground. The offered method can serve as the early diagnostic index of contamination of water environment polycyclic connections and enables by hydroxylase of PAHH to estimate the degree of the anthropogenic loading.

**Keywords:** *benzo[a]pyrene hydroxylase, polycyclic aromatic hydrocarbons hydroxylase, seston, photic layer, albumen.*

*Впервые поступила в редакцию 07.08.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*