

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЛИЗОЦИМНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕСНОВОДНЫХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ РОДОВ *UNIO* И *ANODONTA*

Изменения лизоцимной активности жаберной ткани моллюсков носят характер синусоидной кривой и являются отражением происходящих в организме подопытных животных процессов неспецифической адаптации к токсическому действию тяжелых металлов. Зависимость «доза – эффект» для каждого вида моллюсков видоспецифична, т. к. однотипная ответная реакция для вида *A. cygnea* наблюдается при превышении ПДК по металлам в 10 раз, а для вида *U. pictorum* – 100 раз, а это может являться показателем устойчивости животных к антропогенным воздействиям

Группу тяжелых металлов можно отнести к микроэлементам, в этом ряду одни крайне необходимы для жизнеобеспечения живых организмов, другие вызывают противоположный эффект и, попадая в организм, приводят к его отравлению или гибели. Специалистами по охране окружающей среды среди металлов-токсикантов выделена приоритетная группа, в которую входят *кадмий, медь, мышьяк, никель, ртуть, свинец, цинк* и *хром* как опасные для живых организмов; из них *ртуть, свинец* и *кадмий* – наиболее токсичны [7, 16].

Любой токсический фактор, в том числе и тяжелые металлы, вызывает развитие «классического» стресса, который сопровождается закономерными фазными изменениями биохимических показателей организма [11, 14, 4, 15]. Динамика большинства биохимических процессов при стрессе проходит три основные закономерные фазы («тревоги», «стимуляции», «депрессии»), описываемые S-образной кривой [12, 10].

К настоящему времени накоплен достаточно большой материал о реакции различных биохимических показателей, а также о чувствительности ферментных систем, на изменения тех или иных условий окружающей среды или на присутствие токсических факторов [9, 10, 11, 3].

В ряде исследований отмечено участие факторов иммунитета гидробионтов в ответных реакциях на антропогенные воздействия [1]. Известно, что от функционального состояния механизмов иммунитета зависят биологическое постоянство внутренней среды, структурная целостность организма и степень устойчивости гидробионтов к микроорганизмам [6, 8], причем существенная роль в этом принадлежит лизоциму. Однако действие лизоцима в организме животных не сводится лишь к защитной функции: имеются данные о том, что лизоцим является именно тем фактором гуморального иммунитета, на котором любые стрессовые воздействия могут отразиться в наибольшей мере [2]. В работах последних лет было показано, что при воздействии на рыб, токсических факторов,

в частности сублетальных концентраций кадмия, меди и ртути, интенсивность образования и активность лизоцима изменяется [5].

Полученные нами ранее данные показали, что экстракты тканей изучаемых моллюсков оказывают выраженное литическое действие в отношении суспензии клеток тест-культуры *Mikrococcus lysodecticus*, при этом наиболее высокие значения удельной активности наблюдалось в экстрактах жаберной ткани [13]. Это, вероятно не является случайным, так как именно в жабрах происходит фильтрация микроорганизмов и в то же время жабры являются барьерным органом моллюсков не только для бактерий, но и для токсикантов, поступающих из внешней среды. Можно предположить, что воздействие антропогенных факторов среды изменяет активность ферментных систем моллюсков и лизоцима в том числе.

Все выше сказанное определило интерес к изучению динамики лизоцимной активности жаберной ткани двустворчатых моллюсков родов *Unio* и *Anodonta* при действии различных концентраций ионов свинца и кадмия.

Для оценки влияния токсикантов на лизоцимную активность моллюсков использовали модельные экосистемы. Моллюсков видов *Unio pictorum* и *Anodonta cygnea* делили на 3 группы по 24 особи в каждой. Первая группа животных служила контролем и содержалась в аквариуме с водопроводной водой, вторая группа – была помещена в аквариум, содержащий ионы свинца, третья группа – ионы кадмия. Все группы содержались при одинаковых условиях освещения, температуры и аэрации, без кормления. Было проведено 3 серии экспериментов для разных концентраций токсикантов. Для опытов брались концентрации токсикантов соответствующие значениям ПДК, 10 ПДК, 100 ПДК для вод открытых водоемов [9]. Экспозицию опытных животных проводили в течение 24 суток. Через определенные промежутки времени (на 3-и, 8-ые, 12-ые, 16-ые, 20-ые и 24-ые сутки) из каждого аквариума отбирали животных для

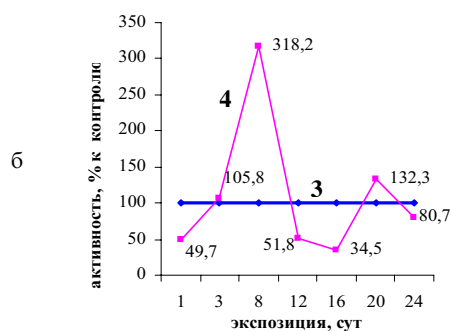
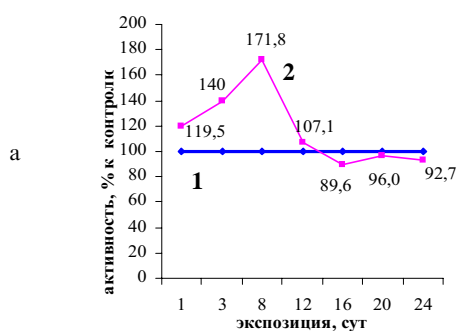


Рисунок 1. Изменение ЛА жаберной ткани (на примере ионов кадмия):
а – *A. cygnea* (1 – контроль; 2 – ПДК); б – *U. pictorum* (3 – контроль; 4 – 10 ПДК).

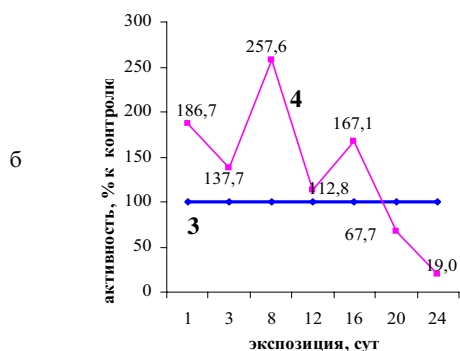
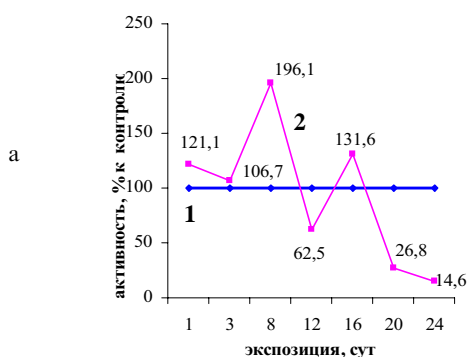


Рисунок 2. Изменение ЛА жаберной ткани моллюсков (на примере ионов свинца):
а – *A. cygnea* (1 – контроль; 2 – 10 ПДК); б – *U. pictorum* (3 – контроль; 4 – 100 ПДК)

определения уровня лизоцимной активности жаберной ткани спектрофотометрическим методом. Гомогенаты жаберной ткани получали, объединяя органы 3 особей, что существенно снижает коэффициент вариации показателей ферментативной активности [10]. Удельную лизоцимную активность выражали в процентах от контроля, на основании вычисленных данных строились кривые зависимости «доза – эффект» для обоих токсикантов, что наиболее точно отражает особенности реакции ферментных систем тест-объекта на токсическое воздействие.

В наших исследованиях стрессовые факторы вызывали различные по амплитуде и скорости изменения активности фермента, что отличалось от плавных и незначительных колебаний в контроле. В аквариуме с концентрацией ионов металлов на уровне ПДК изменения лизоцимной активности для обоих видов моллюсков характеризовались плавными колебаниями, которые на 12-ые сутки завершались стабилизацией процессов жизнедеятельности на уровне, близком к исходному (рис. 1 а). Увеличение концентрации токсикантов приводило к изменениям в ответной реакции моллюсков *U. pictorum*. Были отмечены более резкие колебания значений удельной активности. Изменение исследуемого показателя имело вид волнообразной кривой, с тенденцией к повышению активности с начала эксперимента сверх нормального уровня к 8-ым суткам, с затухающей амплитудой к 24-ым суткам экспозиции (рис. 1б). Картина изменения лизоцимной активности жаберной ткани моллюсков *A. cygnea* при концентрации ионов токсикантов превышающих ПДК в 10 раз была сходной с таковой для моллюсков *U. pictorum* при концентрации ионов превышающих ПДК в 100 раз. В этих условиях динамика изменения лизоцимной активности жаберной ткани моллюсков характеризовалась более выраженными фазами снижения и повышения: на 3-и сутки отмечалось снижение исследуемого показателя. Затем происходили волнообразные изменения активности фермента с более выраженным эффектом затухания амплитуды соответствующего показателя (рис. 2 а, б).

Экспозиция двустворчатых моллюсков вида *A. cygnea* в среде, содержащей ионы свинца и кадмия в концентрации превышающих ПДК в 100 раз, сопровождалась достоверным снижением показателя с последующей гибелью организмов на 16-ые сутки в аквариуме с ионами свинца и на 12-ые – с ионами кадмия (рис. 3).

В проведенных опытах обнаружены закономерности изменения лизоцимной активности

жаберной ткани моллюсков хорошо вписываются в обобщенную схему фаз стресса, что, вероятно, является результатом взаимодействия двух процессов – поражения и компенсаторно-адаптивного ответа биологической системы.

Снижение ферментативной активности на начальных этапах интоксикации, что мы наблюдали при действии металлов в концентрации 10 ПДК на моллюсков *A. cygnea* и концентрации токсикантов 100 ПДК на моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea*, соответствует *первой фазе* адаптивного ответа организма на стрессовое воздействие, известный как «*эффект затаивания*». *Вторая стадия* адаптации тест-организма к токсическому воздействию *характеризуется ростом ферментативной активности* лизоцима, которая может продолжаться разное время и характеризоваться либо стабилизацией процессов жизнедеятельности на уровне, близком к исходному (адаптация моллюсков к изменившимся условиям как в случае с концентрациями, взятыми на уровне ПДК), либо сопровождаться волнообразными изменениями функциональных показателей с постепенно затухающей амплитудой и переходить в *третью фазу* реакции организма на стрессовое воздействие – *фазу угнетения*, которая сопровождается прогрессирующим снижением биохимических и физиологических показателей, что может привести к гибели животного, что мы и наблюдали в случае экспозиции моллюсков *A. cygnea* в среде, содержащей ионы металлов в концентрации 100 ПДК.

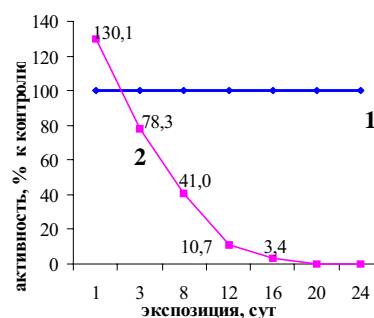


Рисунок 3. Изменение ЛА жаберной ткани моллюсков *A. cygnea* (на примере ионов свинца): 1 – контроль; 2 – 100 ПДК

зиции моллюсков *A. cygnea* в среде, содержащей ионы металлов в концентрации 100 ПДК.

Таким образом, загрязнение водной среды токсикантами приводит к существенным изменениям антибактериальной активности моллюсков, которые носят характер синусоидной кривой и являются отражением происходящих в организме подопытных животных процессов неспецифической адаптации к токсическому действию тяжелых металлов. Зависимость «доза – эффект» для каждого вида моллюсков видоспецифична, т. к. однотипная ответная реакция для вида *A. cygnea* наблюдается при превышении ПДК по металлам в 10 раз, а для вида *U. pictorum* – 100 раз, а это может являться показателем устойчивости животных к антропогенным воздействиям.

Список использованной литературы:

- Балабанова Л.В. Ультраструктура клеток иммунной системы карпа *Cyprinus carpio* в норме и при иммунизации / Л.В. Балабанова, Е.А. Заботкина // Цитология. – 1988. – Т. 39, №8. – С. 657 – 661.
- Бухарин О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1974. – 208 с.
- Виселина Т. Н. Изменение активности ферментов углеводного обмена у моллюсков под действием кадмия / Т. Н. Виселина, О. Н. Лукьянова // Биология моря. – 2000. – Т. 26, №4. – С. 278 – 280.
- Вьючинский К.К. Оценка действия веществ на водные организмы с учетом фазности токсичности / К.К. Вьючинский, Щербаков Ю.А. // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. – М.: Наука, 1983. – С. 36 – 41.
- Лапирова Т.Б. Влияние сублетальных концентраций солей ртути, кадмия и меди на содержание лизоцима в тканях молоди ленского осетра (*Acipenser baerii* Brandt) / Т.Б. Лапирова, В.Р. Микряков, А.С. Маврин, Г.А. Виноградов // Журн. эвол. биохим. и физиологии. – 2000. – Т. 35, №1. – С. 37 – 41.
- Микряков В.Р. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на картину белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baerii* Brandt / В.Р. Микряков, Т.Б. Лапирова // Вопр. ихтиологии. – 1997. – Т. 37, №4. – С. 538 – 542.
- Небел Б. Наука об окружающей среде / Б. Небел. – М.: Мир, 1993. – Т.1. – 420 с.
- Немова Н.Н. Влияние некоторых токсических факторов на лизосомальные протеиназы пресноводных рыб / Н.Н. Немова, В.С. Сидоров // Гидробиол. журн. – 1990. – Т. 16, №4. – С. 69 – 73.
- Новиков Ю.В. Методы исследования качества воды водоемов / Ю.В. Новиков, К.О. Ласточкина, З.Н. Болдина. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
- Попов А.П. Множественные формы ферментов живородки речной как маркеры токсического загрязнения воды: Дисс... канд. биол. наук / А.П. Попов. – М., 2002. – 171 с.
- Ротт Г. М. Содержание металлтионеинов у пресноводных моллюсков, обитающих в водоемах средней полосы России / Г. М. Ротт, В.А. Романцова, Б.И. Сынзыныш // Экология. – 1999. – №4. – С. 306 – 308.
- Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
- Соловых Г.Н. Лизоцимная активность как фактор адаптации двусторчатых моллюсков в гидробиоценозе / Г.Н. Соловых, В.В. Минакова, И.В. Карнаухова // Материалы II международной конференции «Биоразнообразие и биоресурсы Урала и сопредельных территорий», Оренбург, 2002, с. 189 – 190.
- Строганов Н. С. Моделирование возможных изменений экосистемы при загрязнениях по чувствительности гидробионтов к токсикантам / Н. С. Строганов // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. – Л. – 1979. – С. 142 – 149.
- Цветков И.Л. Кислая фосфатаза гидробионтов как фермент-индикатор биохимической адаптации к воздействию токсических веществ / И.Л. Цветков, С.Л. Зарубин, Г.А. Урванцев, А.С. Коничев, Ю.Б. Филиппович // Известия АН. Сер. биология. – 1997. – №5. – С. 539 – 545.
- Экологические проблемы Верхней Волги: Коллективная монография. – Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2001. – 427 с.