

УДК: 574.52(265.2)

**Активность гидроксилазы полициклических ароматических углеводородов сестона (тропическая зона Тихого океана)**  
**Г.Ю.Коломейченко, С.А.Петров**

*Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова (Одесса, Украина)*  
*Xenia2002@mail.ru*

Приведены результаты определения активности бензо[а]пиренгидроксилазы сестона поверхности вод северо-восточной части тропической зоны Тихого океана. Полученные данные использованы для оценки метаболизма бензопиренов экосистемами пелагиали. Предложенный метод может служить раннедиагностическим показателем способности гидробионтов метаболизировать полициклические ароматические углеводороды.

**Ключевые слова:** *бензо[а]пиренгидроксилаза, активность, сестон, тропическая зона, пелагиаль, экосистема.*

**Активність гідроксилази поліциклічних ароматичних вуглеводнів сестону (тропічна зона Тихого океану)**  
**Г.Ю.Коломєйченко, С.А.Петров**

Наведені результати визначення активності бензо[а]піренгідроксилази сестону поверхні води північно-східної частини тропічної зони Тихого океану. Отримані дані використані для оцінки метаболізму бензопіренів екосистемами пелагіалі. Запропонований метод може слугувати первиннодіагностичним показником здатності гідробіонтів метаболізувати поліциклічні ароматичні вуглеводні.

**Ключові слова:** *бензо[а]піренгідроксилаза, активність, сестон, тропічна зона, пелагіаль, екосистема.*

**Activity of seston polycyclic aromatic hydrocarbons hydroxylase (the tropical zone of the Pacific Ocean)**  
**G.Yu.Kolomeychenko, S.A.Petrov**

There have been given the results of the study of seston benzo[a]pyrene hydroxylase activity in water surface of the northeastern part of the tropical zone of the Pacific Ocean. The data obtained have been used for estimation of benzopyrenes metabolism by pelagial ecosystems. The proposed method can serve as an early diagnostic parameter of hydrobionts' ability to metabolize polycyclic aromatic hydrocarbons.

**Key words:** *benzo[a]pyrene hydroxylase, activity, seston, tropical zone, pelagial, ecosystem.*

**Введение**

Вулканическая деятельность обуславливает присутствие полициклических ароматических углеводородов в атмосфере, почве, воде.

Кроме природного содержания полициклических ароматических углеводородов, в биосфере присутствуют углеводороды техногенного происхождения.

Проводимое определение количества бензо[а]пиренов в биосфере, как и других полициклических ароматических углеводородов, недостаточно для оценки их опасности для гидробионтов (Бикорз и др., 1985). Представляется особенно важным определение способности гидробионтов их метаболизировать.

Степень загрязнения водной среды достигла таких размеров, что первоочередной задачей стало исследование не только гидробиологических параметров, но и определение ферментативной активности вод (Гинько, 1984), грунтов и тканей гидробионтов (Нечесов, Нечесова, 1984; Гинько, 1984).

У гидробионтов цитохром Р-450-зависимая монооксигеназа метаболизирует полициклические ароматические углеводороды, что приводит к детоксикации этих соединений. Этот процесс на ключевом этапе поддается определению.

Для ранней диагностики состояния водной экосистемы необходима биохимическая оценка ферментативных систем гидробионтов, их реакции в частности на наличие полициклических ароматических углеводородов (Базелян, Коломейченко, 1986).

Измеряя начальную скорость реакции гидроксилирования поллютанта, не зависящую от концентрации субстрата и определяющуюся количеством и активностью фермента (Агатова, 1980), можно сравнить его функционирование в разных природных объектах, в разные временные и пространственные периоды.

#### Материалы и методы исследования

Нами определялась активность бензо[а]пиренгидроксилазы в сестоне поверхностного перемешанного слоя пелагиали северо-тропической восточной зоны Тихого океана.

Определение активности фермента гидроксилазы полициклических углеводородов проводили по методу Jelboin (1968).

Активность фермента выражалась в относительных единицах –

ОЕ – оптическая плотность · мг<sup>-1</sup>белка·мин<sup>-1</sup> в 1 литре.

Белок определяли по методу Лоури (Lowry et al., 1951).

#### Результаты и обсуждение

В зимне-весенний период было установлено, что скорость гидроксилирования бензо[а]пирена в сестоне значительно колебалась от станции к станции от  $(37 \pm 3,2) \cdot 10^{-5}$  ОЕ до  $(620 \pm 63,0) \cdot 10^{-5}$  ОЕ (табл. 1).

Таблица 1.

Активность бензо[а]пиренгидроксилазы в сестоне фотического слоя рудной провинции Клариион-Клипертон в зимне-весенний период, ОЕ(ОП·мг<sup>-1</sup>белка·мин<sup>-1</sup> в 1 литре)·10<sup>-5</sup> (n=10)

№ станции	Координаты станции		ОЕ·10 <sup>-5</sup>
	з.д.	с.ш.	
27	137° 36'	12° 05'	95 ± 2,7
28	137° 32'	12° 04'	85 ± 2,7
29	137° 32'	12° 05'	65 ± 3,1
30	137° 34'	12° 01'	60 ± 2,9
31	137° 39'	12° 03'	37 ± 3,2
32	137° 34'	12° 00'	64 ± 0,7
33	137° 32'	11° 59'	184 ± 22,3
34	137° 30'	11° 56'	179 ± 31,7
35	137° 31'	12° 04'	145 ± 14,2
36	137° 31'	12° 08'	620 ± 63,0
37	137° 35'	12° 09'	125 ± 3,2
38	137° 36'	12° 07'	145 ± 14,1
39	137° 36'	12° 06'	66 ± 3,2
40	137° 36'	12° 07'	99 ± 5,1
41	137° 35'	12° 05'	60 ± 2,2
42	137° 28'	12° 11'	90 ± 3,2
43	137° 28'	12° 12'	80 ± 2,2
44	137° 29'	12° 07'	380 ± 37,5
45	137° 33'	12° 10'	381 ± 14,0
46	137° 44'	12° 06'	320 ± 35,0
47	137° 25'	12° 15'	151 ± 14,0

На большинстве станций скорость гидроксилирования колебалась от  $75 \cdot 10^{-5}$  до  $210 \cdot 10^{-5}$  ОЕ.

Активность исследуемого фермента в этот период изменялась во времени. В начале марта она была низкой, к середине марта – повышалась, затем опять понижалась и к концу месяца опять

увеличивалась. Уровень активности гидроксилазы полициклических ароматических углеводородов в зимне-весенний период в поверхностных водах в среднем составлял  $220 \cdot 10^{-1}$  ОЕ.

Летом в экспедиции на меридионально-субэкваториальном разрезе с юга на север (840 миль), проходящем через гидрофронт, а также на гидрофизическом полигоне площадью в  $52 \text{ км}^2$  было проведено исследование активности фермента бензо[а]пиренгидроксилазы.

Полученные данные показали, что на меридионально-субэкваториальном разрезе скорость реакций гидроксилирования бензо[а]пирена в сестоне варьировала от  $15 \cdot 10^{-5}$  до  $180 \cdot 10^{-5}$  ОЕ.

На южных станциях меридионально-субэкваториального разреза с координатами от  $5^\circ$  с.ш. до  $16^\circ$  с.ш. по  $130^\circ$ – $133^\circ$  з.д. в гидрофронте происходит подъем глубинных вод, что приводит к понижению активности фермента.

На гидрофизическом полигоне между  $131^\circ$  з.д. и  $133^\circ$  з.д. и между  $12^\circ$  с.ш. и  $16^\circ$  с.ш. активность бензо[а]пиренгидроксилазы в поверхностных водах фотического слоя определялась на семи станциях, расположенных на расстоянии 60–120 миль друг от друга.

Вариабельность результатов находилась в пределах от  $10 \pm 01 \cdot 10^{-5}$  до  $140 \pm 53 \cdot 10^{-5}$  ОЕ. Можно отметить, что максимум активности гидроксилазы полициклических ароматических углеводородов определялся в северной части исследуемого района, тогда как с продвижением на запад наблюдалось снижение ферментативной активности.

В экспедиции, проводившейся в октябре–ноябре, определялась активность гидроксилазы полициклических ароматических углеводородов в сестоне на 13 станциях гидрофизического полигона площадью  $105 \text{ км}^2$  (расстояние между станциями 60–120 миль). Реакция гидроксилирования бензо[а]пирена гидроксилазами сестона верхнего перемешанного фотического слоя варьировала от  $(12 \pm 3) \cdot 10^{-5}$  до  $(78 \pm 12) \cdot 10^{-5}$  ОЕ на разных станциях (табл. 2).

Таблица 2.

Активность бензо[а]пиренгидроксилазы на гидрофизическом полигоне в осенний период, ОЕ(ОП·мг<sup>-1</sup>белка·мин<sup>-1</sup> в 1 литре)· $10^{-5}$  (n=10)

№ станции	Координаты станции		ОЕ· $10^{-5}$
	з.д.	с.ш.	
5	131° 19'	14° 22'	18 ± 4,0
7	131° 30'	14° 00'	27 ± 5,0
9	133° 30'	12° 00'	18 ± 2,0
10	133° 30'	14° 00'	12 ± 0,4
13	133° 30'	16° 00'	40 ± 9,0
15	132° 30'	15° 00'	51 ± 2,0
18	131° 30'	13° 00'	78 ± 12,0
20	131° 30'	12° 00'	51 ± 11,0
21	130° 30'	16° 00'	35 ± 6,0
22	130° 30'	15° 00'	43 ± 5,0
23	130° 30'	13° 00'	12 ± 3,0
24	129° 30'	12° 00'	13 ± 3,0
25	129° 30'	14° 00'	14 ± 2,0
26	129° 30'	16° 00'	32 ± 7,0

В этих исследованиях зафиксировано повышение активности фермента на юге полигона более чем в два раза, по сравнению с центральной и северной частями исследуемой акватории.

В юго-западной и юго-восточной части полигона активность бензо[а]пиренгидроксилазы была ниже в 3–4 раза, чем в центральном исследуемом районе. По-видимому, это можно объяснить динамикой пространственно-поверхностных вод в осенний период.

В данном исследовании обнаружена также суточная динамика изменения активности фермента. Так, осенью этот показатель понижается в светлое время суток и обуславливается вертикальной миграцией зоопланктона. В то же время обнаружено, что летом активность максимальна в полдень и затем понижается в течении суток. Это, наверное, связано с распределением фитопланктона в фотическом переменном слое.

Материалы трех экспедиций показали вариабельность активности гидроксилазы полициклических углеводов. В июне месяце средняя активность составляла  $68 \cdot 10^{-5}$  ОЕ, в октябре–ноябре –  $35 \cdot 10^{-5}$  ОЕ. Эти данные более чем в 3–6 раз были ниже активности фермента, определяемой в марте.

Очевидно, сезонная изменчивость активности связана с сезонной динамикой численности планктона.

Исследование активности бензо[а]пиренгидроксилазы в сестоне тропической зоны Тихого океана показало ее пространственно-временную изменчивость в зависимости от динамики планктона.

Из вышеприведенного можно сделать заключение, что бензо[а]пиренгидроксилазная активность является чувствительным тестом. Изменение ее активности необходимо применять для ранней диагностики способности гидробионтов метаболизировать полициклические соединения.

### Выводы

1. Изменение фоновой активности бензо[а]пиренгидроксилазы полициклических ароматических углеводов сестона тропической зоны Тихого океана показало, что активность гидроксилазы полициклических ароматических углеводов определяется пространственно-временными параметрами, видовым составом и динамикой планктона.
2. Бензо[а]пиренгидроксилаза может служить чувствительным тестом на присутствие полициклических ароматических углеводов в следовых количествах.
3. Изменение цитохром Р-450-зависимой гидроксилазной системы на примере бензо[а]пиренгидроксилазы полициклических ароматических углеводов целесообразно использовать для оценки способности гидробионтов метаболизировать полициклические соединения.

### Список литературы

- Агатова Л.И. Рекомендации по определению активности некоторых ферментов в планктоне, взвеси, активном слое осадка и поровых водах. – Москва, 1980. – С.24. /Agatova L.I. Rekomendatsii po opredeleniyu aktivnosti nekotorykh fermentov v planktone, vzvesi, aktivnom sloye osadka i porovykh vodakh. – Moskva, 1980. – S.24./
- Базелян В.Л., Коломийченко Г.Ю. Ферментативные методы в ранней диагностике состояния водных экосистем // Биоиндикация и биотестирование природных вод. – Ростов-на-Дону, 1986. – С. 80–81. /Bazelyan V.L., Kolomyichenko G.Yu. Fermentativnyye metody v ranney diagnostike sostoyaniya vodnykh ekosistem // Bioindikatsiya i biotestirovaniye prirodnykh vod. – Rostov-na-Donu, 1986. – S. 80–81./
- Бикорз А.И., Рубенчик Б.Л., Слепян З.И. Экология и рак. – Киев: Наук. думка, 1985. – 256с. /Bikorz A.I., Rubenchik B.L., Slepian Z.I. Ekologiya i rak. – Kiyev: Nauk. dumka, 1985. – 256s./
- Гинько И.В. Ферментативная активность в воде озер различной трофности. – Ереван, 1984. – С. 301–302. /Gin'ko I.V. Fermentativnaya aktivnost' v vode ozer razlichnoy trofnosti. – Yerevan, 1984. – S. 301–302./
- Нечесов И.И., Нечесова О.И. Ферментативная активность грунтов озера Байкал // Лимнология горных водоемов: Тезисы докладов всесоюзного совещания. – Ереван, 1984. – С. 188–189. /Nechesov I.I., Nechesova O.I. Fermentativnaya aktivnost' gruntov ozera Baykal // Limnologiya gornykh vodoyemov: Tezisy dokladov vsesoyuznogo soveshchaniya. – Yerevan, 1984. – S. 188–189./
- Jelboin A.V. Substrate inducible microsomal aryl hydrocarbon hydroxylase in mammalian cell culture. 1 Assay and properties of induced enzyme // J. Biol. Chem. – 1968. – Vol.1248, №23. – P. 6242–6249.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Fan A.Z., Randol R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol.193, №3. – P. 265–275.

Представлено: А.П.Левицкий / Presented by: A.P.Levitskiy

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 25.04.2012