———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ———

УДК 597.593.4:24

РЕАКЦИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭМБРИОНОВ СОБАЧКИ ЖЕЛТО-КРАСНОЙ *PARABLENNIUS SANGUINOLENTUS* (PALLAS, 1814) (BLENNIIFORMES: BLENNIDAE) НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ МОРСКОЙ СРЕДЫ МАЗУТОМ

© 2022 г. И.И. Руднева*

Морской гидрофизический институт РАН, Севастополь 299011, Россия

**e-mail: svg-41@mail.ru* Поступила в редакцию 10.12.2021 г. После доработки 05.04.2022 г. Принята к публикации 02.06.2022 г.

Нефтяное загрязнение остается серьезной проблемой для морских экосистем, особенно для характеризующихся высоким биоразнообразием и продуктивностью прибрежных акваторий, где происходит размножение многих видов рыб и беспозвоночных, в том числе промысловых. Ранние онтогенетические стадии гидробионтов очень чувствительны к действию загрязнителей, инициирующих развитие различных токсических эффектов, включая окислительный стресс. Исследовано влияние мазута в концентрациях 0.00001 и 0.02 мл/л на активность антиоксидантных ферментов эмбрионов собачки желто-красной *Parablennius sanguinolentus* на V и VI стадиях развития. Отмечены неоднозначные ответные реакции ферментов, которые зависели от стадии развития эмбрионов и концентрации токсиканта. Обсуждаются возможные пути реорганизации ферментной антиоксидантной системы для обеспечения защиты эмбрионов от окислительного стресса, вызванного как подготовкой к выходу из яйцевых оболочек, так и действием токсиканта.

Ключевые слова: Черное море, мазут, загрязнение, икра рыб, биомаркеры, антиоксидантные ферменты

DOI: 10.31857/S0134347522050072

Нефтяное загрязнение является доминирующим видом загрязнения Мирового океана, создаюшим серьезные проблемы биоте и экосистеме в целом (Kuppusamy et al., 2020). Если в прошлом веке основными причинами поступления нефтяных углеводородов в морскую среду были аварии судов и танкеров, сбросы балластных и технических вод, речные стоки и атмосферные осадки, то в настоящее время загрязнение морей и океанов нефтяными углеводородами связано преимущественно с бурным развитием нефтегазового комплекса на шельфе (Martinez-Gomez et al., 2006; Патин, 2015; Beyer et al., 2016). При этом постоянно происходят небольшие утечки, которые быстро ликвидируют, однако они создают повышенный фон углеводородов в воде и донных отложениях. В состав нефти входят разные компоненты, токсичность которых для морских обитателей может существенно различаться. Помимо прямого действия нефть и нефтепродукты могут оказывать косвенные эффекты, образуя пленку на поверхности воды, нарушая газообмен поверхностных и глубинных вод, тем самым создавая аноксические и гипоксические зоны (Samuelsen et al.,

2019). Тяжелые нефтяные фракции оседают на дно и наносят непоправимый вред не только в результате поглошения токсиканта бентосными организмами, но и ухудшая условия обитания гидробионтов. Особенно страдают ранние онтогенетические стадии развития рыб и беспозвоночных, которые чувствительны к действию загрязнителей и любым изменениям внешних условий (Beirão et al., 2019; Jin et al., 2020; Phan et al., 2020; Bender et al., 2021). Например, в Мексиканском заливе около 10% мест нереста рыб и около 12% акваторий, в которых происходит развитие личинок, загрязнены нефтью (Muhling et al., 2012; Rooker et al., 2013). Однако исследователи не могут однозначно утверждать, что снижение численности и распределения рыб вызвано нефтяным загрязнением, поэтому требуется дальнейшее тщательное изучение влияния нефтяного загрязнения на ранние онтогенетические стадии гидробионтов в природных и экспериментальных условиях.

Как отмечено ранее, изменение условий существования на фоне климатических аномалий и действия загрязнителей, а также сами поллютан-



Рис. 1. Икра *Parablennius sanguinolentus*. Икринки сферические, сплющенные на полюсах. Диаметр 1.20–1.25 мм, высота 0.8–0.9 мм, толщина оболочки 5 мкм (Дехник, 1973). У эмбрионов видны пигментированные глаза, желток светло-желтого цвета с мелкими многочисленными каплями жира и мелкие сиреневые включения. Фотография сделана на бинокулярном микроскопе МБС-9 при увеличении 8 × 4.

ты могут вызывать состояние окислительного стресса у морских организмов (Rudneva, 2014). Ферменты антиоксидантной системы являются удобными и эффективными биомаркерами этого процесса в организме при воздействии неблагоприятных факторов (Domingyes et al., 2010; Geraudie et al., 2016; Jiang et al., 2017). Однако проявление токсического эффекта и отклики защитной антиоксидантной системы неоднозначны, зависят от дозы токсиканта, его вида и от стадии развития гидробионтов. Это необходимо учитывать при разработке тест-систем, использующих в качестве тест-объектов икру и личинок рыб.

Ранее нами было показано различное, а в ряде случаев противоположное влияние нефти на икру и личинок некоторых видов черноморских рыб, которое выражалось в усилении или подавлении активности ферментов, отражая как адаптивный ответ организма на лействие стрессора. так и токсический (Rudneva, 2014, 2019). С одной стороны, стадия развития икры может существенным образом модифицировать отклик организма на токсическое воздействие, что обусловлено процессами формирования защитных систем в раннем онтогенезе и необходимостью обеспечения таких основных жизненных функций, как рост и развитие, образование систем органов и, наконец, процесс вылупления. С другой стороны, разные концентрации токсикантов также могут вызывать неоднозначные эффекты у живых организмов (Hansen et al., 2018).

Цель настоящей работы — проведение сравнительного анализа откликов четырех антиокси-

БИОЛОГИЯ МОРЯ том 48 № 5 2022

дантных ферментов икры собачки желто-красной *Parablennius sanguinolentus* на последних (V и VI) стадиях развития на действие мазута в существенно различающихся концентрациях 0.00001 и 0.02 мл/л.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Собачка желто-красная Parablennius sanguinolentus – типичная донная рыба Черного моря, обитающая на мелководье. Ее икру на последних (Vи VI) стадиях развития (рис. 1) собирали в прибрежных водах акватории г. Севастополь. Предпоследняя V стадия развития характеризуется ростом хвостового отдела, отделением хвоста от желтка, образованием сердца, зачатков кишечника и печени, а также появлением плавниковой каймы (эта стадия продолжается до начала пульсации сердца); VI стадия – это "подвижный эмбрион", когла одновременно с пульсацией сердна заролыш начинает двигаться внутри яйцевых оболочек (Дехник, 1973). Икра донная, в природных условиях ее развитие проходит в прибрежной зоне, в наибольшей степени подверженной действию различных загрязняющих веществ, в том числе нефтепродуктов.

Концентрация токсиканта 0.00001 мл/л выбрана для моделирования ситуации, когда происходит хроническая утечка нефтепродуктов в очень малой концентрации. Вторая концентрация (0.02 мл/л) соответствует половине ПДК нефти для морских акваторий (0.05 мл/л). Мазут вносили в профильтрованную морскую воду и 20-30 мин перемешивали до получения стойкой эмульсии. После отстаивания в течение 0.5 ч воду с мазутом заливали в аэрируемые аквариумы, температура воды в которых соответствовала таковой в море (Чесалина и др., 2000). В каждый аквариум помещали по 50 икринок. В аналогичных условиях содержали контрольную икру без токсиканта. В конце каждого этапа икру отбирали для биохимических исследований, которые проводили в трех аналитических повторностях.

Активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПЕР) и глутатионредуктазы (ГР) анализировали на спектрофотометре Specol-211 (фирма Carl Zeiss, Jena, Германия) в соответствии с методами, описанными нами paнee (Rudneva, 2019). Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, вычисляли среднее арифметическое и ошибку средней. Для графического представления результатов значения активности ферментов, полученные для опытных групп, выражали в процентах к контролю, взятому за 100%. Анализировали соотношение активности ферментов в контрольной и экспериментальных группах. Достоверность различий определяли по критерию

РУДНЕВА

Фермент	Стадия V			Стадия VI		
	контроль	концентрация мазута, мл/л		KOUTDOIL	концентрация мазута, мл/л	
		0.00001	0.02	контроль	0.00001	0.02
СОД, условные единицы	119.9 ± 15.8	233.8* ± 20.1	194.17* ± 16.3	214.6 ± 42.4	79.1* ± 12.3	136.9* ± 24.9
КАТ, мг H_2O_2	0.04 ± 0.002	0.05 ± 0.01	$0.09^*\pm0.01$	0.09 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.02
ПЕР, оптические единицы	0.04 ± 0.003	$0.01^{*} \pm 0.002$	0.05 ± 0.005	0.048 ± 0.01	0.05 ± 0.01	$0.02^{*} \pm 0.003$
ГР, нмоль НАДФН	1.74 ± 0.38	0.13* ± 0.03	0.66* ± 0.13	1.35 ± 0.38	$0.27^{*} \pm 0.03$	1.89 ± 0.40

Таблица 1. Активность антиоксидантных ферментов, мг белка/мин (M ± m), в эмбрионах *Parablennius sanguinolentus*, подвергшихся воздействию мазута разной концентрации

Примечание. СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталаза, ПЕР – пероксидаза, ГР – глутатионредуктаза; *различия между значениями активности ферментов по отношению к контролю достоверны при p < 0.05.

Манна—Уитни, различия считали достоверными при p < 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В подвергшейся воздействию мазута икре активность ферментов изменялась (табл. 1). При инкубации икры в воде, содержавшей мазут, в зависимости от его концентрации (0.00001 или 0.02 мл/л) у эмбрионов на V стадии развития активность СОД по сравнению с таковой в контрольной группе увеличилась на 95 и 68%, а на стадии VI снизилась на 63 и 36% соответственно (рис. 2).

Активность КАТ в икре на стадии V при концентрации мазута 0.00001 мл/л увеличилась до 25%, а при концентрации мазута 0.02 мл/л – до 125%, однако на стадии VI незначительно снизилась соответственно до 38 и 18%. При обеих концентрациях токсиканта активность ПЕР в икре на стадии V изменялась неоднозначно: при содержании мазута 0.00001 мл/л она снизилась на 74%, но при повышении его концентрации в среде до 0.02 мл/л увеличилась на 28% по отношению к контролю. Активность ПЕР в икре на стадии VI при низкой концентрации мазута почти не изменилась (+4%), но при его содержании 0.02 мл/л снизилась на 58%. Активность ГР в икре на стадии V снизилась при обеих концентрациях мазута соответственно на 93 и 62%; на стадии VI такая же тенденция отмечена при концентрации мазута 0.00001 мл/л (-78%), однако при



Рис. 2. Изменение активности антиоксидантных ферментов эмбрионов *Parablennius sanguinolentus* V и VI стадий развития, подвергшихся воздействию мазута разной концентрации. Данные представлены в процентах к контролю, взятому за 100%.

Фермент		Стадия V		Стадия VI		
	контроль	концентрация мазута, мл/л		VOUTDON	концентрация мазута, мл/л	
		0.00001	0.02	контроль	0.00001	0.02
СОД/КАТ	2997.5	4676.2	2157.4	2715.4	1317.2	1711.3
СОД/ПЕР	3074.3	2338.2	3885.4	4470.8	1585.8	6845.3
СОД/ГР	68.9	1798.5	294.2	171.7	283.3	72.4
КАТ/ПЕР	1.0	5.0	1.8	2.0	1.2	4.0
ΚΑΤ/ΓΡ	0.02	0.38	0.14	0.08	0.22	0.04
ΠΕΡ/ΓΡ	0.02	0.08	0.08	0.04	0.18	0.01

Таблица 2. Соотношение активности антиоксидантных ферментов в эмбрионах *Parablennius sanguinolentus*, подвергшихся воздействию мазута разной концентрации

повышении содержания мазута активность ГР увеличилась на 51%.

Анализ соотношения активности ферментов у эмбрионов рыб на поздних стадиях развития в контрольной группе и в двух экспериментальных группах, подвергшихся воздействию мазута (табл. 2), показал, что под влиянием разных концентраций токсиканта в процессе развития эмбрионов соотношения активности антиоксидантных ферментов существенно перераспределялись. Если на стадии V у эмбрионов контрольной группы отношения активности СОД/КАТ и СОД/ПЕР были примерно одинаковыми, то при добавлении нефтепродукта в концентрации 0.00001 мл/л доля КАТ снизилась, а доля ПЕР относительно СОД повысилась. При концентрации токсиканта 0.02 мл/л эти различия уменьшились, а их значения были близки к контрольным. При концентрации мазута 0.00001 мл/л соотношение СОД/ГР резко увеличилось по сравнению с таковым в контроле, однако снизилось при концентрации мазута 0.02 мл/л. Соотношения активности КАТ/ПЕР и КАТ/ГР характеризовались одинаковой динамикой: увеличением при концентрации мазута 0.00001 мл/л и снижением при его содержании 0.02 мл/л. При обеих тестируемых концентрациях соотношение ПЕР/ГР незначительно возросло по отношению к контролю.

Соотношение активностей ферментов на стадии VI показало иные закономерности. Отношения СОД/КАТ и СОД/ПЕР снизились по сравнению с таковыми в контроле при концентрации токсиканта 0.00001 мл/л; при увеличении его содержания они увеличились, причем показатель СОД/ПЕР увеличился в большей степени. Соотношение СОД/ГР проявило противоположную тенденцию, а отношения КАТ/ГР и ПЕР/ГР повысились при концентрации мазута 0.00001 мл/л, но снизились при его концентрации 0.02 мл/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

Загрязнение нефтью и нефтепродуктами у обитателей водной среды вызывает стресс, который проявляется на разных уровнях биологической организации. Ранние стадии развития рыб подвержены влиянию нефтяного загрязнения в большей степени, так как в отличие от взрослых особей они не могут быстро покинуть неблагоприятную среду обитания. Анализ эмбриотоксичности нефти на разных видах рыб - удобный информативный тест, используемый в экотоксикологических исследованиях. На многих видах рыб и беспозвоночных в экспериментальных и природных условиях показано, что под действием нефтяного загрязнения у гидробионтов развивается окислительный стресс, приводящий к нарушению оксидантно-антиоксидантного баланса (Mu et al., 2013, 2018). При содержании золотой рыбки Carassius auratus в среде с концентрацией водорастворимой фракции дизельного топлива 0.05 и 0.1 мг/л в течение 40 сут в ее тканях происходила активация антиоксидантной защиты и отмечено снижение реакций иммунитета (Zhang et al., 2004). Индукция активности антиоксидантных ферментов СОД, КАТ и глутатионтрансферазы (ГТ) под действием водорастворимой фракции дизельного топлива выявлена у моллюсков при их содержании в среде с концентрацией токсиканта 4 мг/л (Jiang et al., 2017). У эмбрионов рыб также отмечено развитие окислительного стресса под действием разных токсикантов (Sehonova et al., 2017; Stancova et al., 2017; Velisek, Stara, 2018). Увеличение активности ферментов свидетельствует о развитии адаптивного ответа АОС эмбрионов, направленного на нейтрализацию продуктов свободнорадикальных реакций, в избытке образующихся в процессе окислительного стресса, который может развиваться по нескольким механизмам. В результате гидроксилирования нефтяных углеводородов системой цитохрома Р450 происходит синтез компонентов, вовлекаемых в окислительно-восстановительные реакции (метаболизм) организма. Эти компоненты могут конъюгировать с глутатионтрансферазой, снижая уровень глутатиона GSH и общую антиоксидантную активность. Одновременно образуются соединения, которые включаются в редокс-цикл и изменяют его, так как являются донорами или акцепторами электронов. Другие компоненты конъюгируют с глутатионом, сокращают его запас и, следовательно, уменьшают общую антиоксидантную активность (АОА). Другая группа соединений способна инактивировать антиоксидантные ферменты и также уменьшать АОА. Во всех случаях происходит отток энергии на АО защиту, при этом у развивающегося эмбриона снижается уровень метаболизма, что влияет на нормальное обеспечение процессов его роста, развития и вылупления (Dubansky et al., 2014; Geraudie et al., 2016). Следовательно, параметры АОА информативны при оценке токсических эффектов у гидробионтов, испытывающих влияние нефтяного загрязнения, и могут быть использованы в качестве биомаркеров для оценки эмбриотоксичности мазута.

Наши исследования показали, что реорганизация ферментной антиоксидантной системы развивающихся эмбрионов *Parablennius sanguinolentus* зависит от этапа эмбриогенеза и от действия разных концентраций токсиканта. Известно, что перед выклевом личинки из яйцевых оболочек, которые предохраняют эмбрион от неблагоприятного воздействия внешней среды, повышается активность антиоксидантных ферментов; это необходимо для обеспечения защиты организма от предстоящего окислительного стресса (Domigues et al., 2010; Rudneva, 2014; Jin et al., 2020).

Анализ полученных данных (табл. 1) показал, что в контроле у эмбрионов P. sanguinolentus активность всех тестируемых ферментов на стадии VI была выше, чем на стадии V. Это свидетельствует о подготовке эмбриона к окислительному стрессу, который неизбежен у личинки, выходящей из оболочки в окружающую среду. Ранее у P. sanguinolentus и у других видов черноморских рыб мы отмечали увеличение активности антиоксидантных ферментов к концу эмбриогенеза (Rudneva, 1999). Однако под воздействием токсиканта активность ферментов изменялась, причем неоднозначно на разных этапах эмбриогенеза (табл. 1, рис. 2). На стадии V активность КАТ и СОД возрастала по отношению к контролю, что позволяет говорить о выраженном защитном эффекте. Активность ПЕР и ГР при малой концентрации мазута была низкой; при его концентрации 0.02 мл/л она была выше, хотя активность ГР была меньше, чем в контроле. Таким образом, в этом случае также проявлялся определенный адаптационный эффект, направленный на мобилизацию защитной системы по предотвращению негативных последствий окислительного стресса.

На стадии VI наблюдалась иная картина, активность ключевых антиоксидантных ферментов СОД, КАТ и ПЕР уменьшалась по сравнению с их активностью в контроле; защитные ресурсы эмбриона в результате продолжающейся интоксикации мазутом истощались, что привело к негативным эффектам.

Под действием тестируемых концентраций мазута у развивающейся икры собачки желтокрасной происходила модификация ответных реакций АОС. На стадии V отмечено двукратное увеличение активности СОД при низкой концентрации мазута, при этом активность КАТ не изменилась, а активность ПЕР снизилась в 4 раза. В данном случае доля СОД по отношению к КАТ увеличилась по сравнению с таковой в контроле, а соотношение СОД/ПЕР, наоборот, снизилось, указывая на активное производство супероксидрадикала, который подвергается дисмутации посредством СОД. Однако активность КАТ, разлагающей образующуюся в результате данной реакции перекись водорода, не изменилась, а доля ПЕР по отношению к СОД увеличилась. Очевидно, ПЕР вовлекается в редукцию H_2O_2 и происходит снижение активности ГР, восстанавливающей дисульфидную связь окисленного глутатиона GSSG до его сульфгидрильной формы GSH. При увеличении концентрации мазута до 0.02 мг/л активность СОД оставалась повышенной по сравнению с таковой в контроле, что также свидетельствует об интенсивной генерации активных форм кислорода (АФК). Увеличение активности КАТ и ПЕР может говорить об активании этих ферментов для деградании перекиси водорода. В обоих случаях доля ГР по отношению к КАТ и ПЕР оставалась выше, чем в контроле, это подтверждает направленность реакций детоксикации в эмбрионе на стадии V. Следует отметить, что стадия V характеризуется интенсивным морфогенезом: наблюдается рост хвостового отдела, появляется сердце, образуются зачатки кишечника и печени, а также плавниковой каймы. Это требует значительных энергетических трат и приводит к дополнительной продукции АФК. Однако тот факт, что в некоторых случаях активность ферментов КАТ и ПЕР по отношению к контролю не изменилась, свидетельствует об успешности стратегии эмбриона для противодействия окислительному стрессу, вызванному активацией метаболических реакций в связи с ростом, развитием и подготовкой к выклеву, а также действием токсиканта.

На стадии VI при низкой концентрации токсиканта активность СОД уменьшилась почти в 3 раза, однако активность КАТ и ПЕР не изменилась, что говорит о способности обоих ферментов успешно разлагать образующуюся в данных условиях H_2O_2 . В этом случае доля активности СОД по отношению к активностям этих ферментов снизилась. Активность СОД при большей концентрации мазута оставалась ниже контроля, но выше значения, наблюдавшегося при низкой концентрации токсиканта. Это вызвало снижение активности ПЕР, компенсирующей разложение перекиси водорода, при неизменной активности КАТ. Активность ГР была близка к контролю и существенно выше, чем активность фермента при низкой концентрации токсиканта. Таким образом, на стадии VI работают иные, чем на стадии V, компенсаторные механизмы, что обусловлено прежде всего особенностями морфофизиологических процессов, происходящих в организме эмбриона. В этот период начинает функционировать сердце, зародыш интенсивно двигается перед вылуплением, что сопровождается значительными энергетическими тратами и активацией образования АФК. При наличии токсиканта необходимы дополнительные затраты на процессы его детоксикации, что требует соответствующей реорганизации метаболизма. Ранее было показано, что под влиянием разных видов нефти меняется число сердечных сокращений у эмбрионов Danio rerio (Hamilton, 1822) - тест-объекта, широко используемого в токсикологических работах. В этом же исследовании установлена индукция цитохрома Р4501А (СҮР1А), индикатора накопления нефтяных углеводородов в организме (Incardona et al., 2011). Изменение кардиоритма у эмбрионов рыб обусловлено изменением проводимости в результате нарушения передачи импульса на мембране кардиоцита, а также механизма транспорта ионов кальция и калия через ионные каналы (Brette et al., 2014). При этом нефтяные фракции, содержавшие ароматические углеводороды, были в 3-5 раз более токсичны, чем нециклические компоненты. Нарушение сердечного ритма приводило к снижению двигательной активности эмбрионов, требующей больших энергетических трат, и, следовательно, активного поглощения кислорода, что в условиях нефтяного загрязнения затруднено. Нарушение кардиоритма создает определенный риск для процесса вылупления и дальнейшего выживания личинок рыб (Klinger et al., 2015).

Таким образом, при разработке биотестов на икре рыб с использованием в качестве биомаркеров параметров антиоксидантной системы необходимо учитывать этап эмбриогенеза. На последних стадиях эмбрионального развития активность антиоксидантных ферментов возрастает в связи с подготовкой к процессу вылупления и неизбежному окислительному стрессу при выходе личинки из оболочки в окружающую среду. Наличие токсиканта в среде — это дополнительная нагрузка на антиоксидантную систему, обусловленная необходимостью детоксифицировать продукты свободнорадикального окисления. Различия, которые установлены в откликах

БИОЛОГИЯ МОРЯ том 48 № 5 2022

АОС на разных стадиях эмбриогенеза исследованного вида рыб, отражают данные процессы и особенности их протекания на последних стадиях развития икры. Активность компонентов защитной антиоксидантной системы существенно изменяется по отношению к контролю; результаты нашего исследования демонстрируют эффективность их применения в качестве молекулярных биомаркеров для разработки методов биотестирования и выяснения механизмов адаптаций ранних онтогенетических стадий развития морских рыб к неблагоприятным условиям среды обитания.

Подобные исследования необходимы также для мониторинга загрязнения морепродуктов нефтью, которая передается по пищевым цепям и, накапливаясь в рыбе, представляет опасность для человека (Xia et al., 2012). К тому же, нефтяное загрязнение значительно ослабляет иммунитет рыб, делая их уязвимыми для различных патогенов, в том числе болезнетворных вирусов и бактерий, таких как Photobacterium damselae и Vibrio vulnificus; в акваториях, где происходили разливы нефти, неоднократно регистрировали эпизоотию среди рыб. При развитии эмбрионов рыб в среде, загрязненной нефтью, отмечали нарушение экспрессии генов, ответственных за половую дифференциацию и рост. У икры, содержавшейся в среде с разной концентрацией нефти, наблюдали задержку развития, запоздалое вылупление личинок и снижение их выживаемости (Dubansky et al., 2013), а также индукцию окислительного стресса (Crowe et al., 2014; Pereira et al., 2018), что согласуется с данными, полученными в настоящем исследовании. При перераспределении энергии на детоксикацию модифицируются генетические процессы, в том числе экспрессия генов, транскрипция и трансляция, повышается уровень СРО. В результате у развивающегося эмбриона происходит реорганизация метаболизма путем оптимизации соотношений активности антиоксидантных ферментов, которые должны обеспечить не только эффективный процесс вылупления личинки, но и детоксикацию при наличии токсиканта в среде.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-44-920007 "Роль глобальных и локальных факторов в формировании ихтиопланктонных сообществ Черного моря".

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность к. б. н. Т.Л. Чесалиной за разработку дизайна эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дехник Т.В. Ихтиопланктон Черного моря. Киев: Наукова думка. 1973. 235 с.
- Патин С.А. Морской нефтегазовый комплекс: факторы экологического риска // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2015. № 4. С. 5–12.
- Чесалина Т.Л., Руднева И.И., Кузьминова Н.С. Токсическое действие соляра на молодь черноморской кефали-остроноса *Liza saliens* // Вопр. ихтиологии. 2000. Т. 40. № 3. С. 429–432.
- *Beirão J., Baillonc L., Litta M.A. et al.* Impact of crude oil and the dispersant Corexit[™] EC9500A on capelin (*Mallotus villosus*) embryo development // Mar. Environ. Res. 2019. V. 147. P. 90–100.
- Bender M.L., Giebichenstein J., Teisrud R.N. et al. Combined effects of crude oil exposure and warming on eggs and larvae of an arctic forage fish // Sci. Rep. 2021. V. 11. Art. № 8410.
- Beyer J., Trannum H.C., Bakke T. et al. Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: A review // Mar. Pollut. Bull. 2016. V. 110. № 1. P. 28–51.
- Brette F., Machado B., Cros C. et al. Crude oil impairs cardiac excitation–contraction coupling in fish // Science. 2014. V. 343. P. 772–776.
- *Crowe K.M., Newton J.C., Kaltenboeck B. et al.* Oxidative stress responses of gulf killifish exposed to hydrocarbons from the Deepwater Horizon oil spill: potential implications for aquatic food resources // Environ. Toxicol. Chem. 2014. V. 33. P. 370–374.
- Domingyes I., Oliveira J., Lourenco J. et al. Biomarkers as a tool to assess effects of chromium (VI): comparison of responses in zebrafish early life stages and adults // Comp. Biochem. Physiol. 2010. Part C. V. 152. P. 338– 345.
- Dubansky B., Whitehead A., Miller J. T. Multitissue molecular, genomic, and developmental effects of the Deepwater Horizon oil spill on resident gulf killifish (*Fundulus grandis*) // Environ. Sci. Technol. 2013. V. 47. № 10. P. 5074–5082.
- Dubansky B., Whitehead A., Rice C.D. et al. Response to comment on "Multitissue molecular, genomic, and developmental effects of the Deepwater Horizon oil spill on resident gulf killifish (Fundulus grandis)" // Environ. Sci. Technol. 2014. V. 48. P. 7679–7680.
- Geraudie P., Bakkemo R., Milinkovitch T. et al. First evidence of marine diesel effects on biomarker responses in the Icelandic scallops, *Chlamys islandica* // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016. V. 23. № 16. P. 16504–16512.

- Hansen B.H., Farkas J., Nordtug T. et al. Does microbial biodegradation of water-soluble components of oil reduce the toxicity to early stages of fish? // Environ. Sci. Technol. 2018. V. 162. P. 59–62.
- *Incardona J.P., Linbo T.L., Scholz N.L.* Cardiac toxicity of 5-ring polycyclic aromatic hydrocarbons is differentially dependent on the aryl hydrocarbon receptor 2 isoform during zebrafish development // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2011. V. 257. P. 242–249.
- Jiang M., Li L., Shen G., Shen X. Oxidative stress in shellfish Sinonovacula constricta exposed to the water accommodated fraction of zero sulfur diesel oil and pinghu crude oil // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2017. V. 73. № 2. P. 294–300.
- Jin J., Kurobe T., Hammock B.G. et al. Toxic effects of fluridone on early developmental stages of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) // Sci. Total Environ. 2020. V. 700. Art. № 134495.
- Klinger D.H., Dale J.J., Machado B.E. et al. Exposure to Deepwater Horizon weathered crude oil increases routine metabolic demand in Chub mackerel, Scomber japonicus // Mar. Pollut. Bull. 2015. V. 98. P. 259–266.
- Kuppusamy S., Maddela N.R., Megharaj M. et al. Ecological impacts of total petroleum hydrocarbons // Total Petroleum Hydrocarbons: Environmental Fate, Toxicity, and Remediation. Cham, Switzerland: Springer. 2020. P. 95–138.
- Martinez-Gomez C., Campillo J.A., Benedicto J. et al. Monitoring biomarkers in fish (Lepidorhombus boscii and Callionymus lyra) from the northern Iberian shelf after the Prestige oil spill // Mar. Pollut. Bull. 2006. V. 53. P. 305–314.
- Mu X., Pang S., Sun J. et al. Evaluation of acute and developmental effects of difenoconazole via multiple stage zebrafish assays // Environ. Pollut. 2013. V. 175. P. 147–157.
- Mu X., Liu J., Yang K. et al. Diesel water-accommodated fraction induced lipid homeostasis alteration in zebrafish embryos // Environ. Pollut. 2018. V. 242. Part 4. P. 952–961.
- Muhling B.A., Roffer M.A., Lamkin J.T. et al. Overlap between Atlantic bluefin tuna spawning grounds and observed Deepwater Horizon surface oil in the northern Gulf of Mexico // Mar. Pollut. Bull. 2012. V. 64. P. 679–687.
- Pereira T.M., Merçon J., Passos L. S. et al. Effects of the water-soluble fraction of diesel oil (WSD) on the fertilization and development of a sea urchin (*Echinometra lucunter*) // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2018. V. 162. P. 59–62.
- Phan T.C.T., Manuel A.V., Tsutsui N. et al. Impacts of shortterm salinity and turbidity stress on the embryonic stage of red sea bream Pagrus major // Fisheries Sci. 2020. V. 86. P. 119–125.
- Rooker J.R., Kitchens L.L., Dance M.A. et al. Spatial, temporal, and habitat-related variation in abundance of pelagic fishes in the Gulf of Mexico: Potential implications of the Deepwater Horizon oil spill // PLoS One. 2013. V. 8. № 10. e76080.
- Rudneva I.I. Antioxidant system of Black Sea animals in early development // Comp. Biochem. Physiol. C

Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 1999. V. 122. № 2. P. 265–271.

- Rudneva I.I. Biomarkers for stress in fish embryos and larvae. CRC Press. Taylor & Francis Group. 2014. 206 p.
- *Rudneva I.I.* Use of fish embryo biomarkers for the evaluation of mazut toxicity in marine environment // Int. Aquat. Res. 2019. V. 11. P. 147–157.
- Samuelsen A., Daewe U., Wettre C. Risk of oil contamination of fish eggs and larvae under different oceanic and weather conditions ICES // J. Mar. Sci. 2019. V. 76. № 6. P. 1902–1916.
- Sehonova P., Plhalova L., Blahova J. et al. Toxicity of naproxen sodium and its mixture with tramadol hydrochloride on fish early life stages // Chemosphere. 2017. V. 188. P. 414–423.
- Stancova V., Plhalova L., Blahova J. et al. Effects of the pharmaceutical contaminants ibuprofen, diclofenac, and carbamazepine alone, and in combination, on oxidative stress parameters in early life stages of tench (*Tinca tinca*) // Veterinarni Medicina. 2017. V. 62. № 2. P. 90–96.
- Velisek J., Stara A. Effect of thiacloprid on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*) // Chemosphere. 2018. V. 194. P. 481–487.
- Xia K., Hagood G., Childers C. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Mississippi seafood from areas affected by the Deepwater Horizon oil spill // Environ. Sci. Technol. 2012. V. 46. P. 5310–5318.
- Zhang J.F., Wang X.R., Guo H.Y. et al. Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish Carassius auratus // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2004. V. 58. P. 110–116.

Responses of the Antioxidant System of Embryos of the Rusty Blenny *Parablennius* sanguinolentus (Pallas, 1814) (Blenniiformes: Blenniidae) to Pollution of the Marine Environment with Heavy Fuel Oil

I. I. Rudneva

Marine Hydrophysical Institute, Russian Academy of Science, Sevastopol 299011, Russia

Oil pollution remains a serious problem for marine ecosystems, especially for coastal waters that are known as spawning areas of many fish and invertebrates, including commercial species, and are characterized by high biodiversity and productivity. The early ontogenetic stages of aquatic organisms are very sensitive to action of pollutants, which generate various toxic effects, including oxidative stress. The effect of heavy fuel oil (mazut) at concentrations of 0.00001 and 0.02 ml/l on the activity of antioxidant enzymes in the embryos of the rusty blenny *Parablennius sanguinolentus* was assessed in embryonic stages V and VI. The recorded ambiguous responses of enzymes depended on the stage of embryo development and the concentration of the toxicant. This study investigates possible pathways of reorganization of the enzyme antioxidant system to protect embryos from oxidative stress caused both by preparation to the hatching process by the action of the toxicant effect of mazut.

Keywords: Black Sea, heavy fuel oil (mazut), pollution, fish eggs, biomarkers, antioxidant enzymes