



УДК 594.124:577.15(262.5)

© 2007

О. Л. Гостюхина, А. А. Солдатов, И. В. Головина

**Влияние тетрадецилтриметиламмоний бромида
на состояние ферментной системы антиоксидантной
защиты тканей черноморского моллюска
Mytilus galloprovincialis Lam.**

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Г. Е. Шульманом)

*The content of lipid peroxidation (LP) products and antioxidant (AO) enzyme complex state in hepatopancreas, gills, and foot of the Black Sea mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. are investigated under the influence of cationic surfactant tetradecyltrimethylammonium bromide (TDTMA). It has been determined that the TDTMA has the direct damaging effect on the peripheral tissues of mussels, i. e. gills and foot. Increasing the TBA-active products level confirms this phenomenon. The system SOD-catalase plays the key role in the AO defense processes under the oxidative stress caused by the detergent. The glutathione peroxide system of peripheral tissues of mollusks is directed to increasing the glutathione level. The state of internal organs (hepatopancreas) has not been changed under the detergent influence.*

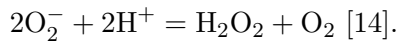
Синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ) относят к группе распространенных и опасных загрязнителей водной среды [1–3]. Среди этих соединений выделяют три основные категории: ионогенные, неионогенные и высокомолекулярные ПАВ [3]. Наиболее опасными для гидробионтов являются катионные ионогенные детергенты, к числу которых принадлежит тетрадецилтриметиламмоний бромид (ТДТМА). Это обусловлено их высокими адгезивными свойствами и выраженным перфорирующим действием на биомембраны [2–4]. Результатом действия СПАВ на гидробионтов может быть развитие окислительного стресса, повреждение молекул белков и нуклеиновых кислот, клеточных и тканевых структур животных, а в ряде случаев и гибель организма. Выявлено негативное влияние данных соединений на скорость роста, динамику численности и выживаемость пресноводных [3] и морских водорослей [1, 3], бактериопланктона [3], фильтрационную активность колорадок *Brachionus angularis* Gosse [2], скорость питания брюхоногих моллюсков *Lymnaea stagnalis* и унионид [5], структуру биомембран тканей рыб *Pimephales promelas* и *Ictalurus punctatus* [2]. Вместе с тем воздействие катионных детергентов на двустворчатых моллюсков-фильтраторов, являющихся важным объектом биотестирования и биоиндикации,

изучено недостаточно. Исследовано главным образом действие СПАВ на фильтрационную активность этих животных [5]. Информация же о влиянии детергентов на защитные системы моллюсков, в частности антиоксидантную (АО) систему, являющуюся важным инструментом в экодиагностике водной среды [6], практически отсутствует. Данному аспекту рассмотренной проблемы и посвящена настоящая работа.

В работе использовали половозрелых особей *Mytilus galloprovincialis* Lam. черной морфы одного срока оседания. Моллюсков собирали с коллекторных установок в Севастопольской бухте (район Севастополя, Черное море). Экспериментальную группу животных подвергали воздействию ТДТМА в концентрации 0,8 мг/л в течение 8 сут. Ткани гепатопанкреаса, жабр и ноги хранили в жидком азоте. Определяли активность следующих АО ферментов: глутатионпероксидазы (ГП) (КФ 1.11.1.9) по накоплению GSSG [7], глутатионредуктазы (ГР) (КФ 1.6.4.2) по убыли НАДФН [7], супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.11) по реакции с нитросиним тетразолием [7], пероксидазы (КФ 1.11.1.7) [8] и каталазы (КФ 1.11.1.6) по снижению концентрации H_2O_2 [9]. Одновременно в тканях оценивали содержание восстановленного глутатиона (GSH) [10], ТБК-активных продуктов [11] и белка [12]. Цифровой материал обработан статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента, результаты представлены как $M \pm m$.

Жабры. Внесение в среду ТДТМА вызывало увеличение концентрации ТБК-активных продуктов. В сравнении с контрольной группой рост составил 31,5% ($p \leq 0,01$) (табл. 1). Высокую чувствительность жабр к ТДТМА можно объяснить непосредственным контактом с внешней средой. Как респираторный орган они имеют большую площадь поверхности, тонкий водно-гематический барьер [13] и поэтому оказываются более доступными для действия детергента.

Окислительная нагрузка компенсировалась в основном со стороны системы СОД — каталаза. Активности этих ферментов в сравнении с контролем увеличились соответственно в 6,0 раз ($p \leq 0,001$) и 1,7 раза ($p \leq 0,01$) (рис. 1). СОД и каталаза функционируют в тесной взаимосвязи. СОД инактивирует O_2^- , что предполагает нарастание в клетке содержания пероксида водорода:



Токсичный H_2O_2 , в свою очередь, обезвреживается каталазой, обладающей низким сродством к данному соединению.

Действие ТДТМА затрагивало также состояние глутатионпероксидной системы (ГПС). Содержание GSH в жаберной ткани увеличилось в 1,7 раза ($p \leq 0,05$). Это происходило на фоне изменения активностей сопряженных с ним ферментов: ГР и ГП. Активность ГР повышалась в 1,45 раза ($p \leq 0,05$), а ГП — снижалась в 1,6 раза ($p \leq 0,05$) (рис. 2).

Таблица 1. Содержание ТБК-активных продуктов в тканях мидий в контроле и условиях действия ТДТМА, мкмоль МДА/мг ткани ($M \pm m$)

Тип ткани	Контроль		ТДТМА	
	<i>n</i>	$M \pm m$	<i>n</i>	$M \pm m$
Гепатопанкреас	18	445,9 ± 59,9	16	432,4 ± 32,0
Жабры	17	260,1 ± 28,5	16	379,9 ± 36,8*
Нога	16	227,5 ± 38,7	18	480,8 ± 117,5

Примечание. *n* — число особей.

* $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

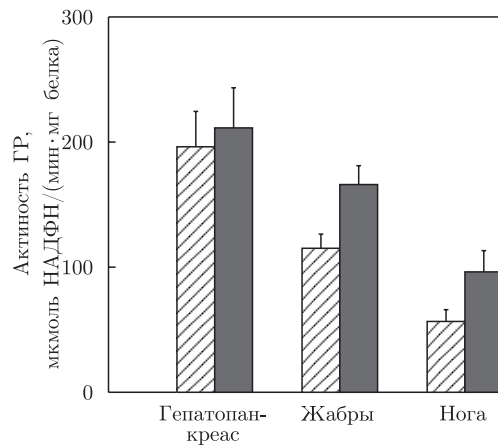
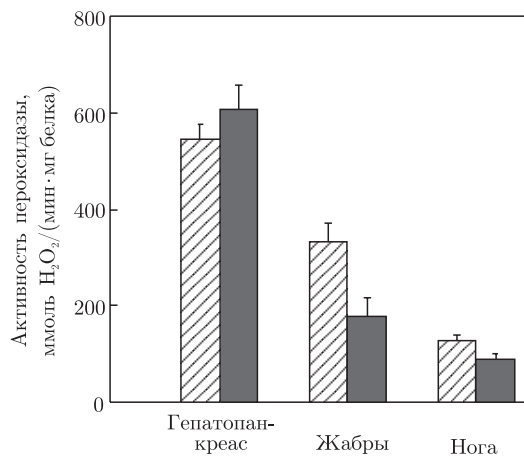
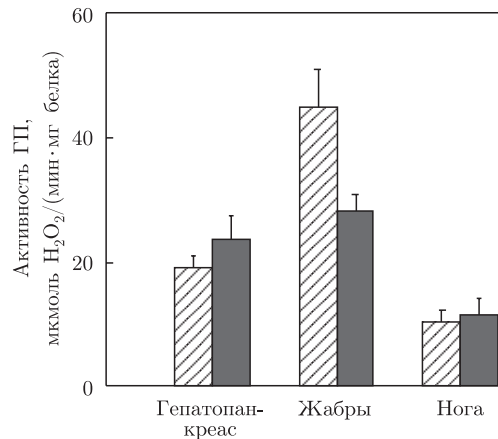
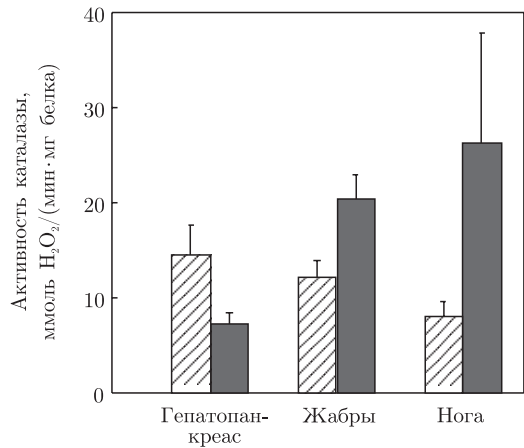
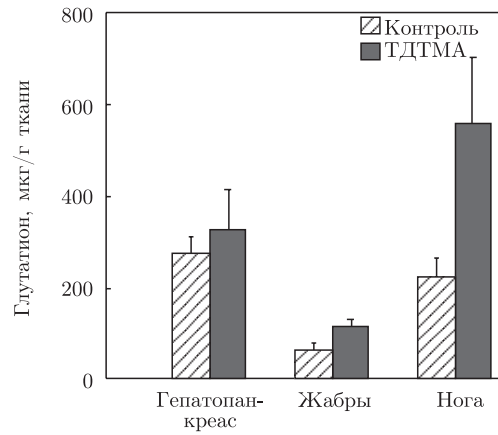
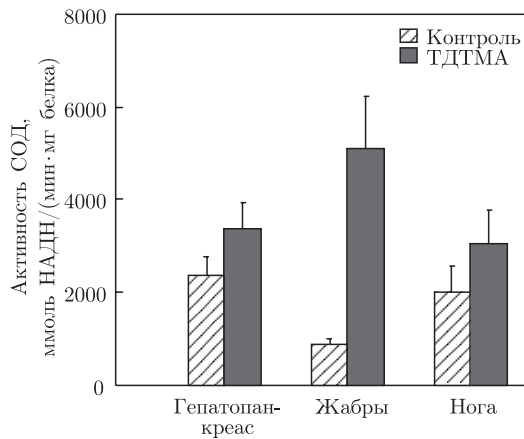


Рис. 1. Активность СОД, каталазы и пероксидазы в тканях мидий в контроле и условиях действия ТДТМА

Рис. 2. Активность ферментов ГПС и содержание GSH в тканях мидий в контроле и условиях действия ТДТМА

Подобное соотношение процессов позволяет говорить о том, что ГПС не задействована в нейтрализации окислительной нагрузки. Снижение активности ГП, обладающей низким сродством к пероксиду водорода, может быть вызвано ингибирующим влиянием высоких концентраций H_2O_2 [14]. Рост же содержания GSH, обусловленный изменением активностей

ГП и ГР, может служить резервом для последующей нейтрализации низких концентраций H_2O_2 .

Не следует исключать из внимания и самостоятельное антиоксидантное значение GSH для защиты клеток от окислительного повреждения [14, 15]. Это выражается в его способности перехватывать различные формы свободнорадикальных продуктов, в том числе пероксид водорода, гидроксильный радикал. В этой связи рост содержания GSH в жабрах можно рассматривать и как свидетельство формирования адаптивного ответа ткани на действие окислительного стресса [15].

Нога. В ноге моллюска реакции АО комплекса в условиях действия ТДТМА качественно совпадали с таковыми в жабрах. Это выражалось в увеличении содержания ТБК-активных продуктов (см. табл. 1), повышении активности СОД и каталазы (см. рис. 1). На этом фоне обнаружены также изменения показателей ГПС: увеличение активности ГР и уровня GSH. Различия составили 1,7 и 2,5 раза ($p \leq 0,05$) соответственно (см. рис. 2). Активность ГП при этом оставалась неизменной (см. рис. 2).

Гепатопанкреас. Гепатопанкреас, относящийся к группе внутренних органов, не подвергался окислительной нагрузке при действии ТДТМА, о чем свидетельствовало отсутствие реакций со стороны АО комплекса, а также снижение активности каталазы в 2 раза ($p \leq 0,05$).

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что катионный детергент ТДТМА оказывает прямое повреждающее действие на периферические ткани мидий — жабры и ногу. Это подтверждается увеличением содержания ТБК-активных продуктов. Ключевая роль в нейтрализации окислительной нагрузки принадлежит системе СОД — каталаза. ГПС тканей ориентирована на наращивание ресурса GSH. Состояние АО комплекса внутренних органов моллюска (гепатопанкреас) при действии детергента не изменяется.

1. Айздайчер Н. А., Маркина Ж. В. Токсическое действие детергентов на водоросль *Plagioselmis prolonga* (Cryptophyta) // Биология моря. — 2006. — **32**, № 1. — С. 50–54.
2. Rosen M. J., Li F., Morall S. W., Versteeg D. J. The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organisms // Environ. Sci. and Technol. — 2001. — **35**, No 5. — P. 954–959.
3. Паршикова Т. В., Негруцкий С. Ф. Влияние поверхностно-активных веществ на водоросли (Обзор) // Гидробиол. журн. — 1988. — **24**, № 6. — С. 46–58.
4. Ying G. G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // Environ. Int. — 2006. — **32**, No 3. — P. 417–431.
5. Остроумов С. А., Колесников М. П. Моллюски в биогеохимических потоках (C, N, P, Si, Al) и самоочищении воды: воздействие ПАВ // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. — 2003. — № 1. — С. 15–24.
6. Cossu C., Doyotte A., Babut M. et al. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments // Ecotoxicol. and Environ. Safety. — 2000. — **45**, No 2. — P. 106–121.
7. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. — 1989. — № 11. — С. 20–23.
8. Практикум по иммунологии: Учеб. пособие для студентов вузов / Под ред. А. Фриммеля. — Москва: Медицина, 1989. — 224 с.
9. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лаб. диагностика. — 1999. — № 4. — С. 45–46.
10. Путлилина Ф. Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Методы биохимических исследований. — Ленинград: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — С. 183–186.
11. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analyt. Biochem. — 1979. — **95**. — P. 351–358.
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — **193**. — P. 265–275.

13. Чуйко Г. М. Причины межвидовых различий в устойчивости костистых рыб к действию фосфорорганических пестицидов / Современные проблемы водной токсикологии: Тез. Всерос. конф. с участием специалистов из стран ближнего и дальнего зарубежья (19–21 ноября 2002 г., Борок). – Борок, 2002. – С. 69.
14. Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи соврем. биологии. – 1993. – № 4. – С. 442–455.
15. Кеня М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Там же. – 1993. – **113**, № 4. – С. 456–470.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского
НАН Украины, Севастополь

Поступило в редакцию 05.03.2007

УДК 581.1:583.26

© 2007

В. І. Ємельянов, Н. М. Рашидов, П. О. Романенко, В. І. Сакада,
академік НАН України **Д. М. Гродзинський**

Здатність рослин проводити світло до ризосфери

Phaseolus vulgaris plants able to provide light to rhizosphere indirectly through their ground parts and roots. The results of our investigation evidence that a half of green light arrives to rhizosphere by the unknown mechanism with the help of the transformation of light energy from a higher power level to a lower one. Red light almost doesn't get into rhizosphere in the vegetation period, but has possibility to reach it after the disappearance of underground parts. 2 hours after irradiation of higher plants by a SOS dose of 50 Gy, light transfer to rhizosphere increases by at least 5 times.

Ґрунтові водорості знаходяться у складних взаємовідносинах з іншими організмами біоценозів — вірусами, бактеріями, грибами, рослинами, тваринами. Захищаючи ґрунт від ерозії, вони збагачують його азотом, різноманітними органічними речовинами, включаючи біологічно активні [1]. Зокрема, водорості застосовують при оцінці стану ґрунту, підвищенні його водоутримуючої здатності, у виробництві біологічних добрив на основі азотфіксаторів.

Завдяки дослідженням альгологів відомо, що водорості, значна частина яких є облигатними фотоавтотрофами, існують не лише у верхніх шарах ґрунту, а й зустрічаються на глибинах до кількох метрів [2]. При цьому вони не просто знаходяться у стані діаспор, а й активно там вегетують [3]. У середньому в 1 г верхнього шару ґрунту (≈ 2 см углиб) налічують 10^3 – 10^6 клітин різних видів водоростей [2]. Вони виявлені навіть на відстані 1700 м від входу в печеру [4]. Такі дані свідчать про те, що або водорості використовують готові органічні сполуки, або їх фотосинтетичний апарат здатний сприймати кванти світла навіть дуже малої інтенсивності.

Світло не може проникати глибоко в ґрунт. У світлому кварцовому піску з частинками 4–6 мм на глибину 2 см проникає лише 0,001% світла, а в дрібному піску з частинками 0,5–0,1 мм така кількість світла проникає лише на глибину 1 мм [5]. Таким чином, зона