

УДК 575.4.23:595.7:581.14:582.26:591.8

Т.М.Шалахметова\*, М.А.Суворова, Л.Р.Сутуева, А.С.Ондасынова, М.С.Жанкулова,  
К.А.Мухатаева

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Республика Казахстан, г. Алматы  
\*E-mail: Tamara.Shalakhmetova@kaznu.kz

### **Токсико-экологическое исследование фоновых видов животных территорий Кызылординской области, прилегающих к месторождению Кумколь**

Проведено токсико-экологическое исследование фоновых видов животных (лягушка озерная, агама степная, большая песчанка) территорий Кызылординской области. Установлены значительные изменения биохимических показателей ПОЛ, функции биотрансформации веществ, а также антиоксидантной защиты у животных из биотопов, подверженных воздействию нефтяного месторождения Кумколь. Профиль изменений сходен с воздействием нативной нефти этого месторождения на лабораторных животных.

**Ключевые слова:** месторождение Кумколь, нефть, экосистема, биотоп, амфибии, рептилии, грызуны, ПОЛ, детоксикация

Т.М.Шалахметова, М.А.Суворова, Л.Р.Сутуева, А.С.Ондасынова, М.С.Жанкулова,  
К.А.Мухатаева

### **Кызылорда облысының аумақтарындағы фон жануарлар түрлерін токсико-экологиялық зерттеуі**

Кызылорда облысының аумақтарындағы фон жануарлар түрлерін (көл бақа, дала ешкемері, ұлы құмтышқан) токсико-экологиялық зерттеу өткізілді. Құмкөл мұнай кен орны аумақтарында тіршілік ететін жануарлардың биохимиялық көрсеткіштерінің, бұл антиоксиданттық қорғау және заттардың биотрансформация функциясының өзгерістерін көрсетті. Өзгеріс профильдері зертханалық жануарларға шикі мұнай буларының әсеріне сәйкес келеді.

**Түйін сөздер:** Құмкөл мұнай кен орны, экожүйелік, мекендеу, космекенділер, бауырымен жорғалаушылар, кеміргіштер.

T.M.Shalakhmetova, M.A.Suvorova, L.R.Sutyeva, A.C.Ondassynova, M.C.Zhankulova, K.A.Mukhatayeva  
**Toxic-ecological research of background animal species of Kyzylorda region territories, adjacent to the Kumkol oilfield**

A toxic-ecological research of background animal species (marsh frog, steppe agama, great gerbil) of Kyzylorda region territories has been conducted. A significant change in biochemical parameters of lipid peroxidation, substances biotransformation function, as well as antioxidant protection in animals from biotopes exposed to the impact of Kumkol oil field were determined. The profile of changes is similar to the influence of the native oil in laboratory animals.

**Keywords:** Kumkol oil field, oil, ecosystem, biotope, amphibians, reptiles, rodents, lipid peroxidation, detoxification

Большинство областей Республики Казахстан, в которых ведется интенсивная нефтедобыча, относятся к экологически уязвимым, так как ситуация отягощается климатическими условиями. Атырауская, Мангыстауская и Кызылординская области относятся к аридным территориям, для экосистем которых характерна низкая устойчивость к антропогенному воздействию и недостаточная способность к самовосстановлению [1].

Нефтедобывающая отрасль Казахстана является одним из мощнейших антропогенных источников загрязнения, но при этом и основной экономической составляющей страны. В настоящее время отказаться от этой деятельности не представляется возможным, поэтому необходимо постоянно оценивать состояние экосистем данных территорий, включая состояние биоты. Месторождение Кумколь, находящееся на границе Кызылординской и Карагандинской областей, не является исключением. Возрастающая там нефтедобыча вносит существенный вклад как в экономику страны, так и в загрязнение окружающей среды соседних областей.

Таким образом, первым и основным этапом оценки экологического риска указанных производств является постоянный экологический мониторинг данных территорий, то есть оценка текущей экологической ситуации. Мониторинг включает использование различных физико-химических, биологических методов, а также системы наземного дистанционного наблюдения и дистанционного зондирования. Однако наиболее надежным методом оценки реакции живых организмов на загрязнение окружающей среды является биологический мониторинг, включающий биоиндикацию и биотестирование. Использование в биоиндикации адекватных биомаркеров позволяет получить комплексную оценку физиологического состояния животных, обитающих на данных территориях [2,3]. Причем биоиндикационные исследования влияния нефтяного загрязнения необходимо проводить на фоновых массовых видах животных, обитающих в данном регионе, и на лабораторных животных при воздействии данного вида токсиканта, сравнивая полученные результаты полевых и экспериментальных исследований.

Целью настоящего исследования явилось токсико-экологическое изучение состояния фоновых видов животных (отдельных представителей амфибий, рептилий, млекопитающих) из биотопов территорий, прилегающих к нефтегазовому месторождению Кумколь.

### Материалы и методы исследования

Сбор материала осуществлялся в результате экспедиционных выездов в 2015 году в Кызылординскую область:

1) В Сырдарьинском районе (координаты N45.24256 E 66.48932) (рисунок 1), на территориях, удаленных от месторождения Кумколь и принятые за условно чистые. Данная территория представлена пустынями и полупустынями, а почва образована солончаками и такырами. Растительность на пустынных и полупустынных территориях представлена различными видами кустарников (жынгыл (*Tamarix sp.*), джужгун (*Calligonum sp.*)), полукустарников (боялыч (*Salsola arbuscula*), биюргун (*Anabasis salsa*), полынь (*Artemisia sp.*) и трав (типчак (*Festucavalesiaca*), ковыль (*Stipasp.*). Повсеместно распространена верблюжья колючка (*Alhagisp.*). Животный мир представлен грызунами (большая песчанка, суслик-песчаник, тушканчик), пресмыкающимися (агама степная, ящурка быстрая), вокруг водоемов - земноводные (лягушка озерная, жаба зеленая).

2) Вокруг месторождения Кумколь, (координаты N 46.35054, E 65.74603 (рисунок 2). Территория представлена плоской равниной, с пустынной и полупустынной растительностью, преобладают типчак, ковыль, верблюжья колючка, полукустарники (боялыч, биюргун, кокпек) и редки кустарники (тамариск, джужгун), широко распространены колючие кустарники. Травяной покров к началу июня выгорает. Для данной территории также были характерны замкнутые котловины, занятые небольшими водоемами, на поверхности которых местами обнаруживались темные маслянистые пятна.



Рисунок 1 - Места отлова животных из условно чистых биотопов Кызылординской области



Рисунок 2 - Места отлова животных из нефтезагрязненных биотопов Кызылординской области

Животный мир здесь беднее и представлен грызунами (большая песчанка, суслик-песчанник, тушканчик), пресмыкающимися (агама степная и другие) и земноводными (лягушка озерная).

В результате экспедиционных выездов, в условно чистых биотопах (Сырдарьинский район) (рисунок 1) были отловлены: 5 особей (самцов) большой песчанки (*Rhombomys opimus*), 11 особей озерной лягушки (*Rana ridibunda*), 5 особей (самцы) агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*).

Вокруг месторождения Кумколь (рисунок 2) были также отловлены: 5 особей (самцов) большой песчанки (*Rhombomys opimus*), 11 особей озерной лягушки (*Rana ridibunda*), 5 особей (самцы) агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*). Всего было собрано 10 особей (самцов) большой песчанки (*Rhombomys opimus*), 22 особи озерной лягушки (*Rana ridibunda*), 10 особей (самцы) агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*). Забой животных осуществлялся в лаборатории Кызылординской противочумной станции.

Для биохимического анализа продуктов ПОЛ, ферментов функции детоксикации и антиоксидантной системы кусочки печени и почек размером 0,5 x 0,5 см замораживали в жидком азоте. После приезда в г. Алматы, материалы переносились в низкотемпературный холодильник Platinum 500 (-78<sup>0</sup>), а затем подвергались биохимическому анализу.

Биохимическое определение содержания гидроперекисей липидов основано на измерении светопоглощения конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 232-234 нм [4]. Определение содержания малонового диальдегида проводили с помощью тиобарбитуровой кислоты [5]. Активность глутатион-S-трансферазы (GST) определяли, измеряя реакцию конъюгации 1-хлор-2,4-динитробензена с редуцированным глутатионом [6]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли измеряя реакцию выпадения красного формазана в результате восстановления нитросинего тетразолия и супероксидных радикалов, которые генерируются ксантинооксидазой. 50% ингибирования этой системы соответствуют 1 условной единице активности данного фермента [7]. Для определения активности каталазы применяли метод H.Luck [7].

### Результаты исследований и их обсуждение

Результаты биохимического анализа содержания общего цитохрома P450 в печени представителей фоновых видов амфибий, рептилий и млекопитающих из биотопов Кызылординской области приведены в таблице 1, глутатионтрансферазы – на рисунках 3 и 4.

Биохимический анализ ферментов первого и второго этапа биотрансформации выявил различный уровень ферментов цитохрома p450 и глутатион-S-трансферазы в висцеральных

органах всех исследуемых фоновых видов животных. Наибольшее снижение активности этих ферментов наблюдалась в печени и почках лягушки озерной и агамы степной.

Таблица 1 – Содержание цитохрома р450 в печени и почек озерной лягушки (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области, нмоль/г, М±m.

Биотоп	Лягушка озерная	Агама степная	Большая песчанка
1	2	3	4
печень			
Условно чистый	4,15±0,11	4,8±0,13	7,09±0,16
Нефтезагрязненный	2,08±0,21*	2,84±0,10*	4,68±0,27*
почки			
Условно чистый	3,05±0,11	3,49±0,13	6,67±0,16
Нефтезагрязненный	1,2±0,21*	1,78±0,10*	3,71±0,27*

Примечание: \*P≤0,05; \*\*P≤0,01; \*\*\*P≤0,001 по сравнению с условно чистым биотопом

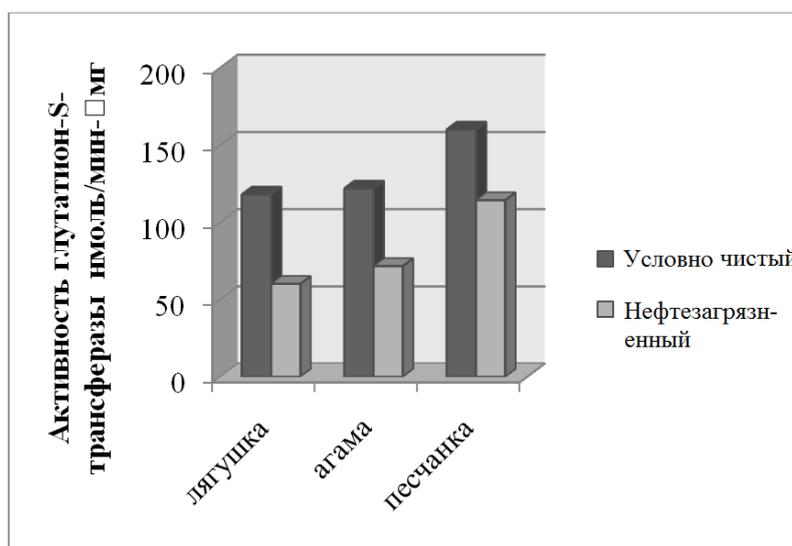


Рисунок 3 – Активность глутатион-S-трансферазы в печени лягушки озерной (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области, нмоль/мин·мг, М±m

Как видно из таблицы 1, уровень цитохрома р450 достоверно снижался в печени озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в 2,0 раза, а в почках 2,5 раз, у степной агамы (*Trapelus Sanguinolentus*) в 1,7 раза в печени и в 1,9 раза в почках, у больших песчанок (*Rhombomys opimus*) в 1,5 и 1,8 раза, соответственно. Уровень глутатион-S-трансферазы в печени и почках амфибий достоверно снижался - в 2,0 и 2,2 раза, соответственно, по сравнению с животными из условно чистых биотопов, а у представителей рептилий – в 1,7 раза в печени и в 1,8 раза в почках. У песчанок эти показатели снижались соответственно в 1,4 и 1,7 раза ( $p \leq 0,001$ ). Снижение уровня ферментов детоксикации является, вероятно, результатом, развития дистрофических и некробиотических изменений в паренхиме органов исследуемых животных.

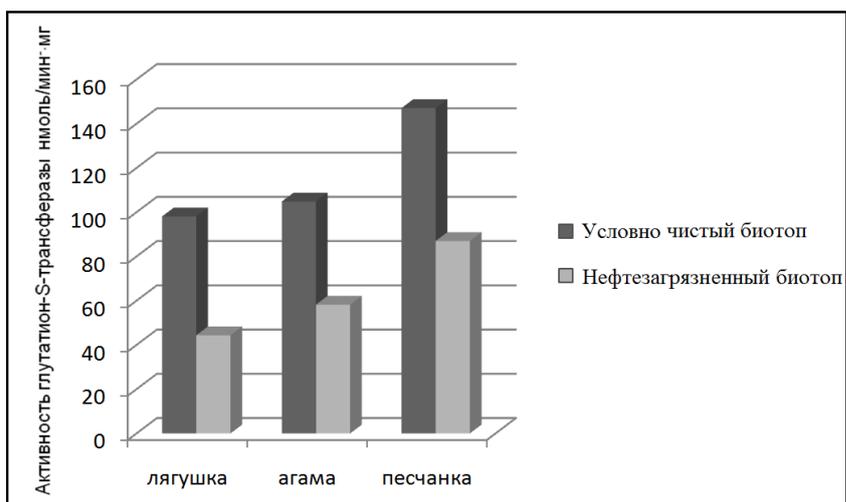


Рисунок 4 – Активность глутатион-S-трансферазы в почках лягушки озерной (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области, нмоль/мин·мг,  $M \pm m$

Уровень процессов ПОЛ, определяемый по концентрации в клетках первичных и вторичных метаболитов – гидроперекисей липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА), свидетельствовал о развитии окислительного стресса в клетках в печени и почках исследуемых животных. Результаты биохимического анализа содержания продуктов ПОЛ в печени и почках озерной лягушки (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus Sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области представлены на рисунке 5.

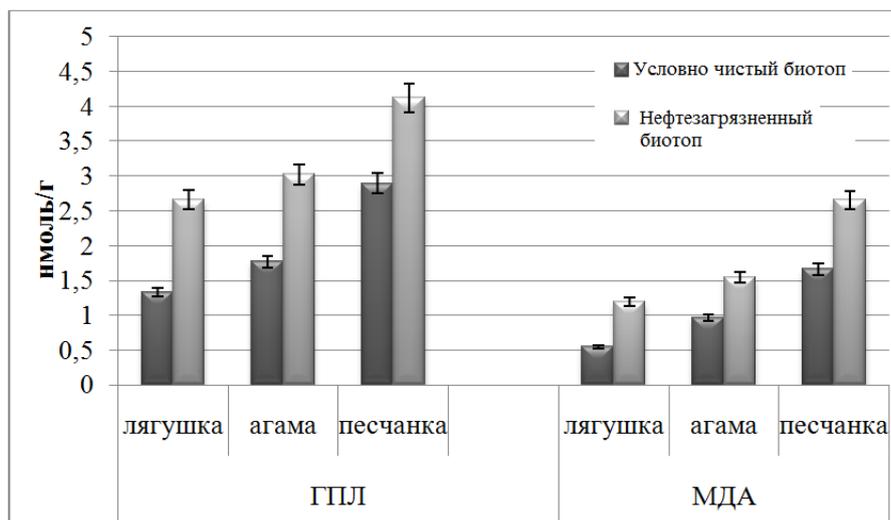


Рисунок 5 – Содержание продуктов ПОЛ в печени лягушки озерной (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области,  $M \pm m$

В печени всех групп животных из биотопов нефтезагрязненных территорий было отмечено превышение уровня продуктов ПОЛ. Так, у лягушек из биотопов нефтезагрязненных территорий уровень ГПЛ был выше в 2,0 раза, МДА – в 1,8 раз, а у агам в 1,7 и 1,6 раза, соответственно. У большой песчанки – уровень ГПЛ увеличивался в 1,4 раза, МДА – в 1,3 раз ( $P \leq 0,01$ ,  $P \leq 0,05$ , соответственно). Таким образом, отмечалось повышение уровня ГПЛ и МДА в ряду амфибии → рептилии → млекопитающие.

В почках животных из биотопов нефтезагрязненного района, по сравнению с животными из условно чистых биотопов было также обнаружено увеличение уровня продуктов ПОЛ. При этом уровень продуктов ПОЛ в почках животных из условно чистых биотопов был ниже, чем в печени этих же животных. Однако, уровень ГПЛ и МДА в почках животных из нефтезагрязненных биотопов был выше, чем в печени тех же животных. Так, уровень ГПЛ и МДА в почках лягушек этой группы был достоверно выше в 2,1 и 2,0 раз, агам – в 1,9 и 1,8 раз, песчанок – 1,6 и 1,5 раза. Таким образом, активность процессов ПОЛ в почках у животных из биотопов нефтезагрязненных территорий выше, чем в печени этих же животных.

Состояние антиоксидантной системы клеток животных Кызылординской области оценивали по активности ключевых антиоксидантных ферментов, супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в печени и почках. Результаты представлены в таблицах 2 и 3. СОД осуществляет инактивацию радикалов кислорода, которые могут возникнуть в ходе биологических реакций переноса электронов или при воздействии металлов с переменной валентностью, токсических веществ, радиации. Каталаза - геминовый фермент, катализирует реакцию разрушения перекиси водорода, при этом образуются вода и молекулярный кислород.

Таблица 2 – Активность супероксиддисмутазы в печени и почках лягушки озерной (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области, U/мг, M±m

Биотоп	Лягушка озерная		Агама степная		Большая песчанка	
	печень	почки	печень	почки	печень	почки
Условно чистый	119,4±9,9	96,8±8,1	146,2±7,6	129,7±8,9	181,2±7,9	174,5±9,6
Нефтезагрязненный	76,6±7,1 **	53,8±5,2 **	104,4±5,9 **	76,3±6,8 **	150,8±10,2 **	134,2±8,4 **
Примечание: *P≤0,05; **P≤0,01; ***P≤0,001 по сравнению с условно чистым биотопом						

Активность СОД и каталазы различна в разных группах позвоночных, наименьшая – у амфибий, наибольшая у млекопитающих, для которых характерна высокая ферментативная активность в клетках печени и более совершенный гомеостаз.

Из таблицы 2 видно, что активность СОД в печени и почках озерной лягушки из нефтезагрязненных биотопов снижена соответственно в 1,6 и 1,8 раза (P≤0,01), у агамы степной в 1,4 и 1,7 раза (P≤0,01) и у большой песчанки в 1,2 и 1,3 раза (P≤0,01), соответственно, по сравнению с животными тех же видов из условно чистых биотопов.

Уровень другого ключевого антиоксидантного фермента – каталазы, у животных из биотопов нефтезагрязненных районов достоверно снижался. Например, у озерной лягушки активность данного фермента снижалась в печени и почках в 1,5 и 1,6 раза; у агамы степной 1,4 и 1,6 раза; а у большой песчанки - в 1,1 и 1,2 раза (P≤0,05), соответственно (таблица 3).

Таблица 3 – Активность каталазы в печени и почках лягушки озерной (*Rana ridibunda*), агамы степной (*Trapelus sanguinolentus*) и большой песчанки (*Rhombomys opimus*) из различных биотопов Кызылординской области, U/г, M±m.

Биотоп	Озерная лягушка		Агама		Большая песчанка	
	печень	почки	печень	почки	печень	почки
Условно чистый	2,24±0,2 4	2,18±0,17	2,77±0,26	3,07±0,22	3,71±0,24	3,97±0,25
Нефтезагрязненный	1,49±0,2 2*	1,36±0,19*	1,98±0,31*	1,92±0,28*	3,37±0,19*	3,31±0,21*
Примечание: *P≤0,05; **P≤0,01; ***P≤0,001 по сравнению с условно чистым биотопом						

Одной из причин подавления системы антиоксидантной защиты (снижение активности СОД и каталазы) у изученных видов животных, вероятно, является накопление активных форм кислорода и перекисных продуктов (перекисей жирных кислот, альдегидов, кетонов и прочих продуктов) в результате токсического действия нефти [8, 9].

Сравнительный анализ полученных данных по клеточным биомаркерам позволяет оценить состояние биоты различных территорий Кызылординской области. Распределение по маркерам ПОЛ, ферментам антиоксидантной защиты и функции детоксикации свидетельствует о неблагоприятном состоянии животных территорий, подверженных нефтяному загрязнению. В данном случае, это участки, непосредственно прилегающие к нефтяному месторождению Кумколь. Установлено, что среди всех изученных животных наиболее уязвимыми к токсическому действию нефтезагрязнения являются амфибии. Не случайно, их численность в последние годы уменьшилась в 25 раз. Высокая чувствительность бесхвостных амфибий к действию поллютантов определяется, вероятно, особенностями их физиологии, высокой проницаемостью кожи, её сильной васкуляризацией, а также характерными для них низкими адаптационными возможностями, по сравнению с млекопитающими. Патологические изменения в организме всех изученных видов фоновых животных определяются высоким уровнем ПОЛ и снижением активности ферментов детоксикации и антирадикальной защиты, что приводит к значительному накоплению токсичных метаболитов в печени и почках.

На основании данного и ранее проведенных исследований можно заключить, что на животных, обитающих на территориях вокруг нефтяного месторождения Кумколь, оказывается персистирующее химическое воздействие, профиль которого сходен с воздействием нативной нефти в эксперименте [10,11].

Исследования были проведены в рамках грантового проекта 4927/ГФ4 «Токсико-экологическое изучение состояния окружающей среды нефтедобывающих регионов Казахстана и оценка экологического риска нефтяного воздействия» (2015-2017 гг), № госрегистрации 0115РК00381, научный руководитель - Т.М.Шалахметова.

#### Литература

1. Kosarev A. N. The Caspian Sea Environment // Berlin: Springer – 2005. – 271 p.
2. Smith Ph. N., Cobb G. P., Godard-Codding C., Hoff D., McMurry T. S., Rainwater R. Th., Reynolds K. D. Contaminant exposure in terrestrial vertebrates Review Article // Environmental Pollution. – 2007. – Vol. 150, № 1. – P. 41-64.
3. Marsili L., Casini S., Mori G., Ancora S., Bianchi N., D'Agostino A., Ferraro M., Fossi M.C. The Italian wall lizard (*Podarcis sicula*) as a bioindicator of oil field activity // Science of The Total Environment. – 2009. – Vol. 407, № 11. – P. 3597-3604.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С.23-25.
5. Pradnya S. Walawalkar, Pooja S. Serai, Iyer K.R. Isolation and catalytic competence of different animal liver microsomal fractions prepared by calcium-aggregation method // Indian journal of pharmaceutical sciences. - 2006. – Vol. 68, № 1. 2. – P. 262-265.
6. Herbig W.J, Pabst M.J, Jacoby W.B. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. -1974. – № 249. – P. 7139–7147.
7. Guengerich F.P., Hayes A.W (eds). Analysis and characterization of enzymes // In: Principles and methods of toxicology, 3rd Edn., Raven Press, New York. – 1994. – P. 1259–1313.
8. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – Vol. 35 (Pt 5). – P. 1147–1150.
9. Deer A.K., Henczova M., Banka L., Varanka Z., Nemcsok J. Effects of crude oil and oil fractions on the liver P450-dependent monooxygenase activities and antioxidant defence system of different freshwater fish species // Acta. Biol. Hung. – 2010. – Vol. 61. – P. 262–273.
10. Сутуева Л., Ондасынова А, Суворова М., Абдуллаева Б, Шалахметова Т. Экспериментальное исследование биохимических маркеров гепатотоксического действия Мангыстауской нефти // Вестник КазНУ. Серия биол. – 2013. – №2 (38). – С. 340 - 345.
11. T. Shalakhmetova; M. Suvorova; L. Sutuyeva; A. Ondassynova; K. Mukhatayeva. The study of biomarkers of toxic effects of oil in the background species of animals from oil contaminated territories// Materials of 10th Iberian/7th Iberoamerican Congress on Environmental Contamination and Toxicology (CICTA 2015), Vila Real, Portugal, 14-17/08/2015.