

УДК 574.1:577.41

**Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П.***Тихоокеанский океанологический институт  
им. В.И. Ильичева ДВО РАН, г. Владивосток***РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МИДИИ ГРЕЯ  
CRENOMYTILUS GRAYANUS КАК ИНДИКАТОР ЗАГРЯЗНЕНИЯ  
ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ (ЗАЛИВ ПЕТРА ВЕЛИКОГО В ЯПОНСКОМ  
МОРЕ)**

*Аннотация.* Цель работы состояла в изучении ответной реакции антиоксидантной системы двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*, собранного в разных по степени загрязнения акваториях. Показана положительная зависимость между изменениями биохимических параметров (активность антиоксидантных ферментов, содержание глутатиона, продуктов перекисного окисления липидов) и степенью загрязнения районов исследования. Отмечено, что в тканях жабр мидии Грея поллютанты вызывают снижение активности низкомолекулярного звена антиоксидантной системы, изменение активности ферментов и увеличение продуктов ПОЛ.

*Ключевые слова:* загрязнение акватории, окислительный стресс, ферменты, *Crenomytilus grayanus*, глутатион, продукты ПОЛ.

***N. Dovzhenko, N. Belcheva, V. Chelomin****V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch,  
Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russia)***RESPONSE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF MUSSELS CRENOMYTILUS  
GRAYANUS AS INDICATOR OF POLLUTION OF COASTAL WATERS (PETER  
THE GREAT BAY, EASTERN/JAPAN SEA)**

*Abstract.* The aim of the current research was to study the response of the antioxidant system of the bivalve *Crenomytilus grayanus*, collected in differently polluted waters of Peter the Great Bay (Eastern/Japan Sea). A positive correlation between changes in biochemical parameters (activity of antioxidant enzymes, glutathione content and lipid peroxidation) and the degree of contamination of the area of research is shown. It is found that pollutants decrease the activity of the low-molecular-level antioxidant system, change the activity of enzymes and increase the number of lipid peroxidation products in the mussel gill tissues.

*Keywords:* marine environmental pollution, oxidative stress, enzymes, *Crenomytilus grayanus*, glutathione, lipid peroxidation products.

Прибрежные морские акватории вблизи крупных населенных пунктов подвержены воздействию многочис-

© Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П., 2014.

ленных источников бытовых, промышленных и сельскохозяйственных отходов, что приводит к нарушению природного фона химических элементов в среде и организмах. Большинство

загрязняющих веществ опускаются на дно и сорбируются донными отложениями, химический состав которых является достаточно постоянным показателем и более полно отражает реальное загрязнение водных объектов [6, с. 313]. Биохимические изменения метаболизма донных организмов являются наиболее ранними и чувствительными индикаторами физиологического состояния, отражающему условия его существования и могут служить маркерами для оценки раннего проявления повреждающего действия негативных факторов среды. В связи с этим целью нашей работы стало выявление негативного воздействия загрязнения прибрежных вод селитебной зоны г. Владивостока на двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) посредством биохимических маркеров и иллюстрация эффективности применения данных маркеров в мониторинге прибрежных акваторий.

В работе дана характеристика двух групп (антирадикальной и антиперекисной) единой антиоксидантной (АО) системы моллюсков из разных районов залива Петра Великого (Японское море). В тканях жабр были определены активности основных АО ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионзависимой редуктазы (ГР), содержание глутатиона, интегральная антирадикальная активность. Степень развития окислительного стресса в клетках жабр оценивали по накоплению первичных (диеновых конъюгатов) и конечных (малонового диальдегида и липофусцина) продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

## Материалы и методы

**Характеристика районов сбора материала.** В работе использовали половозрелых мидий Грея, размером 7-10 см. Отбор моллюсков проводился в августе-октябре водолазным способом. Моллюски собраны в разных по степени антропогенной нагрузки районах залива Петра Великого (Японское море): акватория о-ва Рейнеке (ст. 1), мыс Токаревского (ст. 2), мыс Чумака (ст. 3), мыс Ограновича (ст. 4), мыс Грозный (ст. 5) и бухта Десантная (ст. 6) (см. рис. 1). Акватория о-ва Рейнеке – условно чистый район с фоновым содержанием металлов и хлорорганических соединений в осадках [5, с. 93; 8, с. 53]. В наибольшей степени загрязнены донные отложения Амурского залива, омывающего с трех сторон промышленно-селитебную зону г. Владивостока. В пределах залива загрязнен участок от мыса Фирсова до мыса Токаревского, куда входит исследованный район м. Чумака [6, с. 316]. Мыс Токаревского является юго-западной оконечностью полуострова Шкота и находится в зоне дампинга, где долгое время велись дноуглубительные работы. В данном районе наблюдается резкое падение содержания кислорода в морской воде и увеличение концентрации нефтяных углеводородов и фенолов [7, с. 243].

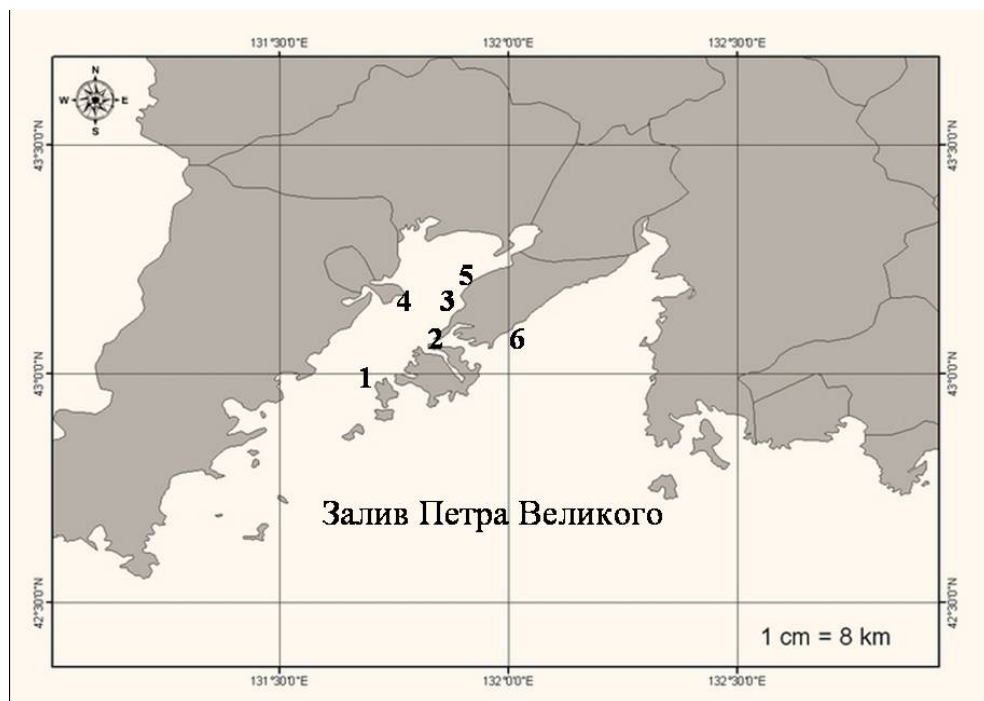


Рис. 1. Карта станций сбора мидии Грея *C. grayanus* (1 – о-в Рейнеке; 2 – м. Токаревского; 3 – м. Чумака; 4 – м. Ограновича; 5 – м. Грозный; 6 – б. Десантная)

Мыс Грозный расположен в нескольких километрах севернее мыса Фирсова. Мыс Ограновича – удаленный от г. Владивостока район, однако течения (в большей степени ветровые), огибающие мыс Ограновича, приносят с водными массами загрязняющие вещества. Бухта Десантная – это бухта, прилегающая к б. Горностаи (Усурийский залив), акватория которая длительно подвергалась многолетнему антропогенному воздействию [1, с. 88].

#### **Подготовка образцов к анализу.**

Для наших исследований были использованы жабры моллюсков. Из всех групп моллюсков отбирали и препарировали по 5 экземпляров близкого размера. Определение биохимических показателей в жабрах от 5 моллюсков проводили в 4-х параллельных пробах.

Жабры были препарированы на льду и хранились при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Ткани гомогенизировали в охлажденном Трис-НСI буфере (0,05 М, рН=8,0,  $t=0-4^{\circ}\text{C}$ ). Гомогенаты центрифугировали в течение 40 мин при 10800 г и при температуре  $4^{\circ}\text{C}$ . В полученном супернатанте определяли концентрацию белка [16, с. 1725], активности ферментов СОД [23, с. 526], каталазы [25, с. 143] и глутатион-редуктазы [25, с. 143]. Для определения антирадикальной активности (ИАА) ткани гомогенизировали в фосфатном буфере (0,1 М, рН=7,5,  $t=0-4^{\circ}\text{C}$ ). Гомогенаты центрифугировали в течение 40 мин при 10800 г и при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  [2, с. 358]. Содержание глутатиона определяли по общепринятой методике [20, с. 67]. Содержание диеновых конъюгатов

(ДК) и малонового диальдегида (МДА) определяли спектрофотометрически (абсорбция для ДК – при  $\lambda=232$  nm, МДА – при  $\lambda=532$ nm) [11, с. 302]. Уровень липофусцина (ЛФ) определяли спектрофлуориметрически [26, с. 761]. Содержание ЛФ выражали в условных единицах (УЕ) в расчете на 1 г липидов (относительно флуоресценции раствора 1 мкмоль/мл хинин-сульфата в 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

По полученным данным рассчитывали средние значения, соответствующие каждой станции. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0» и «Microsoft Exel 2010». Все цифровые данные представляют собой среднее значение  $\pm$  стандартное откло-

нение. Сравнительный анализ исследованных параметров проводили по методу Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Как известно, АО ферменты (СОД, каталаза, глутатион-редуктаза) – единый ансамбль внутриклеточных антиоксидантов, действие которого направлено на защиту клетки от разрушительного действия оксирадикалов. В первую очередь это относится к СОД и каталазе [18, с. 656], которые создают очень эффективную пару в защите клетки от оксирадикалов. Полученные нами результаты показали высокую активность СОД в жабрах моллюсков со ст. 6 ( $232 \pm 16.5$  ед. акт/мг белка), которая в 3 раза превышала контрольное значение (ст. 1) (см. табл. 1).

Таблица 1

#### Активность антиоксидантных ферментов в жабрах *C. grayanus* из разных мест сбора\*

№ ст.	СОД, ед. акт/мг белка	Каталаза, μмоль/мг/мин	GSH-редуктаза, нмоль/мг/мин
1 (о. Рейнеке)	77.3 $\pm$ 4.5	14 $\pm$ 1.77	20.9 $\pm$ 1.7
2 (м. Токаревского)	61.6 $\pm$ 6.07	29.2 $\pm$ 2.1	37 $\pm$ 3.2
3 (м. Чумака)	45.1 $\pm$ 1.55	30.8 $\pm$ 2,8	57.7 $\pm$ 2.8
4 (м. Ограновича)	66.8 $\pm$ 2.47	26.6 $\pm$ 2.1	41.1 $\pm$ 0.2
5 (м. Грозный)	70.86 $\pm$ 3.25	36 $\pm$ 5.3	12.1 $\pm$ 5.0
6 (б. Десантная)	232 $\pm$ 16.5	27.7 $\pm$ 4.7	44.0 $\pm$ 5.9

\* – среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение (n=5, p<0,05)

Активность данного фермента в жабрах мидий из остальных районов незначительно отличалась друг от друга. Высокая активность СОД обусловлена повышенным содержанием микроэлементов (в том числе отнесенных к ряду тяжелых металлов) в воде и донных

отложениях б. Десантная (ст. 6). В акватории б. Горностай, в состав которой входит б. Десантная, проведенные ранее исследования показали, что различия в содержании тяжелых металлов (ТМ) в воде и осадках этой акватории нашли свое закономерное отражение

и в микроэлементном составе отдельных органов моллюсков [4, с. 123; 10, с. 85; 1, с. 87]. Подобная реакция СОД наблюдалась у разных видов морских двустворчатых моллюсков [15, с. 413; 25, с. 143; 19, с. 73; 24, с. 183], обитающих в загрязненных районах.

Высокая активность каталазы была отмечена для мидий из всех районов сбора, кроме ст. 1 ( $29.2 \pm 2.1$ ,  $30.8 \pm 2.8$ ,  $26.6 \pm 2.1$ ,  $36 \pm 5.3$  и  $27.7 \pm 4.7$   $\mu\text{моль/мг/мин}$ , соответственно). Значения активности фермента превышали контрольные в

2-2,5 раза. Вероятно, это спровоцировано адаптацией как к хроническому загрязнению токсичными веществами в исследуемых районах, так и к определенному классу поллютантов [9, с. 386; 22, с. 811; 28, с. 923]. Самые высокие значения активности глутатион-редуктазы были получены для мидий со ст. 3 ( $57.7 \pm 2.8$  нмоль/мг/мин), а самое низкое значение – для ст. 6 ( $12.1 \pm 5.0$  нмоль/мг/мин). Уровень активности глутатион-редуктазы у моллюсков со ст. 1 составлял  $20.9 \pm 1.7$  нмоль/мг/мин (табл. 1).

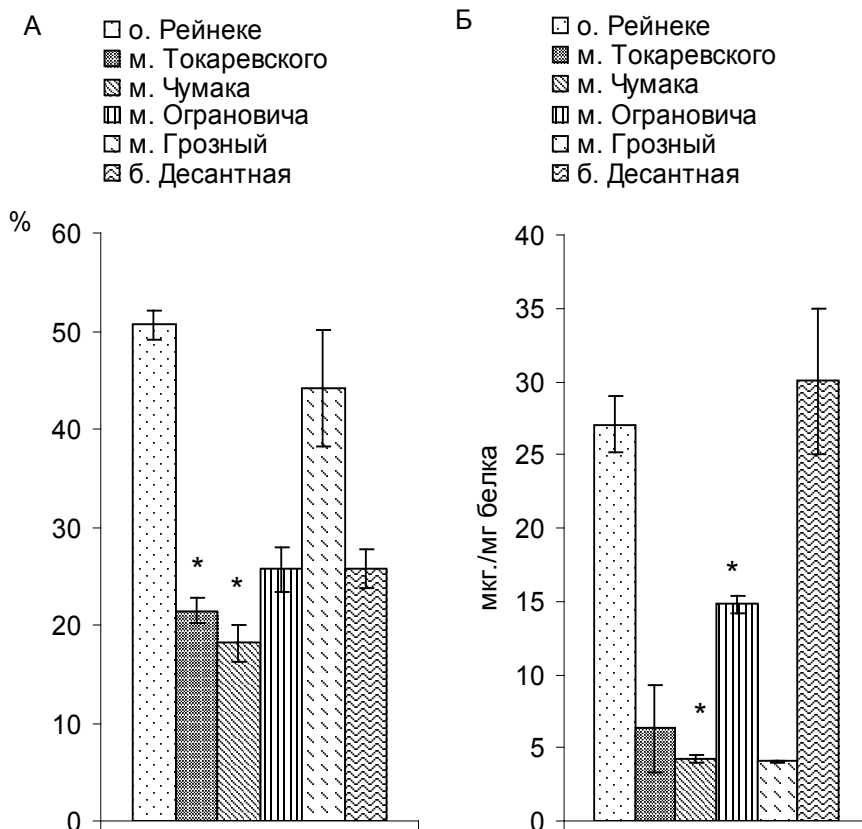


Рис. 2. Характеристика компонентов низкомолекулярной антиоксидантной системы в жабрах *S. grayanus* из разных мест сбора (А - индекс ИАА (%); Б- содержание глутатиона (мкг/мг белка). \* - достоверные отличия биохимических показателей ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ))

Как известно, ответная реакция глутатионовой системы морских беспозвоночных, в частности моллюсков семейства *Mytilidae*, напрямую связана с присутствием загрязняющих веществ в морской среде, а изменения содержания глутатиона в тканях общепризнанно являются маркерами на присутствие в среде тяжелых металлов и органических соединений [13, с. 261; 25, с. 143; 29, с. 845]. На фоне снижения активности низкомолекулярной АО системы (индекс ИАА) мы отмечали высокие значения содержания глутатиона в клетках жабр моллюсков ст. 1, 4 и 6 ( $27.06 \pm 1.9$ ,  $14.77 \pm 0.75$  и  $30.01 \pm 2.7$  мкг/мг белка, соответственно). Низкие значения получены для ст. 2, 3 и 5 ( $6.31 \pm 0.09$ ,  $4.2 \pm 0.093$  и  $4.04 \pm 0.04$  мкг/мг белка, соответственно) (рис. 2), что также подтверждает экологически неблагоприятную обстановку исследованных нами районов.

Однако описанная выше схема «низкое содержание глутатиона – низкий уровень ИАА» исключают ст. 6 у мидий, обитающих в б. Десантная, где уровень ТМ превышен в разы и, при высоком потенциале АО системы, уровень глутатиона оставался относительно высоким (как у контрольных животных ст. 1). Существует вероятность, с одной стороны, ингибирования глутатионовой системы тяжелыми металлами в процессе мощной генерации оксирадикалов (по схеме реакций Фентона) и, с другой стороны – адаптацией моллюсков к импактным условиям, сложившимся в этом районе [13, с. 261; 29, с. 845]. В мидиях со ст. 2 и 4 отмечены «промежуточные» концентрации глутатиона и уровня ИАА. По экологическому состоянию эти районы расположены в зоне влияния дампинга

[3, с. 657; 7, с. 243; 27, с. 551], где после многолетнего завершения дноуглубительных работ до сих пор наблюдается низкое содержание кислорода и увеличение концентрации нефтяных углеводородов и фенолов в морской воде. Данные соединения вместе с грунтами переносятся на большие расстояния и, так же как и металлы, индуцируют работу глутатионовой системы морских гидробионтов.

Использование метода определения индекса интегральной антирадикальной активности (ИАА) позволило выявить снижение активности низкомолекулярного звена АО системы в жабрах моллюсков из наиболее загрязненных мест обитания (рис. 2). Низкие значения ИАА отмечены в жабрах мидии ст. 2, 3, 4 и 6 ( $21.43 \pm 2.77$ ;  $18.14 \pm 1.65$ ;  $25.68 \pm 1.5$ ;  $25.72 \pm 1.28$ , соответственно). С помощью ИАА мы видим, насколько разрушительно действие поллютантов и накопление металлов в тканях мидий [1, с. 87; 2, с. 358; 10, с. 85; 12, с. 801; 14, с. 19; 25, с. 143]. Это обусловлено снижением активности низкомолекулярного звена с последующим развитием окислительного стресса в организме. Наиболее существенные проявления деструктивных окислительных процессов были отмечены в тканях моллюсков ст. 2, 3, 4, и 6.

Работа антиоксидантной защиты в стрессовых условиях направлена на стабильную работу всех систем организма. При эффективном контроле со стороны ферментной и низкомолекулярной АО систем уровень конечных продуктов ПОЛ, в том числе и МДА, будет стабильным, что доказывают показатели, полученные для контрольных мидий (ст. 1) (табл. 2). На осталь-

ных исследованных станциях было обнаружено высокое содержание МДА в жабрах моллюсков. На станциях 2, 3, 5 и 6 в клетках жабр мидий отмечены высокие концентрации диеновых

конъюгатов (табл. 2). Содержание липофусцина в жабрах мидий со ст. 6 в 4 раза превысило значение у мидий со ст. 1 (см. табл. 2).

Таблица 2

### Содержание продуктов ПОЛ в жабрах *S. grayanus* из разных мест сбора\*

№ ст.	МДА, нмоль/мг белка	ДК, мкмоль/мг липидов	ЛФ, УЕ/ г липидов
1 (о. Рейнеке)	4.03±0.06	1.17±0.04	20.30±1.6
2 (м. Токаревского)	7.84±0.15	3.63±0.1	40.88±2.59
3 (м. Чумака)	6.13±0.09	5.06±0.19	54.01±2.56
4 (м. Ограновича)	9.18±0.16	3.13±0.16	31.98±2.74
5 (м. Грозный)	6.18±0.05	4.39±0.13	28.80±2.28
6 (б. Десантная)	4.25±0.03	3.44±0.1	84.40±4.77

\* – среднее значение ± стандартное отклонение (n=5, p<0,05)

В настоящей работе мы использовали показатель Кат/МДА, применяемый другими исследователями в оценке состояния морской среды [21, с. 215; с. 1563]. Это относительный индекс, отражающий нормализованную степень стимуляции антиоксидантных механизмов в организме в ответ на внешний окислительный стресс. Анализ полученных нами результатов показал, что самое высокое значение индекса Кат/МДА получено для станций 6, 5 и 3, находящиеся в загрязненной селитебной зоне г. Владивостока (рис. 3). Наряду с другими маркерами, в том числе и индексом ИАА, Кат/МДА также адекватно отразили экологическую ситуацию в исследованных акваториях [17, с. 1563]. Конкретизируя применение предлагаемых нами показателей, необходимо отметить, что индекс Кат/МДА является в большей степени интегральным показателем, наряду с ИАА.

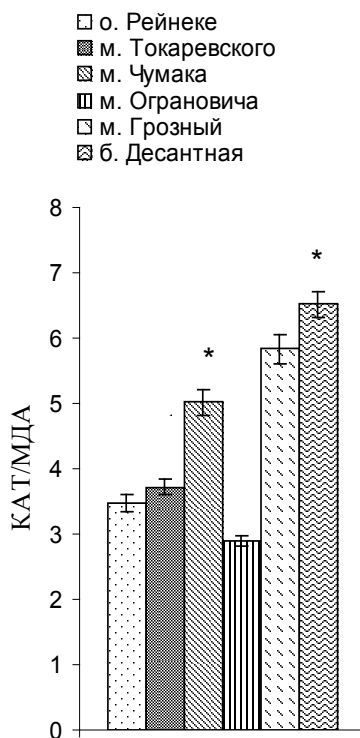


Рис. 3. Отношение КАТ/МДА в жабрах *S. grayanus* из разных мест сбора (n=5, p<0.05)

Анализируя дендрограмму, полученную на основании использования всех наших показателей, мы также отметили отдельно расположенные от других станции 1 и 6, которые в корне отличаются по своим экологическим характеристикам (рис. 4). В единую группу были собраны ст. 2, 3, 4 и

5 – районы с умеренной до сильной в локальных районах степенью загрязнения донных отложений [5, с. 96]. Данный интегральный подход также стал для нас наглядным показателем для характеристики среды обитания моллюсков.

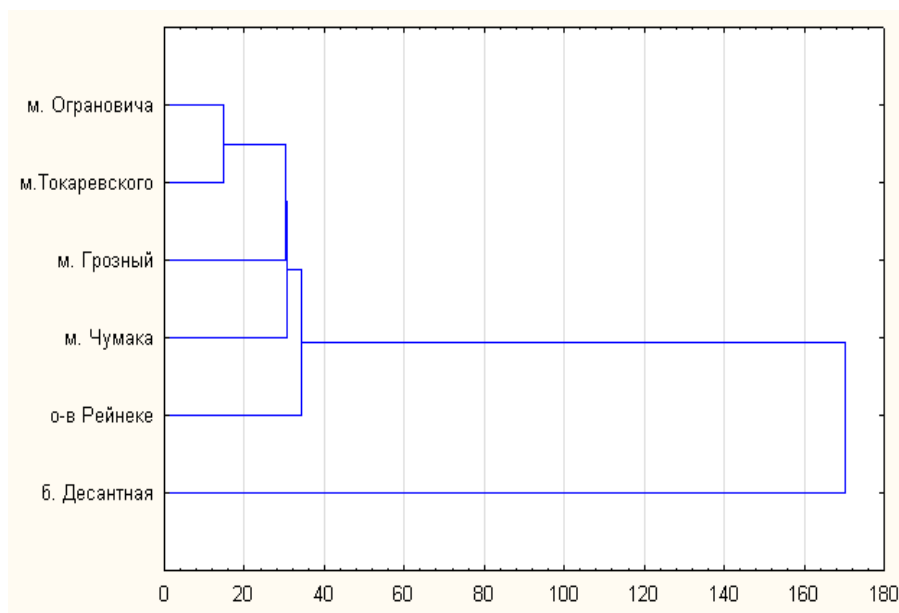


Рис. 4. Дендрограмма разделения районов залива Петра Великого (Японское море) по степени загрязненности на основе биохимических показателей.

Стоит отметить, что общий уровень загрязнения станций 2, 3, 4 и 5 превысил возможности адаптивной системы моллюсков, в результате чего проокислительные реакции не сбалансированы антиоксидантной системой моллюсков и по своей направленности соответствуют развитию окислительного стресса в организме. Согласно полученным результатам, нами установлено, что у мидий, обитающих в б. Десантная (ст. 6) выработалась устойчивая адаптация к повышенному содержанию ТМ в среде.

Таким образом, накопление пероксидов и дезорганизация в составе основных компонентов АО системы приводит организм к окислительному стрессу, а в условиях усиленного загрязнения прибрежных акваторий развитие этих процессов представляется наиболее интенсивным. Длительная стимуляция комплекса биохимических систем одновременно ослабляет другие защитные и адаптационные механизмы организма, что может быть решающим для большинства морских организмов, жиз-



недеятельность которых протекает в сложных условиях обитания с периодическими колебаниями основных факторов среды. Предложенные нами биомаркеры отчетливо отразили состояние моллюсков в разных по уровню загрязнения биотопах, тем самым доказывая свою пригодность к использованию в качестве индикаторов в оценке загрязнения прибрежных морских акваторий.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Бельчева Н.Н. Использование молекулярных биомаркеров окислительного стресса для оценки загрязнения морской среды / Н.Н. Бельчева, А.А. Истомина, В.В. Слободскова и др. // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки». – 2013. – № 3. – С. 87-92.
2. Довженко Н.В. Окислительный стресс, индуцируемый кадмием, в тканях двустворчатого моллюска *Modiolus modiolus* / Н.В. Довженко, А.В. Куриленко, Н.Н. Бельчева и др. // Биология моря. – 2005. – Т. 31, № 5. – С. 358-362.
3. Дмитриева Г.Ю., Безвербная И.П., Семькина Г.И. Микробиологический мониторинг загрязнения тяжелыми металлами прибрежных вод залива Петра Великого // Известия ТИНРО. – 2001. – Т. 127, № 1-2. – С. 657-676.
4. Кавун В.Я., Шулькин В.М. Изменение микроэлементарного состава органов и тканей двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* при акклиматизации в биотопе, хронически загрязненном тяжелыми металлами // Биология моря. – 2005. – Т. 31, № 2. – С. 123-128.
5. Ковековдова Л.Т., Симоконь М.В. Экологический мониторинг северо-западной части Японского моря: тяжелые металлы // Материалы международной экологической конференции «Морская Экология 2005»: Т.1. – Владивосток: Морской ГУ, 2005. – С. 93-98.
6. Ковековдова Л.Т., Кiku Д.П., Блохин М.Г. Металлы в донных отложениях залива Петра Великого // Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря. – Владивосток: ДВФУ, 2012. – С. 312-333.
7. Мишуков В.Ф., Калинин В.В., Войццкий А.В. Влияние дампинга загрязненных грунтов на экологическое состояние прибрежных вод г.Владивостока // Известия ТИНРО. – 2009. – Т. 159. – С. 243-256.
8. Шулькин В.М. Влияние концентрации металлов в донных отложениях на их накопление митилидами *Crenomytilus grayanus* и *Modiolus kurilensis* / Шулькин В.М., Кавун В.Я., А.В. Ткалин и др. // Биология Моря. – 2002. – Т. 28, № 1. – С. 53-60.
9. Almeida E.A. Protective effects of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) against lipid peroxidation in mussels *Perna perna* exposed to different metals / E.A. Almeida, S. Miyamoto, A.C.D. Bains et al. // Mar. Pollut. Bull. – 2004. – V. 44. – P. 386-392.
10. Belcheva N. N. Anthropogenic pollution stimulates oxidative stress in soft tissues of mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) / N.N. Belcheva, M.V. Zakhartsev, N.V. Dovzhenko et al. // Ocean Sci. J. – 2011. – № 46(2). – P. 85-94.
11. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Methods in Enzymology. – 1978. – V. 52. – P. 302-310.
12. Camus L. Total oxradical scavenging capacity responses in *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the Venice lagoon (Italy) to measure the biological impact of anthropogenic activities / L. Camus, D.M. Pampanin, E. Volpato et al. // Mar. Poll. Bull. – 2004. – Vol. 49. – P. 801-808.
13. Canesi L. In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexokinase activity: the role of glutathione / L. Canesi, C. Ciacci, G. Piccoli et al. //

- Compar. Biochem. Physiol. – 1998. – Vol. 120C. – P. 261-268.
14. Frenzilli G. DNA integrity and total oxyradical scavenging capacity in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*: a field study in a highly eutrophicated coastal lagoon / G. Frenzilli, M. Nigro, V. Scarcelli et al. // *Aquatic Toxicol.* – 2001. – V. 53. – P. 19-32.
  15. Geret F. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates* / F. Geret, A. Serafim, L. Barreira et al. // *Mar. Environ. Res.* – 2002. – V. 54. – P. 413-417.
  16. Greenberg C.S., Gaddock P.R. Rapid single-step membrane protein assay // *Clin. Chem.* – 1982. – P. 1725-1726.
  17. Lau P.S., Wong H.L. Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussels, *Perna viridis* // *Marine Pollution Bulletin.* – 2003. – V. 3. – P. 1563-1572
  18. Livingstone D.R. Contaminant – stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // *Marine Pollution.* – 2001. – V. 42, № 8. – P. 656-666.
  19. Manduzio H. Characterization of an inducible isoform of the Cu/Zn superoxide dismutase in the blue mussel *Mytilus edulis* / H. Manduzio, T. Monsinjon, B. Rocher et al. // *Aquat. Toxicol.* – 2003. – V. 64. – P. 73-83.
  20. Moron M.S., Depierre J.W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione s-transferase activities in rat lung and liver // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1979. – V. 582. – P. 67-78.
  21. Narbonne J.F. Biochemical markers in mussel, *Mytilus* sp., and pollution monitoring in European coast: data analysis / J.F. Narbonne, M. Daubeze, P. Baumard et al. // *Biomarkers in marine organisms: a practical approach.* Elsevier, 2001. – P. 215-234.
  22. Nasci C. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*: transplantation and biomonitoring studies in lagoon of Venice (NE Italy) / C. Nasci, N. Nesto, R.A. Monteduro et al. // *Mar. Environ. Res.* – 2002. – V. 54. – P. 811-816.
  23. Paoletti F. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase in tissue extracts / F. Paoletti, D. Aldinuccio, A. Mocali et al. // *Anal. Biochem.* – 1986. – V. 154. – P. 526-541.
  24. Porte C. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzyme system of *Mytilus* sp. to organic pollution / C. Porte, M. Sol, J. Albaigs et al. // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1991. – V. 100C. – P. 183-186.
  25. Regoli F., Principato G. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers // *Aquat. Toxicol.* – 1995. – V. 31. – P. 143-164.
  26. Shimasaki H., Hirai N., Ueta N. Comparison of fluorescence characteristics of products of peroxidation of membrane phospholipids with those of products derived from reaction of malonaldehyde with glycine as a model of lipofuscin fluorescent substances // *J. Biochem.* – 1988. – V. 104. – P. 761-766.
  27. Tkalin A.V., Lishavskaya T.S., Shulkin V.M. Radionuclides and trace metals in mussels and bottom sediments around Vladivostok // *Mar. Pollut. Bull.* – 1998. – V. 36, № 7. – P. 551-554.
  28. Torres M.A. Oxidative stress in mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil / M.A. Torres, C.P. Testa, C. Gaspari et al. // *Mar. Poll. Bull.* – 2002. – V. 44. – P. 923-932.
  29. Yan T., Teo L.H., Sin Y.M. Effects of mercury and lead on tissue glutathione of the green mussel, *Perna viridis* L. // *Bull. Environ. Contam. And Toxicol.* – 1997. – V. 58. – P. 845-850.