

РЕАКЦИЯ ЗАЩИТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ВИДА *UNIO PICTORUM* НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СВИНЦА И РТУТИ

В эксперименте прослеживалась выраженная динамика активности ферментов, связанная с возрастающей токсической нагрузкой. Присутствие ионов свинца разных концентраций не вызывало резких изменений активности ферментов. На максимальную концентрацию ионов ртути организмы моллюсков реагируют сильнейшим всплеском активности исследуемых защитных ферментов, что характерно для исчерпывающей фазы адаптации организмов к токсическому воздействию.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски, адаптация, тяжелые металлы, лизоцим, каталаза, супероксиддисмутаза.

Проблема загрязнения водной среды ионами ТМ в значительной мере связана с биологической активностью многих из них. Поглощение и, следовательно, токсическое воздействие ионов тяжелых металлов на водные организмы зависят от факторов среды: повышение температуры увеличивает их поглощение и токсичность, а увеличение солености воды снижает; ввиду этого пресноводные гидробионты подвергаются воздействию ТМ при более низких концентрациях, чем морские организмы.

Важнейшим признаком стресс-реакции, а, следовательно, и стресса у водных животных при интоксикации на биохимическом уровне является колебательная динамика активности ферментов, достоверно превышающая по амплитуде естественную, наблюдаемую в контроле. Эта динамика универсальна в отношении воздействия разных токсических веществ и стереотипна для множества ферментных систем (Маляревская, 1985).

Поэтому было интересно в модельном эксперименте исследовать динамику активности некоторых защитных ферментов (супероксиддисмутаза (SOD), каталазы (CAT) и лизоцима) в ответ на возрастающую токсическую нагрузку ионами свинца и ртути.

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали моллюсков вида-доминанта *U. pictorum* примерно одинакового возраста, собранных в среднем течении реки Урал в районе г. Оренбурга.

Токсикологическому исследованию во всех случаях предшествовал этап преадаптации в течение трех суток. Особей выдерживали в аквариумах с водопроводной водой в течение 12 дней. Опытных животных разделили на три группы по 5 особей в каждой. Первая группа животных служила контролем и содержалась в аквариуме с во-

допроводной водой, вторая группа – была помещена в аквариум, содержащий ионы ртути, третья группа – ионы свинца. Все группы содержались при одинаковых условиях освещения, температуры и аэрации, без кормления. Для экспериментов брались концентрации токсикантов соответствующие значениям ПДК, 20 ПДК, 100 ПДК, 1000 ПДК соответственно для вод открытых водоемов. ПДК для ртути – 0,0005 мг/л, для свинца – 0,1 мг/л. Соли тяжелых металлов использовались в виде растворимых солей (нитраты).

Экспозицию опытных животных проводили в течение 12 суток. Через определенные промежутки времени (на 3-и, 6-ые, 9-ые, 12-ые сутки) из каждого аквариума отбирали животных для определения уровня активности ферментов жаберной ткани, затем увеличивали нагрузку тяжелыми металлами.

Активность SOD определяли в надосадочной жидкости по реакции торможения аутоокисления адреналина в адренохром в щелочной среде (рН=10,5). За единицу активности принимали торможение аутоокисления в опыте по сравнению с контролем на 50%.

Активность CAT определяли спектрофотометрически. Об активности фермента судили по скорости снижения экстинции при длине волны 260 нм, при которой пероксид водорода имеет максимум поглощения.

Активность лизоцима определяли фотометрически по просветлению в суспензии лиофилизированной тест-культуры *M. Lysodeikticus*. За единицу активности лизоцима принимали такое его действие, которое вызывало падение оптической плотности на 0,001 за 1 минуту.

Результаты исследования и их обсуждение

Активность антиоксидантных ферментов в контроле значительно не изменялась и составляла для CAT $0,76 \pm 0,2$ ед.а., для SOD $1,62 \pm 0,5$ ед.а.

В эксперименте прослеживалась выраженная динамика активности, связанная с возрастающей токсической нагрузкой. Так, активность SOD сходным образом изменялась как при воздействии солей ртути, так и свинца. На 3 сутки экспозиции была зафиксирована максимальная активность SOD, что соответствовало нагрузке равной ПДК. При дальнейшей экспозиции в условиях возрастания концентрации токсикантов, наблюдалось уменьшение активности с минимумом на 9 сутки при концентрации токсикантов на

уровне 100 ПДК. Увеличение концентрации тяжелых металлов до 1000 ПДК приводило к возрастанию активности на 12 сутки эксперимента, что особенно ярко проявлялось под действием ионов ртути (рис. 1).

Изменение активности САТ в данных условиях эксперимента носило несколько иной характер и различалось в зависимости от природы токсиканта (рис.2).

В присутствии ионов свинца разных концентраций не вызывало резких изменений активности фермента. Отмечено, постепенное уменьшение активности каталазы от третьих суток к 12-ым в 2 раза. В то же время, нагрузка солями ионов ртути приводила к значительному снижению активности фермента на 6 сутки, это соответствовало 20 ПДК с последующим резким увеличением активности на 12 сутки эксперимента (нагрузка в 1000 ПДК).

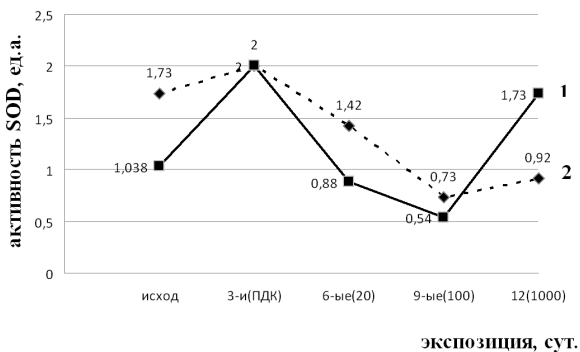
Динамика лизоцимной активности моллюсков в контрольном опыте характеризовалась естественными колебаниями от 2,0 до 4,5 ед.а., что объясняется изменениями в микробиоценозе.

В эксперименте прослеживалась выраженная динамика активности, связанная с возрастающей токсической нагрузкой (рис. 4.2). Лизоцимная активность изменялась до некоторой степени сходным образом, как при воздействии ионов свинца, так и под действием ионов ртути. Динамика активности лизоцима напоминала ответную реакцию SOD.

При токсической нагрузке в 1000 ПДК (двенадцатые сутки эксперимента) в присутствии ионов свинца лизоцимная активность моллюсков снижалась, в то время как нагрузка ионами ртути приводила к значительному увеличению активности фермента.

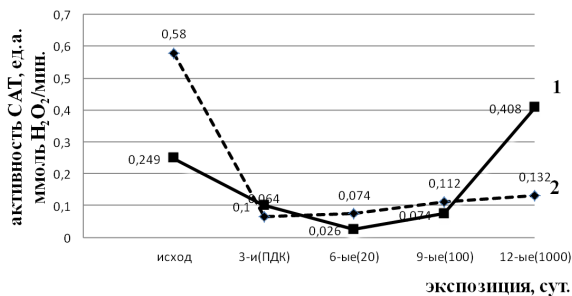
Проведенные исследования показали, что на максимальную концентрацию ионов ртути организмы моллюсков реагируют сильнейшим всплеском активности исследуемых защитных ферментов. Такая гиперреакция характерна для истощающей фазы адаптации организмов к токсическому воздействию – фазы истощения, после которой наступает гибель организмов.

Ответ организма двустворчатых моллюсков на возрастающую концентрацию ионов ртути, объясняется более сильным токсическим воздействием, и свидетельствует о невозможности длительного переживания моллюсками загрязнения ионами ртути в пределах 1000 ПДК и выше. В то же время моллюски способны переживать стрессовое воздействие вызванное присутствием ионов свинца при той же кратности превышения ПДК.



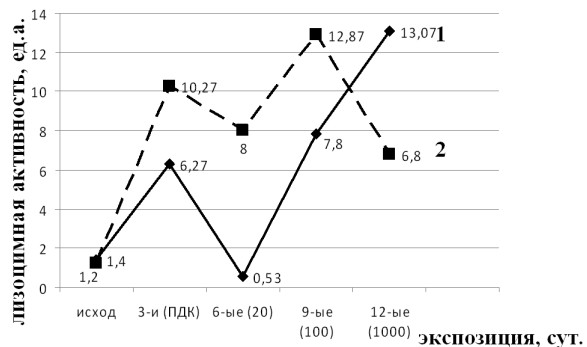
1 – активность SOD в присутствии ионов ртути
2 – активность SOD в присутствии ионов свинца

Рисунок 1. Изменение активности SOD



1 – активность САТ в присутствии ионов ртути
2 – активность САТ в присутствии ионов свинца

Рисунок 2. Изменение активности САТ



1 – активность лизоцима в присутствии ионов ртути
2 – активность лизоцима в присутствии ионов свинца

Рисунок 3. Изменение лизоцимной активности при действии токсикантов

13.09.2011

Список литературы:

1. Давыдов С.Л., Тарасов В.И. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века /С.Л. Давыдов, В.И. Тарасов – М.: Издательство РУДН, 2002. – 140 с.
2. Кирчук Г.Е. Особенности накопления ионов тяжелых металлов в организме пресноводных моллюсков /Г.Е. Кирчук // Водная токсикология, 2006. – №7. – С. 99 – 110.
3. Клишко О.К., Авдеев Д.В., Голубева Е.М. Особенности биоаккумуляции тяжелых металлов у моллюсков в аспекте оценки состояния окружающей среды /О.К. Клишко, Д.В. Авдеев, Е.М. Голубева // Доклады Академии наук. – Москва. 2007. – С.132-134.
4. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам /А.Я. Маляревская // Гидробиол. журн. – 1985. – Т. 21, №3. – С. 70 – 82.
5. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты /Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков – М: Слово, 2006. – 135 с.
6. Руднева И.И., Скуратовская Е.Н., Омельченко С.О., Залевская И.М. Ртуть в двустворчатых моллюсках /И.И. Руднева, Е.Н. Скуратовская, С.О. Омельченко, И.М. Залевская // Экологическая химия. – 2008. – №6. – С.77-82.

Сведения об авторах:

Соловых Галина Николаевна, зав. кафедрой биологии

Оренбургской государственной медицинской академии, д.б.н., профессор

Минакова Владислава Валерьевна, аспирант кафедры биологии

Оренбургской государственной медицинской академии

Осинкина Татьяна Владимировна, аспирант кафедры биологии

Оренбургской государственной медицинской академии,

г. Оренбург, пр. Парковый, 6, тел. (3532) 775878

Карнаухова Ирина Владимировна, доцент кафедры химии и методики преподавания химии

Оренбургского государственного педагогического университета, к.б.н., доцент

Минакова Виктория Валерьевна, доцент кафедры химии и методики преподавания химии

Оренбургского государственного педагогического университета, к.б.н., доцент

г. Оренбург, ул. Советская, 19, тел. (3532) 763669, e-mail: minakova@mail.ru

UDC 574.5(470.56)

Solovykh G.N.**, **Minakova V.V.***, **Karnaukhova I.V.***, **Minakova V.V.****, **Osinkina T.V.****

*Orenburg state pedagogical university; **Orenburg state medical academy, e-mail: minakova@mail.ru

REACTION OF PROTECTIVE ENZYMES BIVALVIA MOLLUSCUMS OF KIND *UNIO PICTORUM* ON LEAD AND MERCURY INFLUENCE

In experiment expressed dynamics of activity of the enzymes, bound to an increasing toxic load was traced. Presence of ions of lead of different concentration didn't cause sharp changes of activity of enzymes. Organisms of molluscums react to the maximum concentration of ions of mercury the strongest splash in activity of investigated protective enzymes that is characteristic for an exhaustive phase of adaptation of organisms to toxic influence.

Key words: bivalvia molluscums, adaptation, serious metals, lysozyme, catalase, superoxidismutase.

Bibliography:

1. Davydov S.L., Tarasov V. I. Serious metals as supertoxicants the XXI-st centuries /S.L. Davidov, V.I. Tarasov – M: Publishing house RUDN, 2002.–140 with.
2. Kirchuk G. E. Features of accumulation of ions of serious metals in an organism of fresh-water molluscums / G.E.Kirchuk //Water toxicology, 2006. – №7. – With. 99 – 110.
3. Klishko O. K, Avdeev D.V., Golubeva E.M. Feature of bioaccumulation of serious metals at molluscums in aspect of an estimation of a state of environment / O.K.Klishko, D.V.Avdeev, E.M.Golubeva//Reports of Academy of Sciences. – Moscow. 2007. – With. 132-134.
4. Maljarevsky A.JA. Biochemical mechanisms of adaptation of hydrobionts to toxic substances/A.JA. Maljarevsky// Hydrobiol. magazine. – 1985. – Т. 21, №3. – With. 70 – 82.
5. Menshchikova E.B., Lankin V. Z, Zenkov N.K. Oxidizing stress. Prooxidizers and antioxidants / E.B.Menshchikova, V.Z.Lankin, N.K.Zenkov – M: the Word, 2006. – 135 with.
6. Rudneva I.I., Skuratovskaja E.N., Omelchenko S.O., Zalevsky I.M. Mercury in bivalvia molluscums/I.I. Rudnev, E.N.Skuratovsky, S.O.Omelchenko, I.M.Zalesky//Ecological chemistry. – 2008. – №6. – With. 77-82.