

*На правах рукописи*



Ковыршина Татьяна Борисовна

**ПРИМЕНЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ БЫЧКА-КРУГЛЯКА (*NEOGOBIOUS  
MELANOSTOMUS* (PALLAS, 1814)) ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО  
СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ ВОД ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ**

03.02.10 – гидробиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Севастополь, 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки  
«Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН»  
(ФГБУН ИМБИ) (г. Севастополь)

**Научный руководитель:**

**Руднева Ирина Ивановна**, доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Филенко Олег Федорович**, доктор биологических наук, профессор кафедры гидробиологии, биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

**Голованова Ирина Леонидовна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экологии рыб Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН»

**Ведущая организация:**

Школа естественных наук Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», г Владивосток

Защита состоится «31» мая 2017 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 900.009.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского Российской академии наук» по адресу: 299011, г. Севастополь пр. Нахимова, 2; конференц-зал. e-mail: [dissovet@imbr-ras.ru](mailto:dissovet@imbr-ras.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского Российской академии наук» по адресу: 299011, г. Севастополь пр. Нахимова, 2, и на сайте по адресу: <http://imbr-ras.ru/?p=5244>

Автореферат разослан ..... 2017 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Поспелова Н.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Оценка качества водных объектов и последствий хронического антропогенного прессинга на биоту является важнейшей проблемой гидробиологии. Для решения этой проблемы, наряду с гидробиологическими методами, в настоящее время широко применяются методы комплексной экотоксикологической оценки акваторий, основанной на способности организмов реагировать на изменения физических, химических и биологических характеристик среды обитания, что проявляется на всех уровнях их биологической организации (Руднева, 2006; Филенко, 2007).

Реализация экотоксикологического подхода в гидробиологии предполагает выбор ключевых компонентов в экосистеме, играющих важную роль в трофических цепях, имеющих промысловое значение или относящихся к индикаторным видам, за которыми ведутся длительные наблюдения, а изменения анализируются в заданный период времени с учетом действующих факторов (Galloway, 2006). В этом отношении рыбы являются наиболее оптимальными объектами, так как относятся к позвоночным и занимают вершину трофической цепи. Негативные изменения в их организме позволяют оценить степень загрязнения природных вод и кумулятивные эффекты, сформировать представление о потенциальной опасности групп веществ, поступающих в водоемы, в том числе и для здоровья человека. Именно поэтому в ряде крупных международных проектов (MOLAR, LIMPACs, AMAP, ICP-Water и др.) для оценки экологических последствий загрязнения водной среды предпочтение отдают исследованию рыб (Хубларян, Моисеенко, 2009). Для этих целей используют малоподвижные донные формы с хорошо изученной биологией и повсеместно распространенные в водоеме (Руднева и др., 2005).

Присутствие токсикантов в среде приводит к их накоплению в тканях рыб и развитию ранних биологических эффектов, проявляющихся в первую очередь на молекулярном и клеточном уровнях. Накопление этих изменений является причиной структурно-функциональных изменений органов, тканей и систем, лежащих в основе развития патологий. Экотоксикологическая оценка предполагает изучение комплекса подобных изменений с применением соответствующих биоиндикаторов и биомаркеров (Van der Oost et al., 2003; Sole et al., 2009; Руднева и др., 2011; Li et al., 2011), что позволяет дать комплексную диагностику статуса морских акваторий, разработать систему оценки экологического риска и мероприятия по восстановлению экосистем (Ababouch, 2006).

Среди наиболее информативных биомаркеров, позволяющих оценить физиологическое состояние рыб и качество среды их обитания, выделяют показатели антиоксидантной (АО) ферментативной системы, индукция

активности которых является неспецифической формой ответа организма на действие стресс-факторов, и показатели окислительной модификации белков (ОМБ), являющихся ранними индикаторами патологического белкового метаболизма при окислительном стрессе (Van der Oost et al., 2003; Руднева и др., 2011; Li et al., 2011). При этом изменения, происходящие на молекулярном уровне, отражаются и на организменном, что проявляется в снижении размерно-массовых характеристик рыб, изменении значений физиологических индексов, характерных для особей из акваторий, испытывающих длительное антропогенное воздействие (Руднева и др., 2005; Kuzminova et al., 2011; Микодина, Шатуновский, 2013).

В настоящее время применение биомаркеров для анализа экологического состояния акваторий узаконено в международных и национальных мониторинговых программах: в Международной программе по химической безопасности ВОЗ (IPCS), SETAC, Агентством по охране окружающей среды США, Европейской Комиссией и Организацией экономического сотрудничества и развития для разработки интегральной оценки риска для человека и среды его обитания. Биомаркеры внедрены в мониторинговые программы в Северной Америке, Европе, Австралии и Новой Зеландии. Аналогичная практика была использована при оценке экологического состояния территориальных вод России в прибрежной части Черного моря, где в качестве биомониторного вида был выбран морской ерш *Scorpaena porcus* (Linnaeus, 1758) (Овен и др., 2000; Скуратовская, 2009; Rudneva et al., 2012; Экотоксикологические исследования..., 2016). В Азовском море подобные работы почти не проводились, поэтому данный аспект представляет интерес для изучения. В этом отношении бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) является оптимальным объектом, доступным для исследований в обоих морях, так как отвечает требованиям, предъявляемым к биомониторным видам и обладает высокими адаптивными способностями (Москалькова, 1996; Солдатов и др., 2004).

В то же время биохимический статус и обмен веществ любого организма определяется генетическими особенностями вида, а также специфическими метаболическими адаптациями к конкретным условиям среды. Таким образом, исследование комплекса биомаркеров у представителей одного вида, обитающих в разных экологических условиях имеет важное значение для выявления общих механизмов адаптации и разработки системы оценки экологического состояния морской среды.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы – изучить возможность использования биомаркеров бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) для оценки экологического состояния прибрежных акваторий Черного и Азовского морей.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

1. изучить белковый состав сыворотки крови бычка-кругляка из акваторий Черного и Азовского морей с разным уровнем загрязнения;
2. оценить сезонные, возрастные и половые особенности биомаркеров крови бычка-кругляка из двух морей;
3. изучить отклики биомаркеров рыб из прибрежных акваторий Черного и Азовского морей с разным уровнем загрязнения с учетом долговременных тенденций;
4. установить зависимость между биомаркерами крови и концентрацией токсичных элементов в мышцах бычка-кругляка из побережья г. Севастополя;
5. оценить степень влияния изучаемых факторов на исследуемые показатели и информативность биомаркеров для использования их в мониторинговых программах.

**Научная новизна.** Впервые проведена сравнительная экотоксикологическая оценка многолетней динамики изменений комплекса биомаркеров бычка-кругляка из прибрежных районов г. Севастополя и Арабатского залива Азовского моря. Установлена однотипность реакций биомаркеров рыб из разных акваторий Черного и Азовского морей на действие хронического комплексного загрязнения среды обитания. Активность АО ферментов и содержание окисленных форм белков сыворотки крови возрастали, а размерно-массовые параметры бычка-кругляка из районов исследования в двух морях снижались в 2011-2012 гг. по сравнению с 2003 г.

Показано увеличение содержания продуктов ОМБ в сыворотке крови бычка-кругляка из наиболее загрязненных акваторий, тогда как отклики антиоксидантной системы (АОС) имели неоднозначный характер.

Впервые изучены возрастные и половые особенности состояния тестируемых биомаркеров в популяциях бычка-кругляка из прибрежной зоны Севастополя и юго-западной части Азовского моря, показаны сходство и различия.

Изучена динамика изменения АО активности у бычка-кругляка в разные периоды репродуктивного цикла. Активность большинства АО ферментов увеличивалась в крови самок и самцов рыб из прибрежных районов Севастополя и юго-западной части Азовского моря в преднерестовый и нерестовый периоды. Снижение активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и глутатион-S-трансферазы (ГТ) было отмечено в эритроцитах крови самцов черноморского бычка-кругляка по сравнению с самками во время нереста.

Установлено влияние сезонных изменений гидролого-гидрохимических характеристик природных вод на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка из районов исследования в двух морях. Показано

увеличение активности большинства АО ферментов эритроцитов крови бычка-кругляка из севастопольских акваторий весной, а в Арабатском заливе Азовского моря – летом (СОД, пероксидазы (ПЕР)). Установлено снижение активности КАТ, глутатионредуктазы (ГР) и ГТ летом и увеличение содержания окисленных форм белков в сыворотке крови рыб из севастопольских акваторий в летне-осенний период.

Изучена корреляционная зависимость между биомаркерами крови и концентрацией токсичных элементов (ТЭ) в мышцах бычка-кругляка из побережья Севастополя. Выявлены наиболее чувствительные к содержанию ТЭ в мышцах рыб ферменты.

Доказана эффективность применения представленного в работе комплекса биомаркеров бычка-кругляка для оценки состояния рыб и среды их обитания.

**Методология и методы исследования.** Использован комплекс спектрофотометрических и титрометрических методов определения активности АО ферментов – КАТ, СОД, ПЕР, ГР, ГТ, уровня окислительной модификации белков и концентрации альбумина. Электрофоретический метод определения белкового состава сыворотки крови, ихтиологические методы определения размерно-массовых и морфофизиологических характеристик рыб, статистический и корреляционный анализ.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Снижение активности антиоксидантных (АО) ферментов эритроцитов сопровождается увеличением содержания окисленных форм белков сыворотки крови бычка-кругляка из более загрязненных акваторий.
2. Долговременное загрязнение районов исследования в Черном и Азовском морях приводит к снижению размерно-массовых и морфофизиологических характеристик бычка-кругляка, а также увеличению активности АО ферментов эритроцитов и уровня окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови рыб.
3. Активность АО ферментов эритроцитов и уровень ОМБ сыворотки крови коррелируют с содержанием токсичных элементов в мышцах бычка-кругляка.

**Соответствие паспорту научной специальности.** Результаты диссертационной работы соответствуют области исследования специальности 03.02.10 – гидробиология, конкретно пункту 1 «Исследование влияния факторов водной среды на гидробионтов в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости водных организмов в условиях изменяющихся физико-химических свойств природных вод (в частности, при антропогенном воздействии)» и пункту 7 «Разработка методов экологического мониторинга водных экосистем».

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Комплекс биомаркеров, анализируемых в диссертационной работе, дает возможность получить адекватную информацию о состоянии популяций бычка-кругляка из Черного (в районе Севастополя) и Азовского (Арабатский залив) морей, характеризующихся разными экологическими условиями и уровнем загрязнения.

Полученные результаты имеют важное теоретическое и практическое значение для понимания гидробиологических закономерностей и процессов, происходящих в прибрежных ихтиоценозах в условиях изменяющихся физико-химических свойств природных вод, а также создания научно обоснованной системы анализа качества морской среды, адаптированной для побережья Крыма.

Разработана система оценки экологического состояния морской среды на основе биомаркеров бычка-кругляка, что важно для развития мониторинговых программ и проведения природоохранных мероприятий. Предложен новый биомаркер – уровень окислительной модификации белков, позволяющий оценить состояние рыб и качество среды их обитания (патент № 27484 UA, 2007).

Результаты и методические разработки данной работы использованы в ходе выполнения гранта РФФИ № 14 – 44 – 01044 «Поиск критериев оценки состояния морских прибрежных экосистем севастопольского региона на основе биомаркеров рыб» и включены в программу и содержание дисциплин «Гидробиология» и «Экотоксикология» для аспирантов ФГБУН ИМБИ.

**Личный вклад соискателя.** Диссертационная работа является обобщением результатов исследований автора, проведенных в 2003-2005 гг. и 2009-2012 гг. Тема, цель, задачи, объект, методы и программа исследования определены автором совместно с научным руководителем. Все биохимические анализы, а также статистическая обработка данных проводилась автором лично. Анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и основных защищаемых положений выполнены автором самостоятельно, при направляющем участии научного руководителя.

**Апробация результатов диссертации.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: Всероссийской конференции с участием специалистов из стран Ближнего и Дальнего зарубежья «Современные проблемы водной токсикологии» (Борок, 2004, 2005), научной конференции «Заповедники Крыма» (Симферополь, 2005, 2007), конференции молодых ученых «Понт Эвксинский» III и IV (Севастополь, 2003, 2005), ежегодной Всероссийской конференции «Актуальные проблемы экологии природопользования» (Москва, 2006), Международной научной конференции «Современные проблемы морской инженерной экологии» (Ростов-на-Дону, 2008), II Міжнародній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 2009), Международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных

организмов» (Петрозаводск, 2010), конференции «Современные проблемы водной токсикологии» (Петрозаводск, 2011), международной научной конференции «Водные биоресурсы и аквакультура: современное состояние и перспективы научного обеспечения» (Киев, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природних наук» (Запорожье, 2011), III Международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб» (Борок, 2011), Международной научно-практической конференции «Трансмиссивные болезни животных: актуальные аспекты биобезопасности и контроля» (Алушта, 2012), Всероссийской конференции с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов» (Борок, 2012), международной научной конференции «Современные вопросы экологического мониторинга водных и наземных экосистем» (Ростов-на-Дону, 2015), IV Международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок, 2015).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трех глав результатов исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы, включающего 310 источников. Работа изложена на 193 страницах, содержит 39 таблиц и 20 рисунков.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 41 научная работа, из них 5 в специальных научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 7 – ВАК Украины (опубликованных до 2014 г.); получен 1 патент на изобретение.

**Благодарности.** Автор выражает особую благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Рудневой И.И. за помощь и консультации при постановке цели и задач исследований, обсуждении полученных результатов. Благодарность выражается член-корр., д.б.н., проф. Шульману Г.Е., д.б.н., проф., акад. Егорову В.Н., д.б.н. Празукину А.В., д.б.н., проф. Солдатову А.А., д.б.н., проф. Зуеву Г.В. и с.н.с., к.б.н. Болтачеву А.Р. за ценные советы и рекомендации по решению поставленных задач и обсуждению основных положений работы, а также к.б.н., доценту кафедры биохимии КФУ Залевской И.Н. за консультации по методическим аспектам определения биохимических параметров. Автор считает своим приятным долгом выразить признательность к.б.н. Салеховой Л.П., к.б.н. Скуратовской Е.Н., к.б.н. Кузьминовой Н.С., вед. инж. Чесноковой И.И., вед. инж. Самотой Ю.В. за консультации и помощь в проведении биологического анализа рыб, сотрудникам санитарно-бактериологической лаборатории Ленинского района Республики Крым и отдела аквакультуры и морской фармакологии ФГБУН ИМБИ к.б.н. Ковригиной Н.П. за предоставление данных по гидрохимии



воды в юго-западной части Азовского моря. Благодарность выражается руководству ГАО «Черноморнефтегаз» и сотрудникам лаборатории «Охраны морских экосистем» ЮгНИРО (г. Керчь) за предоставление результатов по химическому загрязнению воды, грунтов и температурному режиму в юго-западной части Азовского моря в период исследований, заведующему отделу «Связи и передачи информации» ФГБУН ИМБИ Шайде В.Г. за помощь в техническом обеспечении научных исследований, Вахтину Б.Е. и всем работникам малого флота ФГБУН ИМБИ за доставку ихтиологического материала из районов исследования.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрены процессы свободнорадикального окисления (СРО) в живых организмах, дана общая характеристика системы биотрансформации, АОС и белкового состава сыворотки крови рыб. Приведены сведения о половых и возрастных особенностях белкового состава сыворотки крови, содержания продуктов ОМБ и АОС в тканях рыб, а также о влиянии на них природных и антропогенных факторов. Показана эффективность использования показателей ОМБ, АОС и сывороточных белков крови в качестве биомаркеров, характеризующих состояние рыб в условиях комплексного загрязнения среды их обитания.

### ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Характеристика объекта исследований.** Объектом исследования служил бычок-кругляк (*Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814)) (Perciformes; Gobiidae), отловленный в трех севастопольских бухтах (Мартыновой, Карантинной, Стрелецкой) и двух районах юго-западной части Азовского моря (с. Мысовое, с. Семеновка). 193 экземпляра черноморского бычка-кругляка было проанализировано в 2003-2005 гг., 285 – в 2009-2012 гг. В Арабатском заливе Азовского моря 183 рыбы были исследованы в 2003 г., 241 – в 2011-2012 гг.

В главе дана краткая характеристика объекта исследования, приведены размерно-массовые и морфофизиологические показатели рыб из районов отбора проб в двух морях в 2003 г. и более современный период. Установлено снижение размерно-массовых и морфофизиологических параметров бычка-кругляка из двух морей в более поздний период по сравнению с 2003 г.

**Ихтиологические методы.** В ходе биологического анализа определяли размер рыб (общую и стандартную длину), массу рыбы и массу рыбы без внутренностей, массу печени, гонад, пол, стадию зрелости. Возраст рыб

анализировали по отолитам. Индекс печени (ИП), гонадосоматический индекс (ГСИ) и упитанность рассчитывали по Правдину (1966).

**Физико-химические методы исследования тканевых экстрактов.** Уровень ОМБ анализировали по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином (Дубинина и др., 1993).

Активность КАТ эритроцитов крови выявляли по реакции разложения  $H_2O_2$  (Асатиани, 1969), активность СОД – по степени снижения скорости процессов восстановления нитросинего тетразола в инкубационной среде (Nishikimi et al., 1972), активность ПЕР – по реакции с бензидином (Литвин, 1981), активность ГР – по убыли НАДФН, активность ГТ – с 1-хлор-2,4-динитробензолом (Переслегина, 1989). Активность ферментов пересчитывали на мг гемоглобина (Hb) в минуту.

Концентрацию сывороточного альбумина (г/л) определяли по реакции с бромкрезоловым зеленым с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Филисит-Диагностика».

Определение белкового состава сыворотки крови рыб проводили методом диск-электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле (Davis, 1964), электродный буфер трис-глициновый рН 8,3. Распределение белковых фракций учитывали по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (Кэф), рассчитанному по отношению расстояния от старта до центра белковой полосы к расстоянию, пройденному в геле свидетелем. На основании Кэф были определены стандартные электрофоретические (ЭФ) спектры белков (Соркина, Руднева, 1975).

**Статистическая обработка результатов.** Вычисляли среднее арифметическое (M), ошибку среднего арифметического (m). Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми рядами считали достоверными и статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции (r) (Лакин, 1990).

**Экологическая характеристика среды обитания рыб.** Исследования проводили в трех севастопольских бухтах (Стрелецкой, Мартынова и Карантинной) и двух районах юго-западной части Азовского моря (с. Мысовое, с. Семеновка), отличающихся по уровню загрязнения.

Наибольшее содержание загрязняющих веществ в воде и грунтах отмечено в б. Стрелецкой г. Севастополя. Грунты б. Мартынова являются более загрязненными, чем Карантинной, тогда как уровень гидрохимических и токсикологических показателей выше в воде последней, что обусловлено различным расположением данных районов и наличием в б. Карантинной

выпусков хозяйственно-бытовых сточных вод (данные Инспекции по охране Черного и Азовского морей), (Кирюхина, Миронов, 2004).

Исследуемые акватории в Арабатском заливе Азовского моря отличались в меньшей степени, о чем свидетельствуют данные гидрохимических характеристик морской воды (данные Ковригиной Н.П.) (Руднева и др., 2007) и содержание ТЭ в грунтах (данные ЮгНИРО) и мышцах рыб (данные Омельченко С.О.) (Ковыршина, Омельченко, 2010).

Сравнительный анализ содержания ТЭ в мышцах бычка-кругляка, а также химического и микробного загрязнения районов исследования в двух морях позволил заключить, что морские воды и грунты в районе Севастополя являются более загрязненными, чем в Арабатском заливе Азовского моря.

### **ГЛАВА 3 СЕЗОННЫЕ, ВОЗРАСТНЫЕ И ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ**

**Прооксидантно-антиоксидантная система крови бычка-кругляка из Черного и Азовского морей.** Активность СОД и КАТ ( $p \leq 0,001$ ) (за исключением ПЕР) достоверно ниже, а уровень ОМБ достоверно выше в крови бычка-кругляка из побережья Севастополя по сравнению с соответствующими показателями рыб из Арабатского залива.

**Возрастные особенности прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка.** Активность КАТ ( $p \leq 0,001$ ), ГР ( $p \leq 0,001$ ) в крови бычка-кругляка из севастопольских бухт и СОД ( $p \leq 0,001$ ), ГР ( $p \leq 0,01$ ) – из юго-западной части Азовского моря снижалась у 3-х годовалых рыб по сравнению с 1-2-х летними. Увеличение уровня ОМБ установлено в сыворотке крови рыб старших возрастных групп из прибрежной зоны Севастополя.

**Половые особенности прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка.** Анализ исследованных маркеров не показал выраженных половых различий у рыб из Арабатского залива. У черноморских бычков установлены снижение активности КАТ ( $p \leq 0,01$ ), СОД ( $p \leq 0,01$ ) и увеличение уровня ОМБ в крови самцов рыб по сравнению с соответствующими показателями самок.

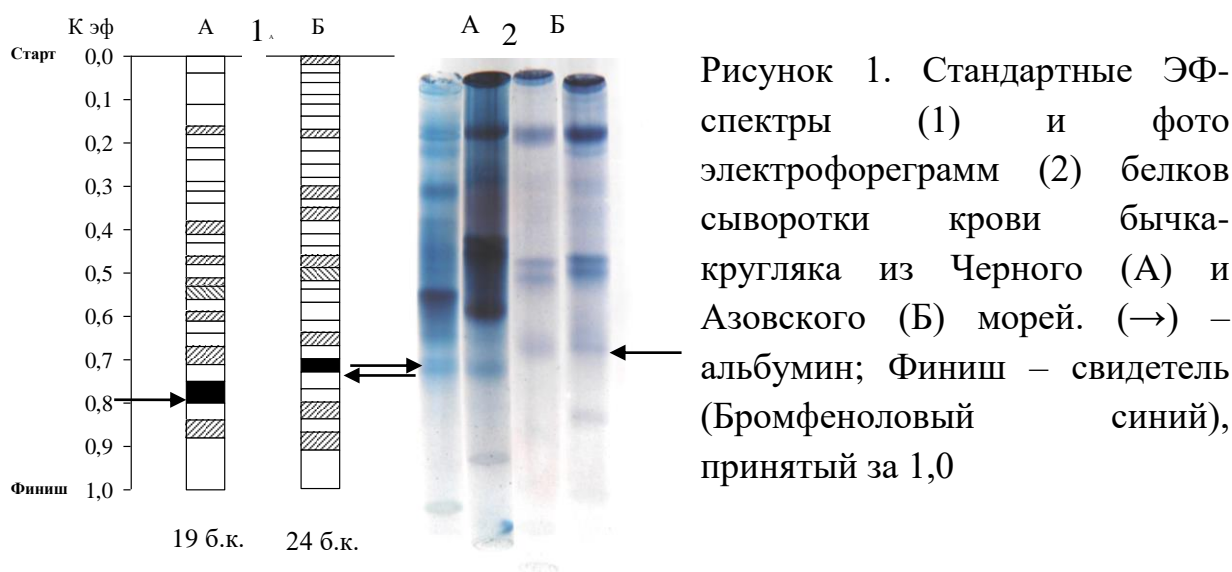
Активность большинства АО ферментов в крови самок и самцов черноморского бычка-кругляка возрастала в преднерестовый период по сравнению с соответствующими показателями рыб в состоянии покоя. Максимальные значения общей АО активности крови рыб из двух морей установлены во время нереста. Исключением явились самцы бычка-кругляка из севастопольских акваторий, активность СОД ( $p \leq 0,01$ ), КАТ ( $p \leq 0,05$ ) и ГТ ( $p \leq 0,01$ ) в крови которых была достоверно ниже таковой у самок.

**Сезонные особенности прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка из Черного и Азовского морей.** Сезонная динамика показателей крови рыб из севастопольских бухт характеризовалась достоверным увеличением активности СОД, КАТ, ГР, ГТ эритроцитов крови весной, снижением активности КАТ, ГР и ГТ ( $p \leq 0,05$ ) летом и увеличением уровня ОМБ сыворотки крови в летне-осенний период.

У бычков из Арабатского залива активность СОД ( $p \leq 0,05$ ) и ПЕР ( $p \leq 0,05$ ) достоверно увеличивалась летом. Уровень ОМБ сыворотки их крови не имел достоверных отличий между сезонами года.

#### **ГЛАВА 4 ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ**

**Характеристика ЭФ-спектров белков сыворотки крови бычка-кругляка из Черного и Азовского морей.** Показано сокращение числа белковых компонентов, увеличение доли диффузных фракций и подвижности альбумина в ЭФ-спектрах бычков из прибрежной зоны Севастополя по сравнению с соответствующими значениями рыб из Арабатского залива (рисунок 1).



**Эколого-физиологические особенности содержания сывороточного альбумина и его электрофоретических свойств в крови бычка-кругляка.** Установлены половые, возрастные и сезонные особенности концентрации альбумина и его ЭФ подвижности в сыворотке крови бычка-кругляка из районов исследования в двух морях.

## ГЛАВА 5 ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ БЫЧКА-КРУГЛЯКА ИЗ АКВАТОРИЙ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ

**Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы бычка-кругляка в условиях комплексного загрязнения акваторий Черного и Азовского морей.** Для оценки токсичности морской среды на организм рыб сравнение тестируемых параметров проводили на самцах бычка-кругляка одной возрастной группы, отловленных весной.

В 2003 г. активность СОД ( $p \leq 0,05$ ) эритроцитов крови рыб из б. Стрелецкой и ПЕР ( $p \leq 0,05$ ), ГР ( $p \leq 0,01$ ) у рыб из б. Мартыновой была достоверно ниже по сравнению с соответствующими показателями рыб из б. Карантинной (таблица 1). Содержание кетопроизводных нейтрального ( $p \leq 0,05$ ) и альдегидопроизводных основного ( $p \leq 0,05$ ) характера было выше в сыворотке крови рыб из б. Стрелецкой (таблица 2). В 2012 г. активность КАТ и СОД ( $p \leq 0,05$ ) достоверно ниже в крови бычков из б. Стрелецкой (таблица 1), а уровень ОМБ выше у рыб из б. Мартынова (таблица 2).

Таблица 1 Активность антиоксидантных ферментов (на мг Нв /мин,  $M \pm m$ ) крови бычка-кругляка из бухт Севастополя с разным уровнем загрязнения

	б. Стрелецкая	б. Мартынова	б. Карантинная
Фермент	<b>2003 г.</b>		
	n = 7	n = 9	n = 23
КАТ, мг Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub>	0,46 ± 0,02	0,37±0,04	0,42 ± 0,02
СОД, усл. ед.	82,14 ± 13,70 <sup>•</sup>	98,63 ± 20,30	158,33 ± 22,2
ПЕР, опт. ед.	11,97 ± 3,56	5,19 ± 1,66 <sup>•</sup>	10,12 ± 1,02
ГР, нмоль НАДФН	3,85 ± 1,67	0,81 ± 0,18 <sup>•</sup>	3,63 ± 1,01
ГТ, нмоль конъюгата	9,49 ± 1,93*	15,11 ± 1,26	16,45 ± 3,09
ИП ФАОА	107,91	120,11	188,95
	<b>2012 г.</b>		
	n = 27	n = 19	n = 16
КАТ, мг Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub>	<b>0,64 ± 0,02*</b>	<b>1,19 ± 0,17</b>	<b>0,83 ± 0,17</b>
СОД, усл. ед.	<b>144,51 ± 16,81*<sup>•</sup></b>	<b>280,48 ± 38,59</b>	<b>287,85 ± 37,18</b>
ПЕР, опт. ед.	<b>19,54 ± 0,82*<sup>•</sup></b>	8,42 ± 0,92	8,24 ± 0,77
ГР, нмоль НАДФН	4,50 ± 0,88	<b>7,11 ± 1,17</b>	5,79 ± 1,18
ГТ, нмоль конъюгата	<b>37,11 ± 6,69</b>	<b>41,12 ± 9,32</b>	<b>42,45 ± 7,63</b>
ИП ФАОА	206,30	338,32	345,16

Примечания: \* - достоверность различий ( $p \leq 0,05-0,001$ ) между показателями крови рыб из б. Мартынова и других районов; <sup>•</sup> – Карантинной и других районов; **жирным шрифтом** обозначены долговременные изменения

Долговременные изменения биомаркеров крови бычков из трех севастопольских бухт характеризовались возрастанием активности КАТ, СОД и ГТ в эритроцитах крови рыб в 2012 г. по сравнению с 2003 г. Отмечены и специфические реакции увеличения активности ПЕР ( $p \leq 0,05$ ) и ГР ( $p \leq 0,001$ ) у рыб из бухт Стрелецкой и Мартынова соответственно (таблица 1). Уровень ОМБ сыворотки крови увеличивался у рыб из бухт Мартынова и Карантинной в 2012 г. (таблица 2).

Таблица 2 Содержание продуктов окисления белков (опт. ед./мл сыворотки,  $M \pm m$ ) в сыворотке крови бычка-кругляка из бухт Севастополя с разным уровнем загрязнения

Бухта	n	продукты нейтрального характера		продукты основного характера		ПО ОМБ
		альдегидные 346 нм	кетонные 370 нм	альдегидные 430 нм	кетонные 530 нм	
<b>2003-2005 гг.</b>						
Стрелецкая	5	7,12 ± 1,14	9,35 ± 0,71*	6,59 ± 0,99*	0,93 ± 0,18	23,99
Мартынова	4	5,20 ± 1,01	6,77 ± 1,53	3,95 ± 0,85	0,50 ± 0,1	16,42
Карантин-я	6	4,65 ± 0,74	6,36 ± 1,04	3,93 ± 0,49	0,76 ± 0,06	15,70
<b>2012 г.</b>						
Стрелецкая	7	7,01 ± 0,23*	7,94 ± 0,31*	4,67 ± 0,18*	1,14 ± 0,14	20,76
Мартынова	9	<b>10,73 ± 0,76</b>	<b>11,7 ± 0,77</b>	<b>7,12 ± 0,54</b>	<b>0,92 ± 0,17</b>	30,47
Карантин-я	10	<b>7,17 ± 0,38*</b>	7,80 ± 0,37*	4,73 ± 0,26*	0,71 ± 0,14	20,41

Примечания: обозначения те же, что и в таблице 1

В 2003 г. не установлено достоверных отличий между показателями крови рыб из двух районов Арабатского залива. В 2011-2012 гг. отмечены снижение активности КАТ ( $p \leq 0,01$ ), ГР ( $p \leq 0,05$ ) эритроцитов крови и увеличение содержания альдегидопроизводных нейтрального характера ( $p \leq 0,01$ ) в сыворотке крови рыб из района с. Мысовое (таблица 3, таблица 4).

Анализ межгодовой динамики биомаркеров крови рыб из двух районов Арабатского залива позволил установить увеличение активности СОД ( $p \leq 0,01$ ), КАТ ( $p \leq 0,001$ ) и ГР ( $p \leq 0,01$ ) в эритроцитах бычка-кругляка из района с. Семеновка в 2011-2012 гг. Активность СОД ( $p \leq 0,001$ ) и ПЕР ( $p \leq 0,05$ ) увеличивалась, а КАТ ( $p \leq 0,001$ ) снижалась в эритроцитах рыб из района с. Мысовое в более современный период (таблица 3). Содержание продуктов нейтрального характера достоверно увеличивалось в сыворотке крови бычка-кругляка из двух районов Арабатского залива в 2011-2012 гг. (таблица 4).

Таблица 3 Активность антиоксидантных ферментов (на мг Нв /мин,  $M \pm m$ ) крови бычка-кругляка из двух районов юго-западной части Азовского моря с разным уровнем загрязнения

Фермент	Район			
	с. Семеновка n = 11	с. Мысовое n = 9	с. Семеновка n = 27	с. Мысовое n = 23
	2003 г.		2011-2012 гг.	
КАТ, мг H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,88 ± 0,06	1,03 ± 0,15	<b>2,49 ± 0,29</b>	<b>0,34 ± 0,02*</b>
СОД, усл. ед.	262,20 ± 73,39	191,74 ± 49,89	<b>527,36 ± 53,92</b>	<b>533,97 ± 38,69</b>
ПЕР, опт. ед.	2,91 ± 0,64	4,66 ± 0,91	3,72 ± 0,68	<b>7,67 ± 0,62*</b>
ГР, нмоль НАДФН	7,59 ± 1,19	7,07 ± 1,5	<b>13,63 ± 2,25</b>	4,52 ± 0,84*
ГТ, нмоль конъюгата	17,69 ± 3,71	24,28 ± 7,78	27,14 ± 5,44	33,96 ± 5,68
ИП ФАОА	291,27	228,78	574,34	580,46

Примечания: \* - достоверность различий ( $p \leq 0,05-0,001$ ) между показателями крови бычков из двух районов; **жирным** шрифтом обозначены долговременные изменения

Таблица 4 Содержание продуктов окисления белков (опт. ед./мл сыворотки,  $M \pm m$ ) в сыворотке крови бычка-кругляка из двух районов юго-западной части Азовского моря с разным уровнем загрязнения

Район	n	продукты нейтрального характера		продукты основного характера		ПО ОМБ
		альдегидные 346 нм	кетонные 370 нм	альдегидные 430 нм	кетонные 530 нм	
		2003-2005 гг.				
с. Семеновка	5	3,00 ± 0,71	3,92 ± 0,80	2,97 ± 0,63	0,48 ± 0,11	10,37
с. Мысовое	11	3,69 ± 0,46	4,62 ± 0,51	3,19 ± 0,38	0,52 ± 0,13	12,02
		2011-2012 гг.				
с. Семеновка	7	<b>5,10 ± 0,28</b>	<b>6,87 ± 0,27</b>	3,33 ± 0,32	0,60 ± 0,13	15,90
с. Мысовое	7	<b>6,97 ± 0,72*</b>	<b>9,0 ± 1,02</b>	4,32 ± 0,57	0,58 ± 0,13	20,87

Примечания: обозначения те же, что и в таблице 3

**Влияние содержания токсичных элементов в мышцах рыб на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка из побережья Севастополя (Черное море).** Установлена зависимость между активностью АО ферментов эритроцитов крови, содержанием продуктов ОМБ и концентрацией ТЭ в мышцах черноморских бычков. Самыми чувствительными к накопленным в тканях ТЭ являются ферменты СОД ( $0,87 < r < 0,99$ ;  $-0,54 < r < -$

0,76) и ПЕР ( $0,50 < r < 0,72$ ;  $-0,84 < r < -0,98$ ). Наибольшее влияние на показатели АОС и ОМБ крови бычка-кругляка оказывали Pb, Hg и Zn.

**Влияние комплексного загрязнения среды обитания на электрофоретические характеристики белков сыворотки крови бычка-кругляка из акваторий Черного и Азовского морей с разным уровнем загрязнения.** Показано сокращение числа белковых фракций, увеличение доли диффузных фракций и подвижности альбумина в ЭФ-спектрах рыб из наиболее загрязненных севастопольских бухт. У рыб из двух районов Арабатского залива стандартные ЭФ-спектры и статистические показатели числа фракций в них отличались в меньшей степени.

## ГЛАВА 6 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, наши исследования позволили установить возрастные, половые и сезонные особенности состояния биохимических маркеров крови бычка-кругляка из района Севастополя и Арабатского залива Азовского моря. Показано влияние комплексного долговременного загрязнения районов исследования на биомаркеры крови, размерно-массовые и морфофизиологические показатели рыб из двух морей. Выявлена зависимость между содержанием ТЭ в мышцах бычка-кругляка из побережья Севастополя и показателями прооксидантно-антиоксидантной системы крови рыб.

Возрастные изменения анализируемых маркеров крови рыб характеризовались снижением активности АО ферментов, концентрации и ЭФ подвижности альбумина и увеличением уровня ОМБ у старших возрастных групп бычка-кругляка. Выявленные особенности могут быть следствием снижения метаболизма, белоксинтезирующей функции печени, а также усиления перекисных реакций в организме с возрастом, что соответствует основным положениям свободнорадикальной теории старения (Harman, 1956).

Анализ показателей АОС эритроцитов и ОМБ сыворотки крови не показал наличия половых различий у рыб из Арабатского залива, тогда как у черноморских бычков прооксидантные реакции преобладали над антиоксидантными в крови самцов по сравнению с таковыми у самок. Выявленные различия могут быть связаны как с особенностями накопления ксенобиотиков и избирательностью ответных реакций в тканях рыб разного пола, так и спецификой нерестового поведения у самцов бычка-кругляка в условиях долговременного загрязнения севастопольских бухт.

Увеличение активности большинства АО ферментов эритроцитов, концентрации и ЭФ подвижности альбумина сыворотки крови самок и самцов рыб из двух морей отмечено в преднерестовый период, что отражает значительные метаболические перестройки молекулярных систем организма в



период созревания гонад и согласуется с результатами других авторов (Куликова, 1969; Алешко, Лукьянова, 2008). В то же время максимальные значения общей АО активности крови были установлены во время нереста у рыб из двух морей за исключением самцов черноморских бычков. Выявленная особенность может быть связана с высоким уровнем комплексного загрязнения севастопольских бухт, что способствует истощению защитных ресурсов организма самцов черноморских бычков и нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса в период нереста.

Показано влияние сезонных изменений гидролого-гидрохимического режима водоемов и связанных с ними стадии полового цикла, активности питания особей, а также уровня загрязнения акваторий на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови, концентрацию сывороточного альбумина и его ЭФ подвижность в ЭФ-спектрах бычка-кругляка из района Севастополя и Арабатского залива.

Установлено модифицирующее действие комплексного загрязнения районов исследования в двух морях на состояние показателей АОС эритроцитов, ОМБ и белковые спектры сыворотки крови бычка-кругляка.

Отмечено увеличение содержания продуктов ОМБ в сыворотке крови рыб из загрязненных акваторий. Отклики АОС имели адаптивный или токсичный характер. Увеличение антропогенной нагрузки в среде обитания приводит к индукции активности АО ферментов и является адаптивной реакцией организма. Ингибирование этих параметров в крови рыб из наиболее загрязненной севастопольской бухты (Стрелецкой) является следствием токсических эффектов действия загрязнителей.

Показано снижение количества белковых компонентов, увеличение подвижности альбумина, доли диффузных и «редких» фракций в ЭФ-спектрах бычков из района Севастополя по сравнению с соответствующими значениями рыб из Арабатского залива. Аналогичные изменения были отмечены в ЭФ-спектрах рыб из наиболее загрязненных севастопольских бухт (Стрелецкой, Мартынова) по сравнению с таковым у рыб из б. Карантинной. Снижение числа белковых фракций, изменение их ЭФ подвижности в ЭФ-спектрах белков сыворотки крови других видов рыб были также отмечены при действии отдельных токсикантов (Руднева, 1996; Muthukmaravel et al., 2007) на организм рыб и комплексном загрязнении среды обитания (Руднева и др., 2005; Osman et al., 2010). У бычков из двух районов Арабатского залива эти различия менее выражены и, вероятно, в большей степени зависели от естественных факторов, таких как гидрохимические характеристики воды и состояние кормовой базы.

Показаны долговременные изменения активности АО ферментов эритроцитов, уровня ОМБ сыворотки крови, размерно-массовых и морфофизиологических характеристик рыб из побережья Севастополя и

Арабатского залива. Увеличение активности АО ферментов эритроцитов и уровня ОМБ сыворотки крови, а также снижение размерно-массовых параметров рыб из районов исследования в двух морях установлены в 2011-2012 гг. по сравнению с 2003 г. Выявленные особенности обусловлены долговременным загрязнением бухт Севастополя, разработкой и эксплуатацией нефтегазовых месторождений в юго-западной части Азовского моря, что вызывает соответствующие пост-эффекты у представителей донной ихтиофауны, таких как бычок-кругляк.

Установлено влияние содержания ТЭ в мышцах черноморского бычка-кругляка на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови рыб, которое зависит от концентрации ТЭ, токсичности/ биофильности элемента и эффективности механизмов его детоксикации, определяющих адаптационные возможности вида.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В диссертационной работе дана сравнительная экотоксикологическая оценка многолетней динамики изменений комплекса показателей бычка-кругляка из прибрежных районов г. Севастополя и Арабатского залива Азовского моря. Выявлены половые, возрастные и сезонные особенности состояния биохимических маркеров. Теоретически обосновано и экспериментально показано модифицирующее влияние комплексного загрязнения среды обитания на состояние молекулярных биомаркеров и популяционные характеристики рыб из районов исследования в двух морях. Показана эффективность применения предложенного в работе комплекса биомаркеров бычка-кругляка для оценки экологического состояния прибрежных вод Крыма.

## **ВЫВОДЫ**

1. Активность антиоксидантных (АО) ферментов эритроцитов и уровень окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови бычка-кругляка можно рекомендовать в качестве биомаркеров для оценки состояния рыб и среды их обитания с учетом возрастных, половых и сезонных особенностей состояния тестируемых показателей.

2. Активность АО ферментов крови бычка-кругляка из севастопольских акваторий (КАТ, ГР) и юго-западной части Азовского моря (СОД, ГР) снижалась в 1,5-2 раза у 3-х годовалых рыб по сравнению с 1-2-х летними. Содержание окисленных форм белков увеличено в сыворотке крови рыб старших возрастных групп из прибрежной зоны Севастополя.

3. Половые различия между биомаркерами крови бычка-кругляка из прибрежной зоны Севастополя характеризовались снижением активности КАТ и

СОД в 1,3-2 раза и увеличением содержания окисленных форм белков в крови самцов рыб.

4. Активность большинства АО ферментов увеличивалась в крови самок и самцов бычка-кругляка из прибрежных районов Севастополя и юго-западной части Азовского моря в преднерестовый и нерестовый периоды. В севастопольских бухтах у самцов бычка-кругляка по сравнению с самками во время нереста активность ферментов достоверно снижена: СОД в 2 раза, КАТ – в 1,3 и ГТ – в 5 раз.

5. Сезонные различия показателей крови характеризовались увеличением активности АО ферментов эритроцитов крови бычка-кругляка из севастопольских акваторий весной – в 1,7-8 раз (СОД, КАТ, ГР, ГТ) и Арабатского залива Азовского моря летом – в 1,3-1,7 раза (СОД, ПЕР). Установлено снижение активности КАТ, ГР и ГТ летом (в 1,4-3,8 раза) и увеличение содержания окисленных форм белков в сыворотке крови рыб из севастопольских акваторий летом и осенью.

6. Содержание продуктов ОМБ в сыворотке крови выше у рыб из загрязненных акваторий, тогда как отклики АОС имеют неоднозначный характер. В зависимости от уровня и характера загрязнения установлены адаптивные ответные реакции, характеризующиеся повышением активности ферментов, и токсические, выражающиеся в ингибировании ферментативной активности в крови рыб из наиболее загрязненных акваторий, таких, как б. Стрелецкая.

7. Выявлена корреляционная зависимость между биомаркерами крови и концентрацией токсичных элементов в мышечной ткани бычка-кругляка из побережья Севастополя. Наиболее чувствительными к содержанию токсичных элементов в мышцах рыб являются СОД ( $0,87 <r< 0,99$ ;  $-0,54 <r< -0,76$ ) и ПЕР ( $0,50 <r< 0,72$ ;  $-0,84 <r< -0,98$ ), тогда как наибольшее влияние на активность АО ферментов и процессы ОМБ оказывали Pb, Hg и Zn.

8. Сокращение количества белковых компонентов, увеличение количества диффузных фракций и подвижности альбумина установлено в ЭФ-спектрах бычка-кругляка из более загрязненных районов.

9. Значения размерно-массовых и морфофизиологических параметров снижены, тогда как активность АО ферментов и накопление окисленных форм белков увеличены в крови бычка-кругляка из тестируемых акваторий в двух морях в 2011-2012 гг. по сравнению с соответствующими показателями рыб в 2003 г.

10. Высокий уровень комплексного загрязнения севастопольских акваторий оказывает определяющее влияние на состояние молекулярных защитных систем, а хронический характер загрязнения – на размерно-массовые характеристики рыб. У бычка-кругляка из Арабатского залива Азовского моря в 2003 г. эти параметры в большей степени зависели от природных факторов, тогда как в 2011-2012 гг.

ухудшение экологической обстановки в этом регионе существенно повлияло на тестируемые показатели.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК

1. **Вахтина Т.Б.** Активность ферментов крови черноморских бычков (*Gobiidae*), обитающих в бухтах с разным уровнем антропогенной нагрузки / Т.Б. Вахтина // Ученые записки Таврического Национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. Биология. - 2003. - Т. 16, № 2 (55). - С. 175–178.

2. Руднева И.И. Влияние антропогенного загрязнения на активность антиоксидантных ферментов крови некоторых видов черноморских рыб / И.И. Руднева, Е.Н. Скуратовская, **Т.Б. Вахтина** // Вісник Одес. Нац. ун-ту. Сер. Біологія. - 2004. - Т. 9, вип. 5. - С. 116–120.

3. **Вахтина Т.Б.** Сравнительный анализ химического и микробиологического загрязнения бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas), обитающего в прибрежной зоне Черного и Азовского морей / Т.Б. Вахтина, С.О. Омельченко, Г.В. Симчук // Рибне господарство України. - 2006. - № 1 (42). - С. 24–25.

4. **Ковыршина Т.Б.** Отклики биохимических маркеров крови на содержание токсичных элементов в тканях бычка-кругляка из Черного и Азовского морей / Т.Б. Ковыршина, С.О. Омельченко // Рибне Господарство України. - 2010. - Т. 3.- С. 7–10.

5. **Ковыршина Т.Б.** Сезонная динамика уровня окислительной модификации белков и активности антиоксидантных ферментов в крови бычков *Neogobius melanostomus* (*Gobiidae*) Черного и Азовского морей / Т.Б. Ковыршина, И.И. Руднева // Вопросы ихтиологии. - 2012. - Т. 52, № 2. - С. 1–7.

6. **Ковыршина Т.Б.** Исследования долговременных изменений активности антиоксидантных ферментов крови азовского бычка-кругляка в зависимости от содержания токсичных элементов в его тканях / Т.Б. Ковыршина, Д.А. Болдырев, С.О. Омельченко // Ветеринарна медицина : межвід. темат. наук. зб. - 2012. - Вип. 96.- С. 294–296.

7. **Ковыршина Т.Б.** Сывороточные преальбумины рыб как биомаркеры состояния среды их обитания / Т.Б. Ковыршина, И.И. Руднева // Экологические системы и приборы. - 2013. - № 9. - С. 56–62.

8. Кузьминова Н.С. Популяционные характеристики бычка-кругляка в Азовском море в 2011 – 2012 гг. / Н.С. Кузьминова, **Т.Б. Ковыршина**, С.П. Тертичный // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. - 2013. - № 2 (55). - С. 78–84.

9. Омельченко С.О. Сравнительная характеристика микробного и химического загрязнения бычка-кругляка, обитающего в Черном и Азовском морях и Керченском проливе / С.О. Омельченко, **Т.Б. Ковыршина** // Рибне Господарство України. - 2013. - Т. 2. - С. 3–9.

10. **Ковыршина Т.Б.** Сезонные изменения содержания токсичных элементов и параметров окислительного стресса в тканях черноморского бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* / Т.Б. Ковыршина, С.О. Омельченко // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. - 2014. - Вып. 1. - С. 14–23.

11. **Ковыршина Т.Б.** Динамика долговременных изменений популяционных характеристик бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas) из Черного и Азовского морей / Т.Б. Ковыршина // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. - 2015. - № 2. - С. 33–40.

12. **Ковыршина Т.Б.** Влияние загрязнения прибрежных вод Черного моря на биомаркеры крови бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* Pallas, 1811 (Perciformes: Gobiidae) / Т.Б. Ковыршина, И.И. Руднева // Биология моря. - 2016. - Т. 42, № 1. - С. 34–40.

#### Статьи в других научных изданиях

13. Использование химико-биологических параметров при мониторинге морских акваторий / Н.С. Кузьминова, Е.Н. Скуратовская, **Т.Б. Вахтина**, С.О. Омельченко // Системы контроля окружающей среды : сб. науч. тр. / НАН Украины, Морской гидрофизический институт. - Севастополь, 2004. - С. 263–269.

14. Кузьминова Н.С. Морфофизиологические показатели рыб как биоиндикаторы загрязнения морских акваторий / Н.С. Кузьминова, **Т.Б. Вахтина**, Е.Н. Скуратовская // Системы контроля окружающей среды : сб. науч. тр. / НАН Украины, Морской гидрофизический институт. - Севастополь, 2004. - С. 270–276.

15. **Вахтина Т.Б.** Показатель уровня окислительной модификации белков сыворотки крови рыб, как индикатор качества водной среды / Т.Б. Вахтина, Ю.А. Граб // Актуальные проблемы экологии и природопользования : сб. науч. тр. - Москва, 2006. - Вып. 8 (2). - С. 122–125.

16. **Вахтина Т.Б.** Влияние долговременного антропогенного загрязнения на белковый состав сыворотки крови бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*), обитающего в прибрежной части Черного моря / Т.Б. Вахтина, И.И. Руднева // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2 : расширенные материалы Междунар. науч.-практ. конф., Борок, 17–20 июля 2007 г. – Москва, 2007. – С. 123–126.

17. Руднева И.И. Изменение состава сывороточных преальбуминов рыб как ответная реакция на хроническое загрязнение морской среды / И.И. Руднева, **Т.Б. Вахтина**, И.Н. Залевская // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья

рыб и других гидробионтов – 2 : расширенные материалы Междунар. науч.-практ. конф., Борок, 17–20 июля 2007 г. - Москва, 2007. - С. 230–233.

18. **Ковыршина Т.Б.** Межвидовые особенности прооксидантно-антиоксидантного баланса крови двух видов черноморских бычков при загрязнении токсичными элементами / Т.Б. Ковыршина, С.О. Омельченко // Экологическая химия. - 2010. - Т. 19, вып. 3. - С. 149–154.

19. Comparative study of glutathione-S-transferase activity in tissues of some Black Sea Teleosts / I.I. Rudneva, N.S. Kuzminova, E.N. Skuratovskaya, **Т.Б. Kovyreshina** // International Journal of Science and Nature. - 2010. - Vol. 1, no. 1. - P. 1–6.

20. **Ковыршина Т.Б.** Особенности антиоксидантной ферментативной системы крови черноморского бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* в нерестовый период / Т.Б. Ковыршина // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Том I. Экологическая физиология и биохимия водных организмов : сб. науч. ст. – Петрозаводск, 2010. - С. 80–83.

21. Rudneva I.I. Comparative study of electrophoretic characteristics of serum albumin of round goby *Neogobius melanostomus* from Black Sea and Azov Sea / I.I. Rudneva, **Т.Б. Kovyreshina** // International Journal of Advanced Biological Research. - 2011. - Vol. 1, no. 1. - P. 131–136.

22. **Kovyreshina Т.Б.** Comparative study of serum albumin levels in round goby *Neogobius melanostomus* from Black Sea and Azov Sea / Т.Б. Kovyreshina, I.I. Rudneva // International Journal of Advanced Biological Research. - 2012. - Vol. 2, no. 2. - P. 203–208.

23. Rudneva I.I. Use of fish blood serum biomarkers for evaluating of Black Sea coastal waters health / I.I. Rudneva, **Т.Б. Kovyreshina**, E.N. Skuratovskaya // European Journal of Zoological Research. - 2015. - Vol. 4, no. 1. - P. 37–41.

#### Участие в коллективных монографиях

24. Gobiidae species in Black Sea estuaries and Bays: Biodiversity, Health Status and Conservation / I.I. Rudneva, A.R. Boltachev, E.P. Karpova, **Т.Б. Kovyreshina**, E.N. Skuratovskaya, I.I. Chesnokova // Coastal Fishes: Habitat, Behavior and Conservation / Ed. Edward K. Martinez. - New York : Nova Science Publishers, 2016. - Ch. 2. - P. 63–113.

#### Патенты

Патент на полезную модель № 27489 «Спосіб біологічної оцінки токсичності морського серидовища», зарегистрированный в государственном реестре патентов Украины на полезную модель 12 ноября 2007 г.