

Влияние ионов ртути на лизоцимную активность и микробную обсеменённость жабр двустворчатых моллюсков *Unio pictorum*

Т.В. Осинкина, аспирантка, **Г.Н. Соловых**, д.б.н., профессор, **Г.М. Тихомирова**, к.б.н., ГБОУ ВПО ОрГМУ

Техногенное загрязнение природных водоёмов и водотоков — одна из глобальных экологических проблем современного общества и в ряду с климатическими изменениями температуры, освещённости,

газового, солевого состава едва ли не главный по значимости средовой фактор, воздействию которого часто подвергаются водные организмы. Сила воздействия на гидробионтов определяется его качественными и количественными признаками. Первые обусловлены вероятностью попадания в водоём токсикантов (тяжёлые металлы, ксено-

биотики), вторые — концентрацией их в воде и продолжительностью воздействия на биоту.

Если по силе воздействия какой-либо фактор выходит за рамки, освоенные животными в результате естественного отбора (популяционно-генетическая адаптация), организм переходит в состояние стресса — органического или физиологического расстройства, которое сопровождается нарушением обмена веществ [1]. При этом наиболее чувствительны к воздействию компоненты защитных ферментных систем, одним из которых является лизоцим.

Полученные ранее данные показали, что экстракты тканей пресноводного двустворчатого моллюска *Unio pictorum* оказывают выраженное литическое действие в отношении суспензии клеток грамположительной тест-культуры *Micrococcus lysodeicticus*. Следует отметить, что наиболее высокие значения удельной активности определены в экстрактах жаберной ткани [2]. Происходит это, по-видимому, по причине важной барьерной роли, которую выполняют жабры в организме моллюсков: интенсивно омываемые гемолимфой, содержащей лизоцим, они обезвреживают бактерии, принесённые водой [3].

Мониторинг загрязнения токсикантами вод и водотоков Оренбургской области показал широкое распространение ртути в водных экосистемах, содержание которой в водной вытяжке донных отложений (ВВДО) превысило ПДК р.х. на большинстве изученных водоёмов и водотоков, выявлены её аномальные концентрации и в цельном грунте [4].

Таким образом, вышеуказанные факты определили актуальность исследования влияния ионов ртути на лизоцимную активность и микробную обсеменённость жабр *Unio pictorum*.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели были созданы модельные экосистемы. Моллюсков *U. pictorum* возрастом около 3–4 лет, отобранных со станции «Малый водозабор» реки Урала в районе г. Оренбурга, разделили на две группы по 10 особей в каждой. I группа моллюсков служила контролем и содержалась в аквариуме с отстоявшейся водопроводной водой в течение всего эксперимента. II группа животных первые три дня содержалась также в чистой воде для предадаптации, а затем последовательно через каждые три дня в аквариумы с моллюсками добавляли раствор хлорида ртути (II) в концентрациях, соответствующих значениям ПДК, 10ПДК, 100ПДК, 500ПДК, 1000ПДК для вод открытых водоёмов [2].

Экспозицию опытных моллюсков проводили в течение 15 сут. с отбором животных через каждые три дня после воздействия очередной концентрации токсиканта. Уровень лизоцимной активности жаберной ткани определяли спектрофотометрическим методом по изменению светопропускания опытной взвеси *Micrococcus lysodeicticus* по сравнению с исходной. За единицу литической активности

супернатанта жаберной ткани (Еа/мл) принимали такое его количество, которое вызывало снижение исходной оптической плотности раствора на 0,001 за одну минуту [2].

Общее микробное число (микробная обсеменённость) — это определённое число микробных колоний, которые вырастают на простой питательной среде — мясо-пептонном агаре (МПА) при 37°С в течение 24 часов из посева 1 мл исследуемой пробы воды. Данный показатель для жаберной ткани и воды определяли по общепринятой методике [5, 6].

Результаты исследования и их обсуждение. Давая оценку проведённым экспериментам, следует сказать, что соединения ртути оказывают влияние на двустворчатых моллюсков даже в концентрациях, не превышающих предельно допустимые: через три дня после добавления токсиканта на уровне ПДК резко изменилось поведение моллюсков *U. pictorum*. Медлительные по своей природе организмы стали достаточно быстро перемещаться по аквариуму, раскрывая и резко закрывая створки раковин. Согласно полученным ранее данным, такое поведение моллюсков характерно для состояния острой интоксикации и внезапно возникшего окислительного стресса (аноксии) [1, 7].

Полученные результаты (рис. 1) свидетельствуют об устойчивом увеличении микробной обсеменённости жабр моллюсков в опыте: с 200 КОЕ/мл до начала эксперимента до 2200 КОЕ/мл через 15 сут. при значении концентрации ртути 1000ПДК. Однако резкое возрастание определяемого показателя выявлено при 100-кратном превышении ПДК поллютанта в среде, что в 3,7 раза выше по сравнению с 10-кратным.

Увеличение микробной обсеменённости (общего микробного числа) поверхности жабр *U. pictorum*

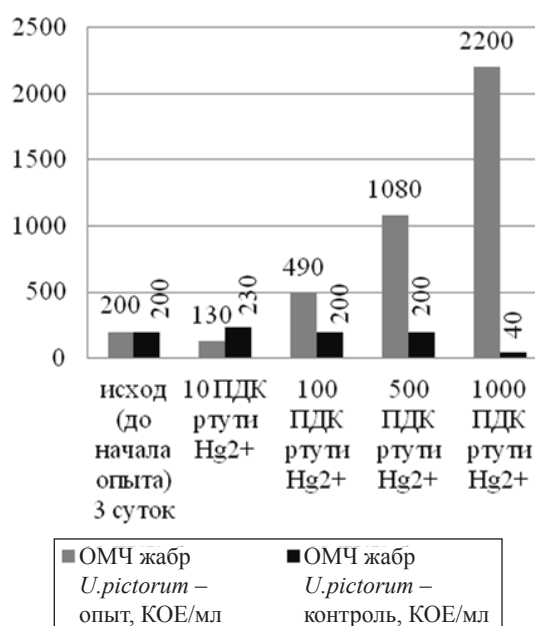


Рис. 1 – Динамика микробной обсеменённости жабр *U. pictorum* в опыте и контроле

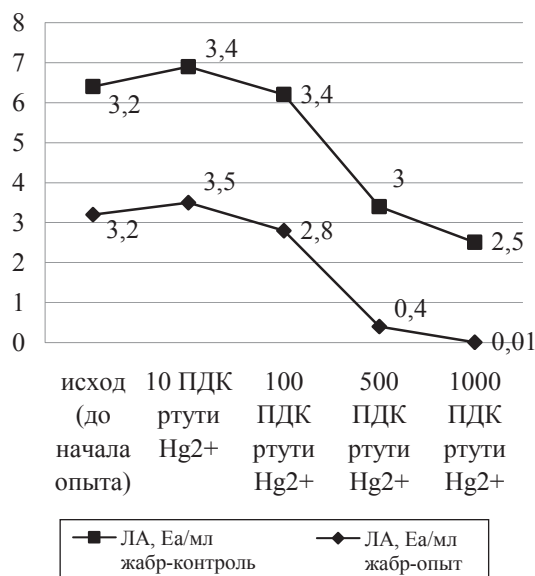


Рис. 2 – Изменение лизоцимной активности жабр *U. pictorum* под действием ионов ртути (контроль и опыт)

возникло на фоне резкого снижения лизоцимной активности ткани данного органа моллюсков от 3,2 Ед/мл до 0,01 Ед/мл при 1000 ПДК ртути, то есть литическая активность жабр снизилась в 320 раз (рис. 2), а микробная обсеменённость увеличилась в 11 раз. Полученные данные свидетельствуют о том, что падение лизоцимной активности ткани первого по значимости барьерного органа моллюсков вызывает снижение их защитного механизма по обезвреживанию бактерий, попавших в мантийную полость данных организмов [8].

В контроле общее микробное число жабр практически не изменялось в течение всего эксперимента и в среднем составило 207,5 КОЕ/мл, но на 12–15-е сутки эксперимента фиксировалось его снижение в 5 раз (рис. 1). Для общего микробного числа воды опытного и контрольного аквариумов также определена некоторая динамика (рис. 3).

В воде контроля количество КОЕ/мл в течение первых 12 дней эксперимента оставалось относительно стабильным и лежало в пределах 260–300. В воде опытного аквариума возрастание общего микробного числа произошло уже при 100 ПДК до 580 КОЕ/мл с 255 и при 500 ПДК до 920 КОЕ/мл, в 1,9 раза соответственно. В то время как при 1000 ПДК ионов ртути общее микробное число воды снизилось в 3 раза.

Таким образом, снижение лизоцимной активности ткани первого барьерного органа *U. pictorum* – жабр в короткие сроки приводит к резкому увеличению их микробной обсеменённости, что, несомненно, снижает защитные механизмы адаптации гидробионтов к их существованию в водоёмах, которые испытывают антропогенную нагрузку в виде ионных форм тяжёлых металлов и в частности ртути. Учитывая высокое микроб-

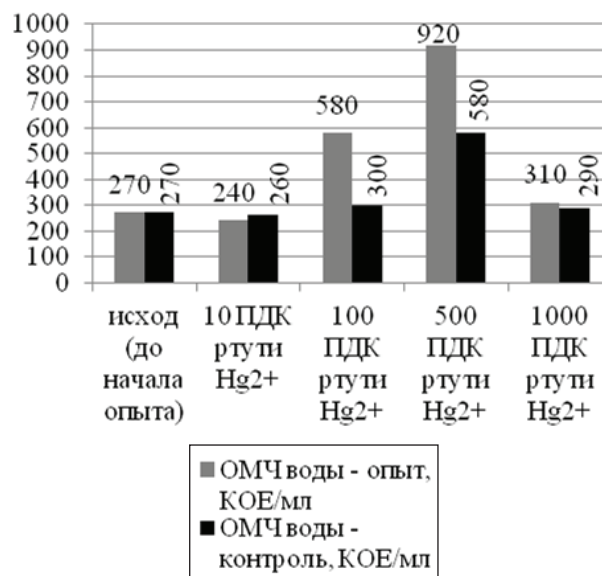


Рис. 3 – Динамика общего микробного числа воды в опыте и контроле

ное обсеменение придонного слоя воды, которая преимущественно фильтруется двусторчатыми моллюсками, следует предположить, что в результате патологических изменений физиологического состояния данных организмов, в том числе снижения лизоцимной активности моллюсков и, как следствие, последующего колебания численности бактериальной популяции, происходит снижение эффективности данной группы организмов как фильтраторов. Данный факт необходимо учитывать при оценке состояния водных объектов с точки зрения интенсивности самоочищающей способности и эффективности функционирования водных гидробиоценозов в целом.

Литература

1. Цветков И.Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации: автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М., 2009. 23 с.
2. Соловых Г.Н., Минакова В.В., Карнаухова И.В. Влияние тяжёлых металлов на лизоцимную активность пресноводных двусторчатых моллюсков родов *Unio* и *Anodonta* // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. № 12. С. 235–237.
3. Кулько С.В. Морфофункциональные особенности гемоцитов двусторчатых моллюсков *Anodonta cygnea* // (Борок, 22–27 сент. 2012 г.) : матер. Всерос. конф. с междунар. участием. Борок, 2012. С. 221–222.
4. Голинская Л.В. Эколого-генотоксический мониторинг состояния водных экосистем на территории Оренбургской области: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Оренбург, 2011. 23 с.
5. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / под ред. Н.С. Егорова. 3-е изд. М.: Дрофа, 1997. 256 с.
6. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 223 с.
7. Тимофеев В.А., Копылов Ю.П., Самышев Э.З. Морфология жаберного аппарата двусторчатых моллюсков в связи с загрязнением донных осадков // Морской экологический журнал. 2009. Т. 8. № 3. С. 41–52.
8. Алёхина Г.П., Мисетов И.А. Влияние поллютантов различной химической природы на микрофлору внутренних органов двусторчатого моллюска *Unio pictorum* // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. № 10 (146). С. 58–60.