

УДК 547.24

ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ В ТКАНЯХ МОЛЛЮСКОВ¹

© 2007 А.В. Гордзялковский, О.Н. Макурина²

Проведены исследования влияния различных концентраций фенола на содержание каротиноидов в тканях двух видов моллюсков: *Amipullaria gigas* и *Unio pictorum*

Введение

Хозяйственная деятельность человечества в течение последнего столетия привела к серьезному загрязнению нашей планеты разнообразными отходами производства. Воздушный бассейн, воды и почвы в районах крупных промышленных центров часто содержат токсичные вещества, концентрация которых превышает предельно допустимую (ПДК).

Так, например, наблюдается широкая экспансия фенолов в окружающей среде. Это обусловлено уникальными физико-химическими свойствами – хорошей растворимостью, как в водной среде, так и в органических матрицах, низким давлением паров и высокой реакционной способностью. Весь комплекс этих свойств приводит к загрязнению биосферы не только фенолом, но и огромным количеством его производных [1, 9].

Из литературных данных известно, что существует широкий диапазон изменчивости чувствительности гидробионтов различных таксонов по отношению к фенолам [10, 14]. Различные фенольные соединения широко распространены у растений, животных, микроорганизмов. Как активные метаболиты они играют большую роль в регуляции биосинтетических процессов, а как природные соединения фенолы включены в естественный круговорот органических веществ.

Развитие промышленности, сопровождающееся увеличением объема промышленных стоков, внесло в естественный круговорот фенольных соединений существенные изменения. Наряду с фенолами, поступающими в водоемы с отмирающими организмами, туда же и при том во все увеличивающихся количествах стали поступать фенолы антропогенного происхождения. В результате возникли такие направления исследований, как: 1) изучение влияния фенолов на

¹ Статья представлена доктором биологических наук, профессором Н.В. Прохоровой.

² Гордзялковский Александр Вадимович, Макурина Ольга Николаевна (dekanat.05.54@mail.ru), кафедра биохимии ГОУВПО «Самарский государственный университет», 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

физиологию и жизнеспособность различных видов гидробионтов; 2) сравнительный анализ биохимических показателей метаболизма различных видов животных при воздействии одинаковых по химической природе соединений; 3) анализ деструктивной активности гидробионтов и их комплексов и выяснение возможности ее усиления.

Целью данной работы является изучение влияния раствора фенола различной концентрации на содержание каротиноидов в тканях моллюсков двух видов: *Ampullaria gigas* и *Unio pictorum*.

В рамках поставленной цели нами решались следующие **задачи**:

1) определить содержание каротиноидов в тканях двух видов моллюсков в зависимости от действия фенола различной концентрацией; 2) дать сравнительный анализ содержания каротиноидов в различных тканях двух видов моллюсков в зависимости от действия фенола различной концентрации.

1. Методика исследования

Объектом исследования служили ткани моллюсков (*Ampullaria gigas* и *Unio pictorum*).

Схема проведения эксперимента заключалась в том, что животные разделялись на группы (по 8 особей в каждой), которые помещали в стеклянные емкости объемом 3 дм³ с отстоянной водой (контрольная группа животных) и в воду, содержащую различные концентрации фенола – ПДК и 10 ПДК (опытные группы моллюсков). Через 18 часов после начала эксперимента животные извлекались из воды. Препарированные органы исследовались далее на содержание в них каротиноидов.

Выделение каротиноидов и определение их содержания в тканях моллюсков осуществляли общепринятым методом [7].

2. Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных нами экспериментов было установлено, что в контрольной группе моллюсков *Ampullaria gigas* концентрация каротиноидов составила $0,561 \pm 0,007$ мг/100 г в жабрах, $0,169 \pm 0,003$ мг/100 г в ноге, $11,612 \pm 0,018$ мг/100 г в печени, $0,200 \pm 0,005$ мг/100 г в мантии и $0,769 \pm 0,003$ мг/100 г в остатке тела моллюсков (рис. 1, 2). Наибольшее количество каротиноидов содержалось в печени животных (рис. 3). Как известно из литературных источников [3, 4, 8, 11, 12], каротиноиды не синтезируются в организме моллюсков, но могут поступать с пищей и накапливаются в их организме, а также они могут модифицироваться в организме животных. Вероятно, каротиноиды являются антиоксидантами. Этим можно объяснить большое накопление их в печени, которая аккумулирует в себе различные вещества, участвующие в процессах жизнедеятельности животного и обеспечивающие его защиту.

У животных, находящихся в воде, содержащей ПДК и 10 ПДК фенола, концентрация каротиноидов в печени снизилась примерно в 1,5 раза (по сравнению с контролем).

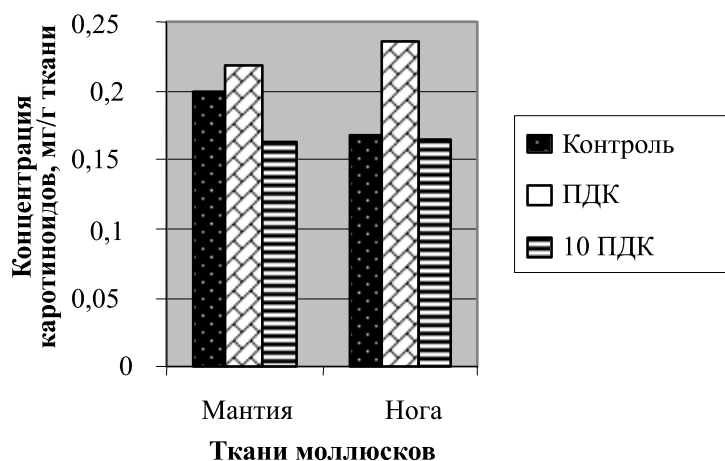


Рис. 1. Содержание каротиноидов в мантии и ноге моллюсков *Ampullaria gigas* в норме (контроль) и при воздействии различных концентраций фенола

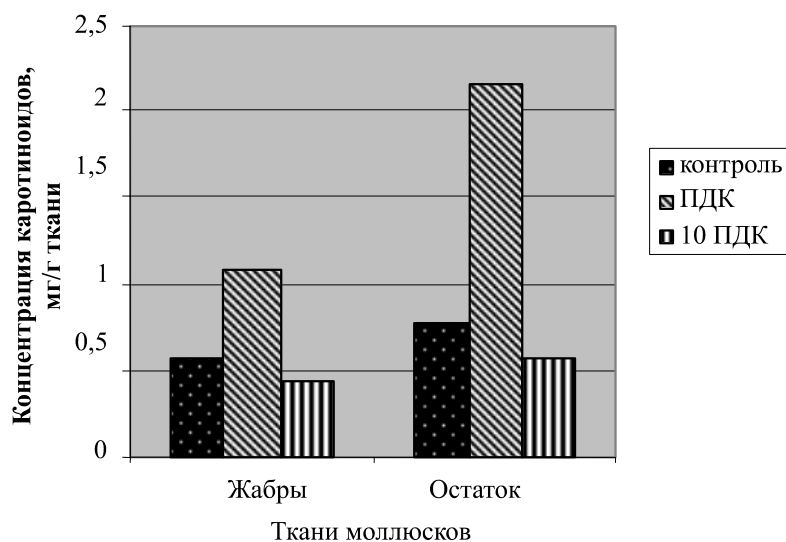


Рис. 2. Содержание каротиноидов в жабрах и остатке тканей моллюсков *Ampullaria gigas* в норме (контроль) и при воздействии различных концентраций фенола

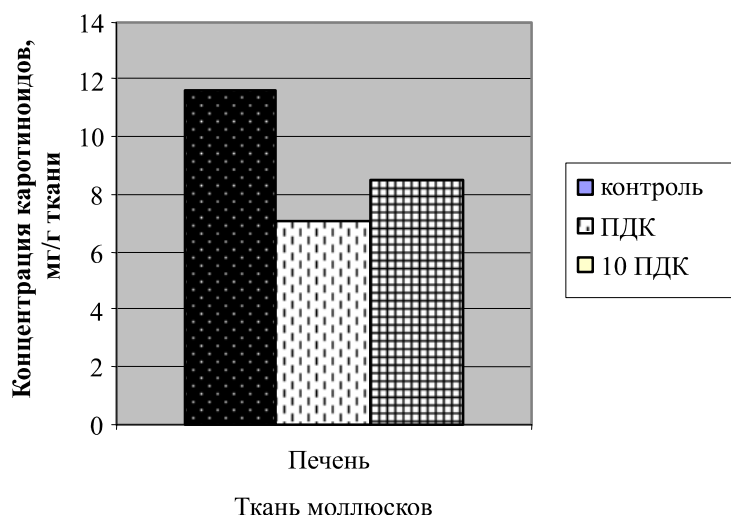


Рис. 3. Содержание каротиноидов в печени моллюсков *Ampullaria gigas* в норме (контроль) и при воздействии различных концентраций фенола

Содержание каротиноидов в жабрах и остатке тела моллюсков невелико, но превышает содержание их в мантии и ноге. А содержание каротиноидов в жабрах моллюсков, находящихся в воде с концентрацией, равной ПДК фенола, увеличилось на 50% по сравнению с контролем. Такая же тенденция наблюдается для остатка тела моллюсков. Концентрация каротиноидов в нем увеличивается в 3 раза по сравнению с контролем. Мы считаем, что каротиноиды меняют свою пространственную конфигурацию. Как известно из литературы [11], каротиноиды являются веществами липидной природы, а, следовательно, они растворимы в органических растворителях. Экстрагирование проводилось ацетоном, и, возможно, каротиноиды перешли из связанной с липидами и беками (путем денатурации) формы в свободную.

Наши данные свидетельствуют о том, что содержание каротиноидов в остатке превышает содержание их в жабрах на 28% как в контроле, так и при воздействии фенола концентрацией, равной 10 ПДК. Концентрация фенола, равная ПДК приводят к тому, что в остатке концентрация каротиноидов вдвое больше таковой в жабрах. Остаток тела весьма разнообразен, в него могли войти различные органы, содержащие достаточное количество каротиноидов. Исследования показали, что гонады содержат большое количество каротиноидов [5]. Были идентифицированы 5 каротиноидов, содержащиеся в семенниках и яичниках. Относительные количества всех 5 каротиноидов различно. И пока мы можем только предположить, что фенол в разных концентрациях оказывает неодинаковое влияние на соотношения разных видов каротиноидов.

Содержание каротиноидов в таких тканях моллюсков, как мантия и нога, очень невелико.

Для мантии характерно снижение количества каротиноидов на 20% по сравнению с контролем, при действии фенола концентрациями, равными ПДК и 10 ПДК. Такой эффект можно объяснить тем, что под действием фенола в высоких концентрациях происходит окисление одних форм каротиноидов и переход их в другие, которые не фиксируются при выбранной нами длине волны.

Увеличение количества каротиноидов на 30% происходит в ткани ноги моллюсков для концентрации фенола, равной ПДК. Но при этом отмечается незначительное снижение их количества (на 10%) для 10 ПДК.

Несколько иная картина в содержании каротиноидов отмечена для тканей моллюсков *Unio pictorum*. Так, в таких тканях, как мантия и жабры, отмечено не очень значительное повышение количества каротиноидов у животных, находящихся в воде, содержащей фенол в концентрации, равной ПДК, по сравнению с контрольной группой моллюсков. А при содержании животных в воде с концентрацией фенола, соответствующей 10 ПДК, количество каротиноидов в мантии больше такового в 4,6 раза, а в жабрах – примерно в 2 раза (рис. 4).

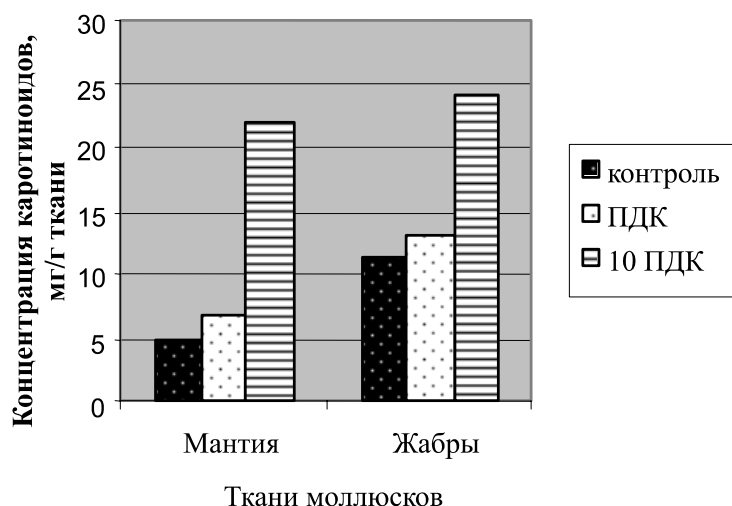


Рис. 4. Содержание каротиноидов в мантии и жабрах моллюсков *Unio pictorum* в норме (контроль) и при воздействии различных концентраций фенола

В таких тканях моллюсков *Unio pictorum*, как нога и печень, наблюдается существенное увеличение содержания каротиноидов в группе животных, находящихся в воде, содержащей фенол в концентрации ПДК. Так, в тканях ноги по сравнению с контролем содержание каротиноидов увеличивается в 2,3 раза, а в тканях печени – в 1,7 раза. Дальнейшее увеличение количества каротиноидов незначительно (рис. 5).

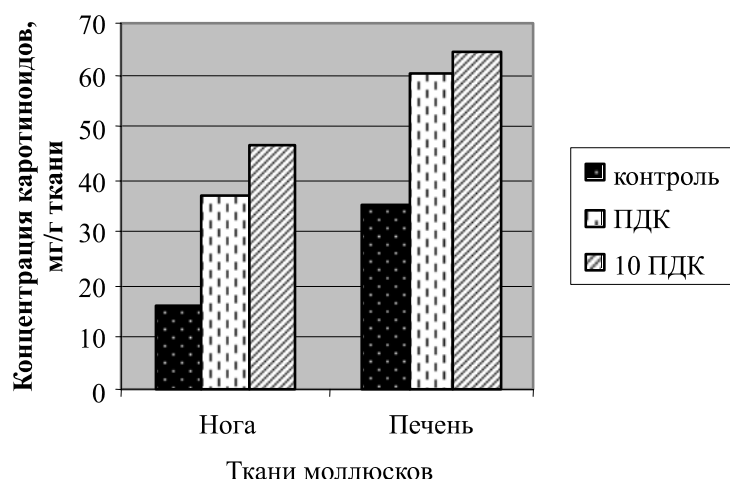


Рис. 5. Содержание каротиноидов в ноге и печени моллюсков *Unio pictorum* в норме (контроль) и при воздействии различных концентраций фенола

Проведя сравнительный анализ количества каротиноидов в одних и тех же тканях исследованных видов моллюсков (*Ampullaria gigas* и *Unio pictorum*), можно сказать, что такой вид, как *Unio pictorum*, содержит значительно больше каротиноидов, чем *Ampullaria gigas*. На наш взгляд, такая тенденция объясняется особенностями этологии моллюсков. *Ampullaria gigas* обитают в толще воды, а *Unio pictorum* ведут маловодвижный образ жизни и являются придонными формами. Поэтому уровень метаболизма *Ampullaria gigas* несколько выше, нежели у *Unio pictorum*. Скорость обменных процессов также неодинакова у моллюсков этих двух видов, что приводит, по-видимому, к более активным защитным процессам в организме *Ampullaria gigas*, чем в организме *Unio pictorum*, о чем косвенно может свидетельствовать содержание каротиноидов в столь различных по функциям и уровню метаболизма тканях.

Однако выявленные тенденции изменения содержания каротиноидов в тканях обоих видов моллюсков в зависимости от воздействующей концентрации фенола, во многом сходны (это наиболее выражено в случае воздействия фенола в концентрации, равной ПДК) для *Ampullaria gigas* и *Unio pictorum*. И такую особенность можно объяснить следующим образом.

Увеличение содержания каротиноидов в видимой области спектра в тканях моллюсков наблюдается при действии фенола уже в концентрации, соответствующей предельно допустимой. Это объясняется участием каротиноидов в молекулярных механизмах адаптации к неблагоприятному фактору среды – гипоксии, которая возникает при действии фенола на организм моллюсков. При загрязнении среды обитания в ней обычно происходит уменьшение концентрации кислорода (фенолы, сбрасываемые со сточными водами в водоемы, интенсивно по-

глощают при своем окислении растворенный в воде кислород) и, возможно, увеличение концентрации химических соединений, способных повреждать митохондриальный энергопроизводящий аппарат клетки [6]. Функцию энергообеспечения клеток при этом берут на себя специальные внутриклеточные органоиды – каротиноксисомы, которые содержат каротиноиды и систему терминального окисления. Каротиноиды участвуют в окислительном метаболизме моллюсков. Он основан на использовании системы сопряженных двойных связей молекулы каротиноида для депонирования кислорода. Такие оксигенированные каротиноиды представляют собой акцептор электронов в системе терминального окисления.

Для объяснения изменения концентрации каротиноидов в тканях моллюсков необходимо 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 двойных связей, находящихся в сопряжении, что приводит к соответствующему смещению полос поглощения из видимой в ультрафиолетовую область спектр.

Поступающий в организм кислород транспортируется дыхательным пигментом гемоцианином в различные ткани. 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 [2, 6, 13].

Таким образом, мы наблюдаем увеличение концентрации каротиноидов в видимой области спектра при действии фенола в концентрации, соответствующей предельно допустимой. Та же тенденция, по-видимому, наблюдается и при действии этого соединения в концентрации, превышающей ПДК в 10 раз.

С помощью каротиноидов происходит адаптация тканей (в частности, мантии, жабер, 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. Кроме того, следует учитывать, насколько продолжительно и как непосредственно взаимодействует фенол, растворенный в воде с исследованными тканями моллюсков. От характера контакта ткани с экзотоксикантом во многом зависит и картина ответной реакции этой ткани.

Выводы

Разные ткани моллюсков *Ampullaria gigas* и *Unio pictorum* характеризуются различными концентрациями каротиноидов, что связано с метаболической активностью и этих тканей, и данных видов животных.

Наиболее чувствительными к воздействию различных концентраций фенола оказались ткани жабер, ноги, мантии *Ampullaria gigas* и *Unio pictorum*. В зависимости от концентрации фенола величина анализируемого биохимического показателя этих тканей различна.

В большинстве случаев наблюдается увеличение содержания каротиноидов в жабрах, мантии, ноге и печени *Ampullaria gigas* и *Unio pictorum* при действии фенола в концентрации, соответствующей ПДК.

Литература

- [1] Александрова, Л.Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л.Н. Александрова. – Л.: Наука, 1980. – 288 с.
- [2] Баканов, А.И. Использование комбинированных индексов для мониторинга пресноводных водоемов по зообентосу / А.И. Баканов // Водные ресурсы. – 1999. – № 1. – С. 108-111.
- [3] Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
- [4] Грин, Н. Биология / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор; перевод с англ. – М.: Мир, 1990. – Т. 1. – 368 с.
- [5] Гудвин, Т. Сравнительная биохимия каротиноидов / Т. Гудвин. – М.: Изд-во иностр. литературы, 1954. – 396 с.
- [6] Евсеева, Т.И. Оценка последствий техногенного загрязнения среды обитания на состояние биоценозов / Т.И. Евсеева // Реферативный журнал. – 2002. – № 11. – Разд. 04А. – С. 29.
- [7] Карнаухов, В.Н. Биологические функции каротиноидов / В.Н. Карнаухов. – М.: Наука, 1988. – 240 с.
- [8] Карнаухов, В.Н. Роль моллюсков с высоким содержанием каротиноидов в охране водной среды от загрязнения / В.Н. Карнаухов. – Пушкино: Наука, 1978. – 73 с.
- [9] Козубова, Л.И. Органические загрязнители питьевой воды: Аналитический обзор / Л.И. Козубова, С.В. Морозов. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1993. – 167 с.
- [10] Копытов, Ю.П. Адаптация морских нефтеокислителей микрофлоры к комбинированному загрязнению (экологические и физиолого-биохимические аспекты) / Ю.П. Копытов, И.А. Дивавин // Реакции гидробионтов на загрязнение. Сборник статей. – М.: Наука, 1983. – С. 63-68.
- [11] Кретович, В.Л. Основы биохимии растений / В.Л. Кретович. – М.: Высшая Школа, 1973. – 342 с.

- [12] Савинов, Б.Г. Каротин (провитамин А) и получение его препаратов / Б.Г. Савинов. – Киев: Изд-во Академии Наук Украинской ССР, 1948. – 220 с.
- [13] Физиология и биохимия гидробионтов // Сб. научных трудов. – Ярославль, 1987. – 159 с.
- [14] Флеров, Б.А. Экспериментальное исследование фенольного отравления у рыб / Б.А. Флеров // Влияние фенола на гидробионтов. Сборник статей. – Л.: Наука, 1973. – 195 с.

Статья поступила в редакцию 26/XII/2006;
в окончательном варианте – 26/XII/2006.

EFFECT OF PHENOL ON THE CONTENT OF CAROTINOIDES IN THE MOLLUSC TISSUES³

© 2007 A.V. Gordzjalkovskij, O.N. Makurina⁴

Effect of several concentrations of phenol on the main tissues of two species of mollusk (*Ampullaria gigas* and *Unio pictorum*) is studied.

Paper received 26/XII/2006.

Paper accepted 26/XII/2006.

³ Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. N.V. Prochorova.

⁴ Gordzjalkovskij Aleksandr Vadimovich, Makurina Olga Nikolaevna (rambler@biomig.ru), Dept. of Biochemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.