

АНАЛИЗ УРОВНЯ АКТИВНОСТИ ЛИЗОЦИМА В ТКАНЯХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ *U. PICTORUM* (LINNAEUS, 1758) И *A. SUGNEA* (LINNAEUS, 1758) НЕКОТОРЫХ УЧАСТКОВ СРЕДНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ УРАЛ

THE ANALYSIS OF LEVEL OF ACTIVITY
OF LYSOZYME IN TISSUES OF CLAMS
OF *U. PICTORUM* (LINNAEUS, 1758)
I *A. SUGNEA* (LINNAEUS, 1758)
OF SOME SITES OF THE AVERAGE
WATERCOURSE URALS

G. Solovykh
E. Shostak
T. Osinkina

Summary. Objective: to determine and analyze the level of lysozyme activity in the tissues of bivalves *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) and *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) in some parts of the middle course of the Ural river.

Methods: lysozyme activity was determined spectrophotometrically in a mixture of test-culture suspensions of *M. lysodeikticus* and mollusk tissue extracts. Determination of the total microbial number of water produced by direct sowing aseptically on Petri dishes with agar.

Results: it was found that lysozyme activity significantly varies in ctenidia (gills) and the hepatopancreas of *U. pictorum*, as bodies fulfilling a key role in the clearance of bacteria and protection from pollutants. The highest value determined in the hepatopancreas of *U. pictorum* in the area "of the Ural river camp "Dubki"" $2,386 \pm 0,003$ EA/ml, the 2005 figure is exceeded by 2.17 times for the gills, the activity was 2.0 ± 0.1 of EA/ml at the site "the Ural river Railroad bridge". In the mantle and leg, the values averaged 0.4 to 0.8 ± 0.2 Ea/ml.

Conclusions: in tissues of mussels *U. pictorum* and *A. sudia* recorded lysozyme activity, the high level observed for gills and hepatopancreas in comparison with the mantle and the dorsal muscles of the legs, suggesting an important barrier role of these bodies. The interannual dynamics of lysozyme activity is probably a reflection of cyclic changes in the physiological activity of hydrobionts due to the increasing anthropogenic impact on the average flow of the Ural river in the Orenburg region.

Keywords: bivalves; lysozyme activity; pollutants; hydrobionts-filtrators; hepatopancreas; total microbial number; hemolymph; self-cleaning ability; hydrobiocenosis; anthropogenic load.

Соловых Галина Николаевна

Д.б.н., ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Оренбург
k_biology@orgma.ru

Шостак Елена Ивановна

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Оренбургский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург

Осинкина Татьяна Владимировна

К.б.н., ст. преподаватель, ФГБОУ ВО «Оренбургский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург
osinkina12@mail.ru

Аннотация. Цель: определение и анализ уровня лизоцимной активности в тканях двустворчатых моллюсков *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) и *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) некоторых участков среднего течения реки Урал.

Методы: активность лизоцима определяли спектрофотометрически в смеси суспензий тест-культуры *M. lysodeikticus* и экстрактов тканей моллюсков. Определение общего микробного числа воды производили методом прямых посевов асептически на чашках Петри с агаром.

Результаты: установлено, что активность лизоцима существенно варьирует в ктенидиях (жабрах) и гепатопанкреасе *U. pictorum*, как органах, выполняющих ключевую роль в обезвреживании бактерий и защите от поллютантов. Наибольшее значение определено в гепатопанкреасе *U. pictorum* на участке «р. Урал — лагерь «Дубки»» $2,386 \pm 0,003$ Ea/мл, показатель 2005 года превышен в 2,17 раза, для жабр активность составила $2,0 \pm 0,1$ Ea/мл на участке «р. Урал — Железнодорожный мост». В мантии и «ноге» значения составляли в среднем от 0,4 до $0,8 \pm 0,2$ Ea/мл.

Выводы: в тканях моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea* зафиксирована лизоцимная активность, высокий уровень отмечен для жабр и гепатопанкреаса в сравнение с мантией и дорсальной мускулатурой ноги, что указывает на важную барьерную роль данных органов. Межгодовая динамика активности лизоцима, вероятно, является отражением циклических изменений физиологической активности гидробионтов в связи с усиливающимся антропогенным воздействием на среднее течение реки Урал в районе г. Оренбурга.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски; лизоцимная активность; поллютанты; гидробионты-фильтраторы; гепатопанкреас; общее микробное число; гемолимфа; самоочищающая способность; гидробиоценоз; антропогенная нагрузка.

Введение

Одним из основных ценных свойств водных экосистем является их резистентность по отношению к поллютантам, поступающим в среду в результате антропогенной или деятельности иного вида. Указанное свойство во многом обеспечивается устойчивостью гидробионтов, обладающих разной чувствительностью к воздействию токсических веществ. Каждый из токсикантов обладает специфическим механизмом и спектром действия и обуславливает выраженные ответные реакции водных организмов на попадание поллютанта в их организм.

Двустворчатые моллюски обладают специализированной гемальной системой циркуляции внутренней среды, сообщающейся с интерстициальными компартментами и, формируют единую транспортно-защитную ткань, называемую гемолимфой, реагирующую на любые изменения, происходящие в окружающей водной среде [7, с. 207].

Следовательно, изменения некоторых ферментативных и иммунологических параметров пресноводных двустворчатых моллюсков могут отражать устойчивость экосистем и влиять на процессы самоочищения водоема, так как благодаря работе фильтрующе-сортирующего аппарата двустворчатых моллюсков — жабр (ктенидий), водоем освобождается от избыточной биогенной нагрузки, а также лишние взвешенных в водной фазе органических и токсических веществ.

Материалы и методы

Экстракты тканей моллюсков (жабр, мантии, гепатопанкреаса) готовили растирая их в 0,05 М фосфатном буферном растворе (рН 6,24) с кварцевым песком в фарфоровой ступке [11, с. 80]. Полученные гомогенаты центрифугировали при 9000g в течение 30 минут. Далее определяли активность лизоцима на спектрофотометре ПЭ — 5300ВИ в суспензиях тест-культуры *M. lysodeikticus* с исходной оптической плотностью $D_{540} = 0,3$ при 25°C и длине оптического пути 10 мм [17, с. 584], расчёт активности производили по формуле:

$$Ea = \frac{\Delta D_{540}}{\tau \cdot 0,001 \cdot V} \quad (1)$$

где: Ea — единица активности фермента лизоцима, Ea/мл;

ΔD_{540} — изменение оптической плотности *M. lysodeikticus* за время инкубации;

τ — время, в течение которого происходит смешение экстракта и тест-культуры *M. Lysodeikticus*, 15 минут;

0,001 — падение оптической плотности раствора за 1 минуту;

V — объём лизоцимной фракции, 1 мл.

Определение микробной обсеменённости (ОМЧ) производили путём прямых посевов асептически в чашках Петри с МПА методом заливки с таким расчетом, чтобы выросло от 30 до 300 микробных колоний. Для природных водоёмов высевали по 1 мл из предварительно приготовленных 10-кратных разведений в стерильной воде (из 10 мл). Указанные объёмы проб вносили стерильной пипеткой в пустые стерильные чашки Петри, затем разливали расплавленный тёплый мясо-пептонный агар (МПА) (45 °С). Воду и МПА тщательно перемешивали и после застывания среды посева выращивали в термостате при 37 °С в течение 24 часов, далее подсчитывали число микробных колоний.

Общее число микробных колоний, выросших на всей чашке Петри умножали на разведение, из которого был сделан высев 1 мл, чтобы перевести на 1 мл исследуемой пробы.

Затем определяли среднее арифметическое число колоний — микробное число исследуемой пробы [13, с. 274].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета компьютерных программ Exsel 2007 (Microsoft, USA), Statistica for Windows v.6.0 (Stat Soft Inc., USA).

Литературный обзор

Пресноводные двустворчатые моллюски — одна из основных составляющих биоты пресноводных экосистем, которые, являясь литоральными организмами-фильтраторами, взаимодействуют с двумя средами водоёма (водой и донными отложениями), а следовательно, испытывают усиленное действие находящихся в воде и донных отложениях токсических веществ. Согласно данным литературы в настоящее время известен ряд устойчивых стресс-разрушающих факторов эффективной специфической приспособленности гидробионтов к загрязнению среды их обитания.

Показано, например, что некоторые поллютанты подвергаются обезвреживанию путём их ступенчатого разрушения системой цитохромов P₄₅₀ (для органических веществ) или специфического связывания в неактивные комплексы с металлотионеинами (для тяжёлых металлов) и иммуноглобулинами (для токсинов белковой природы и других антигенов). Описаны белки и другие молекулярные факторы (пептиды, углеводы и их производные), принимающие участие в изменении проницаемости плазмолемм клеток, вязкости и плотности жидкостей организма и других физико-химических параметров органов и тканей [15, с. 5].

Наибольшее значение токсические воздействия факторов среды имеют для организмов-фильтраторов, ведущих практически неподвижный образ жизни, к которым относятся двустворчатые моллюски. Для них характерна достаточная совокупность адаптивных приспособлений метаболизма для выживания в условиях, обеднённых кислородом и повышенного уровня токсикантов различной природы [16, с. 346].

Изменение активности некоторой совокупности ферментов, участвующих в различных процессах обмена веществ относится к механизмам адаптации моллюсков на уровне биохимии [10, с. 56]. Выявлена некоторая динамика содержания сорбита и активности ряда ферментов углеводного обмена в пищеварительных железах моллюсков (кислой фосфатазы, сорбитолдегидрогеназы, альдозоредуктазы) у моллюсков видов *Viviparus viviparus* L., *Anodonta stagnalis* Gmelin, *Unio longirostris* Rossmmaessler в зависимости от характера и интенсивности стресс-провоцирующего влияния [15, с. 8]. Показана динамика экспрессии фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы в случае интоксикаций на примере моллюска *Schobicularia plana* [4, с. 219]. Из совокупности ферментов следует выделить кислую РНК-азу пищеварительной железы моллюсков [15, с. 7], а также лизоцим — основной фермент, лизирующий бактерии организмов-фильтраторов [2, с. 238]. Лизоцим разрушает (лизует) бактерии, поступающие с током воды в жабры моллюсков, выполняя, таким образом, функцию обеззараживания [12, с. 231]. Известно, что в третичной структуре молекулы лизоцима формируется активный каталитический центр в котором происходит гидролиз β -1,4-гликозидных связей [14, с. 233] между остатками аминокислот N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты в полисахаридных цепях муреинов (гетерополисахаридов стенок бактериальных клеток), что ведёт к разрушению оболочки бактериальной клетки и гибели бактерий [6, с. 376]. Обнаружение лизоцима у представителей пресноводных двустворчатых моллюсков семейства *Unionidae* было подтверждено исследованиями Карнаухова И. В. (2000) и Минаковой В. В. (2005).

В связи с изменениями ряда климатических параметров, отразившихся на экологическом состоянии гидробиоценозов, и усилением антропогенной нагрузки на водоёмы и водотоки Оренбургской области актуальным было провести определение уровня лизоцимной активности в жабрах, мантии, гепатопанкреасе и дорсальной мускулатуре ноги двустворчатых моллюсков *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) и *A. cygnea* (Linnaeus, 1758). Как вероятного параметра ответной реакции моллюсков на ухудшение условий среды обитания гидробионтов-фильтраторов. Проведено сравнение с известными данными, полученными Минаковой В. В. (2005).

Результаты и обсуждение

Анализ данных, полученных в ходе исследования, показал, что значения лизоцимной активности тканей гидробионтов варьировали и даже в пределах одного участка реки не были одинаковы. В тканях моллюсков с участка «р. Урал — лагерь «Чайка»» зафиксирована наибольшая активность фермента $1,1025 \pm 0,00025$ Еа/мл, в районе «р. Урал — Водозабор» наименьшая $0,1525 \pm 0,0003$ Еа/мл. Высоким по сравнению с Водозабором показатель оказался также на участках «р. Урал — Железнодорожный мост» и «р. Урал — «Дубки»» $1,0225 \pm 0,0003$ и $1,0740 \pm 0,0002$ Еа/мл, соответственно.

Исследованиями, проведёнными ранее, показано, что уровень лизоцимной активности пресноводных двустворчатых моллюсков наряду с возрастом, видом моллюска и содержанием токсикантов в воде зависит также и от величины общего микробного числа воды, а именно, увеличивается с возрастанием количества микроорганизмов и закономерно снижается с их уменьшением [8, с. 15]. Известно, что уровень микробной нагрузки определяется во многом общей токсичностью пресного природного водоёма и содержанием различных по физиолого-биохимической активности органических веществ, создающих, как правило, благоприятную среду для сохранения и размножения бактерий [1, с. 38]. В связи с этим далее приведена более подробная характеристика участков реки, на которых лизоцимная активность тканей двустворчатых моллюсков оказалась наибольшей.

Участок «р. Урал — лагерь «Чайка»» расположен на расстоянии около 8 км от г. Оренбурга ниже по течению р. Урал. Район представляет собой достаточно обширную заводь около 150 м в диаметре в которой практически отсутствует течение и глубина составляет около 3,0–3,5 м. Участок находится в стороне от основного русла реки; характерно большое количество растущих макрофитов, а также обильный осадок из отмерших частей и значительная заиленность дна. Слой донных отложений в среднем составил около 15–35 см (обычно для реки около 10 см), глубже следовал практически чистый песок без примесей ила и глины. Общее микробное число воды 450 ± 20 КОЕ/мл, рН $7,21 \pm 0,04$, температура $24,0 \pm 0,5$ °С и окисляемость $0,48 \pm 0,02$ мг О/л. Перечисленные показатели не превышают норму для природного водоёма, однако глубокий слой донных отложений и температура воды, способны «запустить» в рассматриваемых условиях процессы активного роста численности микроорганизмов. В пользу этого свидетельствует высокая лизоцимная активность тканей *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) — $1,352 \pm 0,02$ Еа/мл по сравнению с другими участками, кроме Железнодорожного моста (рис. 1.).

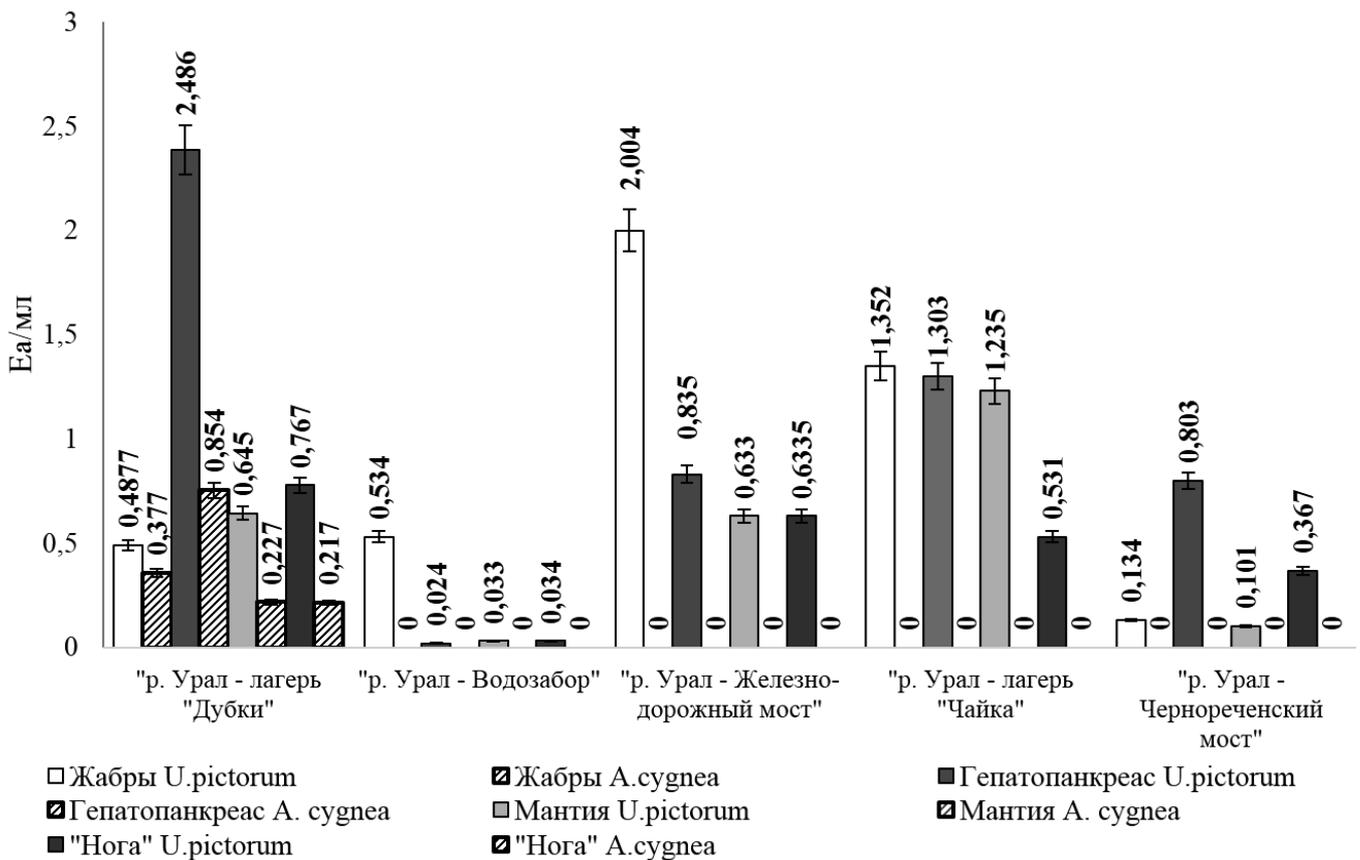


Рис. 1. Средняя суммарная лизоцимная активность (Еа/мл) *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) и *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) на участках исследования (отдельно по тканям).

Рассматриваемый участок находится вблизи железнодорожного моста, расположение которого способствует дополнительному загрязнению поллютантами различного, преимущественно техногенного происхождения. Наряду с этим обширный дачный массив, расположенный на берегу, привносит, по-видимому, органические токсиканты и минеральные удобрения некоторые компоненты которых, поступая в водоём, способствуют снижению рН воды, приводя к закислению, и вносят изменения в автохтонный состав микрофлоры. Двустворчатые моллюски, являясь естественными фильтраторами водной среды, в ответ на вышеуказанные изменения в среде, адаптируются к существованию в водоёмах путём увеличения активности лизоцима как единственного фактора защиты в условиях возможных изменений микробных параметров среды их обитания [9, с. 10].

Таким образом, на участке «р. Урал — Железнодорожный мост» лизоцимная активность жаберной ткани *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) определена как наибольшая $2,0 \pm 0,1$ Еа/мл, что согласуется с данными исследований Минаковой В.В. (2005) (2,0–6,5 Еа/мл). Полученное значение активности фермента в 15,4 раза больше

по сравнению со значениями лизоцимной активности тканей моллюсков, отобранных с самого удалённого участка исследования «р. Урал — Чернореченский мост». Рассматриваемый район р. Урал удалён от города на 25 км и характеризуется быстрым течением, наличием небольших прибрежных заводей глубиной от 40 см до 1,5 м с большим количеством макрофитов и илисто-песчаным дном. По причине удалённости от основных источников загрязнения и, по-видимому, более полным самоочищением водных масс, в связи с наличием значительного видового разнообразия макрофитов и родников на дне русла реки общее микробное число составило 220 ± 10 КОЕ/мл, что в 2,1 раза меньше чем на участке «р. Урал — лагерь «Чайка»». Данный факт свидетельствует о достаточно благоприятной эколого-микробиологической обстановке для существования донных видов макрозообентоса.

Установлено, что величина бактериолитической активности моллюсков на всех исследуемых участках р. Урал существенно варьирует лишь в ктениидах и гепатопанкреасе (печени) *U. pictorum* (Linnaeus, 1758). Величины активности фермента в мантии и «ноге» мол-

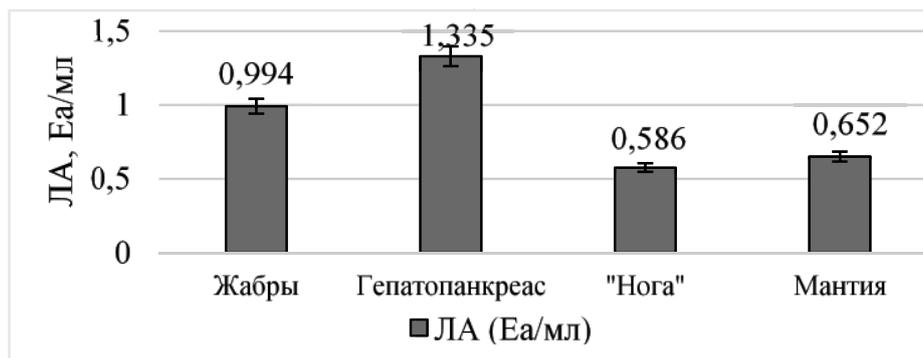


Рис. 2. Динамика уровня лизоцимной активности (Еа/мл) тканей *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) по станциям. В сравнении с данными 2005 года показатель для данных тканей оказался сниженным в 4,75 раза [8, с. 7].

люсков лежат в близких пределах и составляют в среднем от 0,586 до 0,652±0,2 Еа/мл (рис. 2).

Выраженная динамика ферментативной активности в ктенидиях и гепатопанкреасе фильтраторов указывает на ключевую роль рассматриваемых органов в обезвреживании поллютантов и бактерий. Жабры (ктенидии) двустворчатых моллюсков имеют сложную структурную организацию, которая представляет собой модификацию нитевидных жабр: в них возникают перегородки между соседними нитями, а также восходящими и нисходящими участками одной нити. В результате образуются жаберные пластинки, каждая жабра состоит из двух полужабр одной наружной, прилегающей к мантии и внутренней, прилегающей к ноге. Подобное строение позволяет органам выполнять как дыхательную, так и трофическую функцию [3, с. 453]. Они практически непрерывно омываются гемолимфой, представляющей собой гемоциты 4-х типов, среди которых особое значение отводится аморфным клеткам размером около 7,93 мкм. Рассматриваемые клетки проявляют выраженную фагоцитарную активность против ряда штаммов бактерий, попавших с водой в мантийную полость моллюска [5, с. 222].

Следующим по значимости барьерным органом двустворчатых моллюсков является гепатопанкреас, который содержит большое количество пищеварительных желёз и систему канальцев, обеспечивающих интенсивный приток гемолимфы содержащей лизоцим. Так как процессы пищеварения практически любого организма сопряжены с некоторым закислением среды, то повышение активности лизоцима в гепатопанкреасе может быть обусловлено также и данным фактом. Исследованиями Карнауховой И.В. (2000) и Минаковой В.В. (2005) установлено увеличение уровня активности лизоцима в среде с pH≈5,5 со снижением показателя при pH 7,0.

Показано также, что максимальное значение активности фермента в гепатопанкреасе *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) отмечено на участке «р. Урал — лагерь «Дубки»» 2,386±0,003 Еа/мл, что оказалось выше в 2,17 раза показателя 2005 года (1,1 Еа/мл). Меньшее значение зафиксировано в районе «р. Урал — лагерь «Чайка»» 1,3±0,02 Еа/мл на остальных станциях исследуемый показатель был менее единицы.

Вид *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) обнаружен только на одном участке «р. Урал — лагерь «Дубки»». Лизоцимная активность его тканей была ниже таковой у *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) для гепатопанкреаса в 1,8 раза, для жабр в 2,8 раза и по сравнению с тканями *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) отобранными с этого участка в 1,4 и 3,2 раза, соответственно (рис. 25). В сравнении с данными Минаковой В.В. (2005) в случае *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) наблюдалось падение активности лизоцима: для жабр в 4,8 раза, мантии в 1,4 раза и гепатопанкреаса в 1,3 раза. Причиной установленных величин активностей исследуемого фермента могли послужить несколько факторов. Во-первых, видовые отличия интенсивности протекания метаболизма у *A. cygnea*, как организма, относящегося к реофильным (чувствительным к недостатку кислорода) видам для которого более низкая активность лизоцима либо является достаточной, либо выступает фактором, ограничивающим распространение *A. cygnea* (Linnaeus, 1758). В среднем течении реки Урал данный вид является второстепенным. Во-вторых, возможно, различия в строении и свойствах лизоцима *A. cygnea* (Linnaeus, 1758), проявляющиеся в снижении его активности при данных условиях среды обитания моллюсков.

Заключение (Conclusions)

Таким образом, на основании полученных выше межгодовых и межтерриториальных сравнительных дан-

ных бактериолитической активности лизоцима в тканях двустворчатых моллюсков *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) и *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) можно сделать следующие выводы:

1. Лизоцимная активность зафиксирована в жабрах, мантии и гепатопанкреасе двустворчатых моллюсков *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) и *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) с исследуемых участков среднего течения реки Урал;
2. Наибольшая активность фермента определена у моллюсков на участках «р. Урал — лагерь «Чайка»» и «р. Урал — Железнодорожный мост», расположенных в зонах, подверженных высокой аккумуляции токсикантов различного уровня происхождения и активности;
3. Повышенный уровень литической активности отмечен для жабр и гепатопанкреаса в сравнение с мантией и дорсальной мускулатурой ноги, что может указывать на важную барьерную роль данных органов. Активность лизоцима оказалась ниже результатов, полученных в 2005 году (в жабрах *U.*

pictorum (Linnaeus, 1758) в 2,0 раза; жабрах и гепатопанкреасе *A. cygnea* (Linnaeus, 1758) в 4,8 и 1,3 раза). В то время как в гепатопанкреасе *U. pictorum* (Linnaeus, 1758) зафиксировано увеличение активности фермента в 2,17 раза. Межгодовая динамика активности лизоцима, вероятно, является отражением циклических сукцессионных изменений физиологической и биохимической активности гидробионтов-фильтраторов в связи с усиливающимся антропогенным воздействием на среднее течение реки Урал в районе г. Оренбурга.

Нарушение метаболизма двустворчатых моллюсков, выполняющих роль донных фильтраторов, в частности — падение литической активности и, как следствие, способности рассматриваемых организмов оказывать санирующий эффект в отношении бактериальной микрофлоры природного водоёма, может привести к замедлению самоочищающей способности гидробиоценоза и поставить под угрозу его существование как природного гидробиоценоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буракаева А.Д., Русанов А. М., Лантух В. П. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжёлых металлов: метод. пособ. — Изд-во: ОГУ, 1999. — 50 с.
2. Диксон М. Ферменты. — М.: Мир, 1982. — Т. 1. — 387 с.
3. Догель В. А. Зоология беспозвоночных. — М.: Высшая школа, 1981. — 7-е издание. — 614 с.
4. Кулева Н. В. Применение протеомики для оценки адаптации гидробионтов к антропогенным факторам внешней среды // Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов: матер. всерос. конф. с междунар. участ. — Борок: Изд-во Борок ФГБУ науки ИБВВ им. И. Д. Папанина РАН, 2012. — С. 218–220.
5. Кулько С. В. Морфофункциональные особенности гемоцитов двустворчатых моллюсков *Anodonta cygnea* // Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов: матер. всерос. конф. с междунар. участ. — Борок: Изд-во Борок ФГБУ науки ИБВВ им. И. Д. Папанина РАН, 2012. — С. 221–222.
6. Ленинджер А. Биохимия. — Москва, 1995. — Т. 1–560 с.
7. Логинова Е.Г., Алехина Г. П., Мисетов И. А. Влияние абиотических и биотических факторов на иммунологическую реакцию пресноводных двустворчатых моллюсков в эксперименте // Вестник ОГУ. — Оренбург, 2017. — вып. 12 (131). — С. 207–209.
8. Минакова В. В. Двустворчатые моллюски родов *Unio* и *Anodonta* — компоненты биологических ресурсов р. Урал и участие их лизоцима в процессах регуляции бактериоценозов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Оренбург, 2005. — 25 с.
9. Мисетов И. А. Факторы персистенции бактериофлоры воды и их использование в санитарно-гигиенической практике: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Оренбург, 1999. — 19 с.
10. Немова Н. Н. Биохимические эффекты накопления ртути в рыб. — М.: Наука, 2005. — 164 с.
11. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. — М.: Наука, 1981. — 163 с.
12. Страйер Л. Биохимия. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — 287 с.
13. Теппер Е.З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. — М.: Дрофа, 2004. — 307 с.
14. Фершт Э. Структура и механизм действия ферментов. — 1980. — 432 с.
15. Цветков И. Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации: автореф. дис. ... док. биол. наук. — Москва, 2009. — 23 с.
16. Larade K., Storey K. B. A profile of the metabolic responses to anoxia in marine invertebrates // Cell and molecular responses to stress. — Vol. 3. — 2002. — 346 p.
17. Thammasirirak S. Purification and characterization of goose type lysozyme from cassowary (*Casuarium casuarium*) // Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2001. — V. 65 — № 3. — P. 584–592.