

УДК 574.21

ВОДНЫЕ МОЛЛЮСКИ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЪЕКТЫ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА¹

© 2006 А.В. Гордзялковский, О.Н. Макурина²

Проведены исследования влияния различных веществ на содержание каротиноидов в тканях моллюсков. Показана возможность использования моллюсков в качестве тест-объектов для биологического мониторинга

Введение

Контроль за качеством водной среды осуществляется в настоящее время в основном посредством химических и физико-химических методов. Однако анализ отдельных химических веществ не в состоянии дать полную характеристику вредного действия антропогенных факторов. Этих недостатков лишены биологические методы (биоиндикация и биотестирование) оценки качества вод [1, 2]. Одними из перспективных объектов для биологического мониторинга являются водные и наземные моллюски. При наступлении неблагоприятных условий некоторые виды моллюсков элиминируют, другие – мигрируют из зоны загрязнения, третьи – приспосабливаются к условиям загрязнения. Определенное значение в приспособлении гидробионтов к неблагоприятным условиям, по мнению некоторых исследователей, имеют каротиноиды [3, 4].

В данной работе рассматривается действие некоторых загрязняющих веществ (сульфата меди, сульфата цинка, кадмия уксуснокислого, перманганата калия, фенола) на ткани моллюсков. Именно эти вещества являются одними из основных загрязняющих веществ, характерных для поверхностных вод Самарской области [5–8,]. Проблема биоиндикации загрязнения водоемов различными веществами, в том числе и перечисленными выше, является очень важной и требует подбора биологических объектов, позволяющих быстро и эффективно определить характер и степень загрязнения воды [9].

В связи с этим **целью** данной работы явилось изучение влияния загрязняющих веществ на содержание каротиноидов в тканях моллюсков. В рамках поставленной цели нами решались следующие **задачи**: 1) выявление зависимости влияния различных концентраций загрязняющих веществ на содержание каро-

¹ Представлена кандидатом биологических наук профессором Ю.П. Фроловым.

² Гордзялковский Александр Вадимович, Макурина Ольга Николаевна (dekanat.05.54@mail.ru), кафедра биохимии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

тиноидов в тканях моллюсков; 2) выяснение специфики сочетанного влияния различных веществ на содержание каротиноидов в тканях моллюсков.

Объектом исследования являлась Перловица (*Unio pictorum*), относящаяся к классу Двустворчатых (*Bivalvia*), надотряду Жаберных (*Autobranchia*), отряду Унионид (*Unionida*). Перловица ведет преимущественно роющий образ жизни. Она относится к группе биофильтраторов, питающихся взвешенными в воде частицами органических веществ и мелким планктоном, и потому играет существенную роль в биологической очистке сточных вод [10].

Схема проведения эксперимента представлена ниже. Все моллюски (152 особи) были разделены на контрольную и 18 опытных групп (в зависимости от содержания в воде веществ различной концентрации и их смесей): 1-я опытная группа – моллюски содержались в отстоянной воде с концентрацией ZnSO_4 , равной 1 мг/л (ПДК); 2-я опытная группа – с добавлением ZnSO_4 (3 ПДК); 3-я опытная группа – с добавлением ZnSO_4 (10 ПДК); 4-я опытная группа – с добавлением CuSO_4 , равной 0,1 мг/л (ПДК); 5-я опытная группа – с добавлением CuSO_4 (3 ПДК); 6-я опытная группа – с добавлением CuSO_4 (10 ПДК); 7-я опытная группа – с добавлением KMnO_4 , равной 2 мг/л (ПДК); 8-я опытная группа – с добавлением KMnO_4 (3 ПДК); 9-я опытная группа – с добавлением KMnO_4 (10 ПДК); 10-я опытная группа – с добавлением $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$, равной 0,001 мг/л (ПДК); 11-я опытная группа – с добавлением $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$ (3 ПДК); 12-я опытная группа – с добавлением $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$ (10 ПДК); 13-я опытная группа – с добавлением фенола, равной 0,001 мг/л (ПДК); 14-я опытная группа – с добавлением 3 ПДК фенола; 15-я опытная группа – с добавлением 10 ПДК фенола; 16-я опытная группа – с добавлением ПДК смеси данных соединений; 17-я опытная группа – с добавлением концентрации смеси соединений, в 3 раза превышающих ПДК; 18-я опытная группа – с добавлением концентрации смеси соединений, в 10 раз превышающих ПДК. Через 18 часов после начала эксперимента животные извлекались из воды и в их тканях (печени, жабрах, мантии, ноге, остатке тела) определяли содержание каротиноидов по общепринятой методике [11].

Результаты исследований и их обсуждение

Увеличение содержания каротиноидов в видимой области спектра в исследованных тканях моллюсков наблюдалось при действии большинства исследованных нами загрязняющих веществ уже в концентрации, соответствующей предельно допустимой (см. таблицу).

Это можно объяснить участием каротиноидов в молекулярных механизмах адаптации к неблагоприятному фактору среды, в частности, к гипоксии. В данном эксперименте она вызвана действием различных загрязняющих веществ, растворенных в воде. При загрязнении среды обитания в ней обычно происходит уменьшение концентрации кислорода и, возможно, некоторые химические соединения способны повреждать митохондриальный энергопроизводящий ап-

парат клетки [11]. Функцию энергообеспечения клеток при этом берут на себя специальные внутриклеточные органеллы – каротиноксисомы, которые содержат каротиноиды и систему терминального окисления.

В случае, когда поступающего извне в клетку кислорода оказывается недостаточно, активируется анаэробный гликолиз и накапливается лактат. Следствием этого являются закисление внутриклеточной среды и активация кислых фосфатаз каротиноксисом, которые осуществляют образование жирных кислот с их последующим окислением дыхательной цепью каротиноксисом с использованием депонированного в окисгенированных каротиноидах кислорода. Аналогичным образом активация энергопроизводства каротиноксисомами включается и при повреждении митохондрий [11].

Таблица

**Содержание каротиноидов в тканях моллюсков
контрольной и опытных групп**

Воздействующее вещество	Концентрация вещества	Ткани моллюска				
		Жабры	Мантия	Нога	Печень	Остаток тела
Контроль	—	11,26±1,6	4,78±0,5	16,02±1,0	35,11±3,8	17,15±2,6
ZnSO₄	ПДК	14,33±1,2	12,87±0,6	35,93±2,4	50,47±4,9	18,40±2,6
	3ПДК	25,33±1,5	8,30±0,5	24,50±2,4	70,84±3,9	21,54±1,7
	10ПДК	26,83±2,0	5,40±0,3	27,32±4,2	36,86±3,3	21,81±5,1
CuSO₄	ПДК	37,59±5,9	31,29±3,3	104,90±7,8	104,27±8,0	20,85±1,4
	3ПДК	50,76±4,0	29,16±2,3	97,29±4,9	95,90±7,3	35,66±4,4
	10ПДК	48,16±2,1	27,58±1,0	97,14±4,4	105,74±8,1	23,46±4,0
KMnO₄	ПДК	17,92±1,1	8,96±0,6	33,13±3,5	100,08±7,6	28,55±1,9
	3ПДК	18,08±2,3	22,06±3,0	28,11±2,8	90,10±6,5	30,76±4,9
	10ПДК	18,12±2,2	7,83±0,8	29,78±3,1	104,64±8,2	47,76±4,6
(CH₃COO)₂Cd	ПДК	31,65±2,5	25,64±2,9	84,06±6,9	133,33±8,9	24,01±3,5
	3ПДК	47,68±5,1	38,35±5,4	122,28±7,7	44,54±4,0	40,72±6,3
	10ПДК	67,34±3,1	79,83±6,7	101,09±6,6	20,01±3,0	46,85±4,1
Фенол	ПДК	12,97±1,8	6,71±0,4	37,01±3,1	60,49±3,0	14,17±0,8
	3ПДК	28,34±5,8	18,74±2,1	58,55±5,5	65,46±4,1	62,46±4,8
	10ПДК	24,11±2,2	21,94±1,8	46,54±2,6	64,12±3,2	62,53±5,5
Смесь веществ	ПДК	11,57±1,9	25,28±2,1	64,71±5,4	28,73±3,1	30,60±4,1
	3ПДК	13,49±2,3	17,24±3,2	39,32±3,8	43,92±3,7	37,93±3,3
	10ПДК	13,98±3,4	16,71±2,5	20,11±2,1	112,15±8,8	21,16±1,3

Для объяснения изменения концентрации каротиноидов в тканях моллюсков можно предположить, что молекула каротиноида с длинной цепочкой сопряженных ненасыщенных связей, поглощающая в видимой области спектра, способна обратимо связывать молекулу кислорода, теряя при этом окраску. Связывание кислорода сопровождается двукратным уменьшением количества двой-

ных связей, находящихся в сопряжении, что приводит к соответствующему смещению полос поглощения из видимой в ультрафиолетовую область спектра, которую и фиксировали с помощью спектрофотометра.

Однако можно полагать, что роль каротиноидов в окислительном метаболизме моллюсков обусловлена большим количеством сопряженных двойных связей в их молекулах и использованием части этих двойных связей для создания внутриклеточного депо кислорода (или запасов органического акцептора электронов) в клетках животного, обитающего в условиях малой скорости поступления кислорода в ткани [11].

Наиболее сильное токсичное влияние на моллюсков оказывают CuSO_4 и $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$. Они вызывают заметное увеличение концентрации каротиноидов в видимой области спектра в жабрах, мантии, ноге и печени. Кроме загрязнения среды, эти вещества влияют на активность ферментов, в частности митохондриальной цитохромоксидазы, и увеличивают проницаемость внутренней мембраны митохондрий [12], то есть эти химические соединения способны повреждать митохондриальный энергопроизводящий аппарат клетки. Функцию энергообеспечения клеток при недостатке кислорода, как отмечалось ранее, берут на себя каротиноксисомы.

Имеется и другой механизм действия каротиноидов, в качестве индикаторов загрязнения воды. Некоторые загрязняющие вещества являются сильными окислителями (в данном эксперименте это KMnO_4). Они образуют у гидробионтов активный кислород (кислород, восстановленный до супероксидного радикала) и вызывают нарушения, связанные с окислительными реакциями. Большую роль в защите биологических структур от свободнорадикального окисления играют биоантиоксиданты. К ним относятся и каротиноиды. Очень эффективно тушит синглетный кислород β -каротин, однако реакция при этом не происходит [13]. Каротиноиды взаимодействуют с возбужденным кислородом, переводя его в основное состояние. Также KMnO_4 , по-видимому, может повреждать митохондрии. Таким образом, мы наблюдаем увеличение содержания каротиноидов в видимой области спектра по сравнению с контролем. В жабрах, ноге и мантии (кроме ЗПДК) моллюсков концентрация каротиноидов увеличивается менее чем на 100%. Более существенное влияние перманганат оказывает в печени. Содержание каротиноидов в этом случае увеличивается до 200% от контроля.

Таким образом, с помощью каротиноидов происходит адаптация клеток мантии, жабр, печени, ноги к загрязнению среды обитания. Но в этих тканях содержание каротиноидов уже изначально разное. Чем метаболически более активная ткань, тем больше в ней каротиноидов. Например, самая высокая концентрация каротиноидов – в печени, порядка 3,5 мг/100 г массы ткани. Она является самой метаболически активной тканью. Печень реагирует на загрязнение среды, так как выполняет барьерную функцию. Одинаковое влияние на изменение концентрации каротиноидов оказывают CuSO_4 и KMnO_4 . Содержание каротиноидов увеличивается на 150-200% по сравнению с контролем. Важно отме-

тить, что ПДК $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$ вызывает существенное повышение концентрации каротиноидов, а при действии 10 ПДК этого соединения концентрация каротиноидов ниже, чем в контроле. По мнению некоторых авторов [14], видимо, срабатывает физиологический механизм адаптации – переход в анабиоз, позволяющий резко снизить общее энергопотребление: снижается скорость всех метаболических процессов в клетках животного, а следовательно, снижается скорость потребления ими кислорода из среды. При этом, как видно из эксперимента, двустворчатый моллюск плотно закрывает створки раковин. Однако это пассивный механизм, позволяющий скорее пережить неблагоприятные условия, чем активно противостоять им.

В ноге не так много каротиноидов, как в печени, но больше, чем в остальных тканях. Она также является метаболически активной тканью, так как обеспечивает движение. В ноге усиленно идут процессы гликолиза, и вырабатывается АТФ, необходимая для движения. Нога очень быстро реагирует на загрязнение среды, концентрация каротиноидов при действии ПДК загрязняющих веществ (особенно CuSO_4 и $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$) изменяется значительно – до 550% от контроля. Каротиноиды жабр также участвуют в метаболизме, но их меньше, так как, пропуская через себя воду, они первыми получают кислород. Еще меньше каротиноидов, порядка 0,04 мг/100г массы ткани, в мантии, так как она менее активна. Но увеличение содержания каротиноидов происходит более заметно, чем в других тканях. Например, в мантии содержание каротиноидов при действии 10 ПДК $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$ увеличивается на 1570% по сравнению с контролем.

Но независимо от начальных концентраций каротиноидов эти ткани одинаково реагируют на загрязнение среды, особенно при действии CuSO_4 и $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}$. Почти во всех случаях концентрация каротиноидов увеличивается в видимой области спектра по сравнению с контролем.

Совсем другие вещества влияют на максимальное содержание каротиноидов в видимой области спектра в остатке тела моллюсков. Возможно, что остаток не является индикатором загрязнения среды, так как каротиноиды в нем выполняют другую функцию. В остатке находятся гонады, и функция каротиноидов в них, по мнению многих авторов [15], воспроизведение. Было показано, что яйца содержат каротиноиды, не отличающиеся по своему составу от каротиноидов, содержащихся в женских гонадах; сперматозоиды не содержат каротиноидов. Также каротиноиды влияют на половой диморфизм. Доказано, что у женских особей в гонадах больше ксантофиллов (гипофазных пигментов), а у мужских – эпифазных пигментов, то есть в гонадах должен поддерживаться постоянный количественный и качественный состав каротиноидов. Это необходимо для обеспечения репродуктивной функции моллюсков. Видимо, поэтому концентрация каротиноидов в видимой области спектра при действии ПДК загрязняющих веществ не сильно отличается от контроля. Некоторое повышение содержания каротиноидов в видимой области спектра связано с тем, что в остатке помимо

гонад содержатся другие органы, которые по-разному реагируют на загрязнение среды [11].

Важно отметить, что при действии смеси веществ концентрация каротиноидов в большинстве тканей моллюсков изменяется не так значительно, как при действии некоторых из этих веществ по отдельности. Видимо, данные соединения в смеси нейтрализуют действие друг друга.

Поступающий в организм кислород транспортируется дыхательным пигментом гемоцианином преимущественно в ткани, содержащие миоглобин (нервная система, мышца радулы, паренхимальный мускул), так как миоглобин обладает большим сродством к кислороду, чем гемоцианин. В нормальных условиях, при нормальной метаболической активности клетки и потому малой скорости потребления кислорода дыхательной цепью избыточная часть его запасается посредством использования сопряженных двойных связей молекул каротиноидов, что приводит к уменьшению числа сопряженных двойных связей в них. Это сопровождается уменьшением концентрации каротиноидов в видимой области спектра. При повышенной метаболической активности клетки или при загрязнении среды, когда скорость поступления кислорода через клеточную мембрану не удовлетворяет возросших потребностей дыхательной цепи в нем, происходит изъятие кислорода, ранее депонированного за счет использования сопряженных двойных связей в молекуле каротиноида. Это сопровождается соответствующим увеличением концентрации каротиноидов в видимой области спектра [3, 11, 13].

Миоглобин, несомненно, участвует в этом процессе, однако неясно, сводится ли его роль только к транспорту кислорода внутрь клетки. Во всяком случае можно уверенно сказать, что при заполненном депо кислорода (малая интенсивность полос поглощения каротиноидов в видимой области спектра) миоглобин находится в окисленном (оксигенированном) состоянии. По мере изъятия кислорода из депо (увеличение интенсивности полос поглощения каротиноидов) в спектре ослабления живых нейронов появляется полоса (436 нм) восстановленной (деоксигенированной) формы миоглобина, и она становится основной при полном изъятии кислорода из депо, когда полосы поглощения каротиноидов в длинах волн 450 нм достигают своей максимальной интенсивности.

Таким образом, мы наблюдаем увеличение концентрации каротиноидов в видимой области спектра при действии загрязняющих веществ в концентрации, соответствующей предельно допустимой. Та же тенденция, по-видимому, наблюдается и при действии этих соединений в концентрациях, превышающих ПДК в 3 и 10 раз. Все полученные нами результаты можно скомпоновать в 4 вывода.

Выводы

1. Разные ткани моллюсков характеризуются различными концентрациями каротиноидов, что связано с метаболической активностью этих тканей.

2. В большинстве случаев наблюдается увеличение содержания каротиноидов в видимой области спектра в жабрах, мантии, ноге и печени при действии использовавшихся в эксперименте загрязняющих веществ в концентрациях, соответствующих 1, 3 и 10 ПДК.

3. Наиболее существенное влияние на содержание каротиноидов в тканях моллюсков оказывают сульфат меди и кадмий уксуснокислый, которые приводят к большему увеличению концентрации каротиноидов в видимой области спектра.

4. Содержание каротиноидов в жабрах, мантии, ноге и печени моллюсков может служить индикатором загрязнения водной среды сульфатом цинка, сульфатом меди, перманганатом калия, кадмием уксуснокислым, фенолом и смесью данных веществ.

Литература

- [1] Никаноров, А.М. Системы мониторинга поверхностных вод / А.М. Никаноров, В.В. Циркунов. – СПб.: Гидрометиздат, 1994. – 197 с.
- [2] Абакумов, В.А. Гидробиологический мониторинг пресноводных экосистем и пути его совершенствования / В.А. Абакумов, Л.М. Сущенко // Экологические модификации и критерии экологического нормирования: труды международного симпозиума. – М., 1991. – С.41-51.
- [3] Бедова, П.В. Использование моллюсков в биологическом мониторинге состояния водоемов / П.В. Бедова, Б.И. Колупаев // Экология. – 1998. – №5. – С. 410-411.
- [4] Бедова, П.В. Оценка состояния водной среды в Республике Марий Эл с помощью гидробионтов / П.В. Бедова // Состояние природы и региональная стратегия защиты окружающей среды. – Сыктывкар, 1997. – С.21-22.
- [5] Шишкина, В.П. Вода “умеренного загрязнения” / В.П. Шишкина // Живая вода. – 2001. – №2. – С.7.
- [6] Шишкина, В.П. Качество поверхностных вод Среднего Поволжья / В.П. Шишкина // Зеленый луч. – 2000. – №5. – С.32-36.
- [7] Виноградов, А.В. Водные богатства Самарской области / А.В. Виноградов // Зеленый луч. – 2000. – №1. – С.42-44.
- [8] Звездина, Т.А. Где вода чище? / Т.А. Звездина // Живая вода. – 2002. – №9. – С.12.
- [9] Степанов, А.М. Биоиндикация на уровне экосистем / А.М. Степанов // Биоиндикация и биомониторинг. – М., 1991. – С.59-64.
- [10] Шарова, И.Х. Зоология беспозвоночных / И.Х. Шарова. – М.: Владос, 1999. – 592 с.
- [11] Карнаухов, В.Н. Биологические функции каротиноидов / В.Н. Карнаухов. – М.: Наука, 1988. – 240 с.
- [12] Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов 1-4 групп / под ред. В.А. Филова – Л.: Химия, 1988. – 512 с.

- [13] Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон – М.: Мир, 1986. – 422 с.
- [14] Гудвин, Т. Сравнительная биохимия каротиноидов / Т. Гудвин – М.: Издательство иностранной литературы, 1954. – 396 с.
- [15] Свободные радикалы в биологии / под ред. У. Прайора. – М.: Мир, 1979. – 328 с.

Поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 4/X/2006.

WATER MOLLUSCS AS PERSPECTIVE OBJECTS FOR BIOLOGICAL MONITORING³

© 2006 A.V. Gordzjalkovskij, O.N. Makurina⁴

The research of the effect of various substances on the karotinoides maintenance in fabrics of molluscs is carried out. The posibility of molluscs usage as the test-objects for biological monitoring is shown.

Paper received 25/IX/2006.

Paper accepted 4/X/2006.

³Communicated by Ph. D. (Biology) Prof. Yu.P. Frolov.

⁴Gordzjalkovskij Aleksandr Vadimovich, Makurina Olga Nickolaevna, Dept. of Biochemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.