

CHANGE OF FUNCTIONAL CONDITION CERIODAPHNIA AFFINIS AT INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS OF ENVIRONMENT

E.V. Ryabuhina, O.A. Botyazhova, J.A. Nikiforova

P.G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia
Kifirrrchik@mail.ru

Research problems included studying change of toxicity of two compositions of a synthetic washing-up liquid "Myth" in chronic experiment on fishes a method of biotesting on Ceriodaphnia and the analysis of change of an oxygen mode in solutions under various experimental conditions. Criterion of change of toxicity of environment was dynamics of destruction Ceriodaphnia in tests of water in comparison with the control. It is established, that for 15 day in reservoirs there was an increase in toxicity of solutions in concentration of 25,0 mg/l on 13–20%. It is drawn a conclusion, that at transformation of synthetic washing-up liquids there was a formation of the connections proof to biodecomposition and more toxic, than initial. It was the reason of deterioration of an oxygen mode and increase of toxicity of tests of water for Ceriodaphnia.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОНСТИТУТИВНЫХ И ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ *ESCHERICHIA COLI*, КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ

Н. А. Сидорова

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
vanlis@petrsu.ru

Одним из критериев стабильного состояния водной экосистемы является сохранение постоянного баланса между необходимыми для поддержания жизнедеятельности различными биодеградативными процессами и огромным количеством биосинтетических процессов. Процессы биодеградации обеспечивают клетку высокоэнергетическими соединениями, необходимыми для выполнения такой работы, как ионная регуляция и процессы биосинтеза. Клеточный гомеостаз достигается благодаря функционированию эффективной и сложной системы регуляции, приводящей каждый отдельный метаболический процесс в строгое соответствие с нуждами организма в целом. Согласно работам Гусева М.В. и Минеевой Л. А (1992), координация метаболизма прокариот сводится к регуляции интенсивности протекания ферментативных реакций, образующих метаболические пути. Эффективность биологического катализа в клетке может регулироваться двумя путями: во-первых, путем изменения количества катализатора и, во-вторых, путем регулирования активности фермента [Коэн Ф., 1989].

Для изучения активности конститутивных и индуцибельных ферментативных систем сапрофитных форм *E. coli* была изучена β - галактозидазная и каталазная активность 65 изолятов *E. coli*, выделенных из акватории бассейна Онежского озера. Целесообразность использования ферментативного анализа представителей микрофлоры воды обусловлена несколькими причинами: 1. интегративностью показателей активности ферментов, которые выделяются компонентами биоты и сохраняются в воде, способствуя ее очищению от загрязняющих веществ; 2. специфичностью действия ферментов на различные субстраты, что позволяет использовать методы ферментативной активности в условиях специфического загрязнения; 3. информативностью этих методов, позволяющей оценить экологическую напряженность в зонах антропогенного влияния на водоем.

Как и другие микроорганизмы, *Escherichia coli* находится в прямой зависимости от объектов окружающей среды. В природе эшерихия подвергается прямому действию дисгенетических и селективных факторов, что способствует формированию локальных субпопуляций вида с характерными биологическими и биохимическими свойствами. В отечественных и зарубежных публикациях существует много сведений о биохимических особенностях *E. coli*, однако данных о ферментативной изменчивости вида в определенном регионе – недостаточно. С целью экологической эксперти-

зы бассейна Онежского озера и изучения сапрофитической фазы существования вида была изучена биохимическая активность *Escherichia coli*, выделенной из разных по уровню антропогенного воздействия экологических ниш: 1. бытовых сточных вод, 2. смешанных промышленных стоков с территории целлюлозно-бумажного комбината (г. Кондопога), 3. бассейна Петрозаводской губы Онежского озера, 4. водопроводной воды. Учитывая различия в процессах самоочищения водных экосистем от загрязнителей и гетерогенность выделенных культур по изучаемому параметру считалось целесообразным сравнение ферментативной активности аборигенных эшерихий с чистой культурой лабораторного штамма K₁₂ (leu- thi-(λ)-str-rF-) - источник штамма ГИСК им. Л.А. Тарасевича – штамм растет на ГМС с глюкозой.

Активность β-галактозидазы измерялась по методу Парди. Реакция протекала в присутствии бесклеточного экстракта. Реакционная смесь включала: 4, 1 мл 0,05 М натрий-фосфатного буфера рН 7,5 и 0,2 мл 0,032 М восстановленного глутатиона. Смесь выдерживали до установления температуры 30 град. С., добавляли клетки в объёме 0,2 мл и начинали реакцию внесением 0, 50 мл лактозы. По окончании времени инкубации 15 мин реакцию останавливали, смесь встряхивали и измеряли оптическую плотность при 420 нм. За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль 0-нитрофенола за 1 ч в условиях эксперимента. Строили калибровочную кривую, отражающую зависимость в условиях проведения эксперимента между оптической плотностью при 420 нм и концентрацией 0-нитрофенола.

Активность каталазы устанавливалась по методу Баха и Опарина, основанному на том, что две молекулы H₂O₂ разлагаются на 2H₂O + O₂. Избыток перекиси титровали перманганатом в кислой среде. В опыте определяли количество оставшейся неразрушенной перекиси водорода, а в контроле – общее количество взятой H₂O₂ в присутствии каталазы, инактивированной кипячением. Учитывая разность результатов опыта и контроля, определяли количество разрушенной за определенное время (30 мин) перекиси и по результату судили об активности каталазы. Для проверки полученных данных был использован статистический метод Стюарта – Фишера.

Способность к синтезу β-галактозидазы была обнаружена у 12% выделенных культур эшерихий. Активность фермента изменялась в пределах от 8,27 до 14,41 усл.ед. Превышение активности галактозидазы, по сравнению с контролем, отмечено у культур, выделенных из рек Неглинка, Лососинка и Кондопожской губы Онежского озера. Видимо, изменение химического состава воды приводит к увеличению активности специфичных индуцибельных ферментов, что является результатом адаптации вида к антропогенным условиям обитания. Активность каталазы изменялась от 1,87 до 6,97 мг H₂O₂, при этом, активность каталазы *E. coli* «загрязненного» водоёма почти всегда превосходила уровень активности данного фермента у контрольного штамма в 1,5–2,3 раза. Содержание органических соединений в «грязных» акваториях также было выше о чем свидетельствует превышение ПДК по БПК₅. Величины БПК, соответственно концентрации органического загрязнения в исследуемых водоемах – колебались. Возможно, колебания уровня содержания органических соединений в пробах речной и озерной воды связаны с дополнительным влиянием прочих антропогенных факторов, либо с погодными условиями; соответственно им изменялись и уровни ферментативной активности выделенных культур эшерихий. Процент не активных по каталазе штаммов эшерихий колебался от 1, 87 до 2, 12% от общего количества активных штаммов.

По полученным данным можно сделать следующие выводы: 1. Активность как конститутивных, так и индуцибельных ферментов эшерихий зависит от степени антропогенного нарушения экологического статуса бассейна Онежского озера; 2. Активность каталазы и β-галактозидазы *Escherichia coli* являются чувствительными тестами, которые можно использовать для ранней диагностики экологического и санитарного неблагополучия водной среды; 3. С помощью ферментативной активности каталазы *E.coli* возможно установить интенсивность процессов бактериального самоочищения водоемов от органического загрязнения; 4. Ферментативная активность *E.coli* по β-галактозидазе позволяет выявлять следовые дозы колиформных эшерихий и устанавливать присутствие в водоеме органических загрязнителей фекального происхождения.

В качестве объективной оценки состояния водных экосистем, их способности к самоочищению от органических соединений можно предложить величину каталазной активности эшерихий. Этот показатель может выражать уровень напряженности адаптационных процессов водной сис-

темы к загрязнению органическими соединениями с одной стороны, с другой – может служить объективным тестом на степень деградации водной системы. Чем выше значение активности каталазы эшерихий выделенных из загрязненного водоема, тем активнее в нем идут процессы окисления и самоочищения от органических загрязнений. Таким образом, исследования по определению активности β- галактозидазы и каталазы аборигенных эшерихий, выделенных из акваторий разной степени загрязнения органикой промышленного и бытового происхождения показали возрастание этого показателя по мере усиления загрязненности воды отходами до определенных пределов. Возможно, при превышении предела толерантности бассейна Онежского озера к высоким уровням концентрации ОВ, будет наблюдаться снижение ферментативной активности изученного вида энтеробактерий.

ОСОБЕННОСТИ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ МОРСКИХ РЫБ РАЗНОЙ ЭКОЛОГИИ

Ю.А. Силкин, Е.Н. Силкина

Карадагский природный заповедник НАН Украины, Феодосия, Украина
ysilkin@mail.ru

Исследовали фосфолипидный состав плазматических мембран 2-х видов хрящевых и 3-х видов костистых рыб Черного моря. Как показали исследования, около 70–80% от всех фосфолипидов мембран эритроцитов приходится на долю фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА). Причем, ФХ и ФЭА представлены как диацильной, так и плазмалогенной формах. Эти результаты хорошо согласуются с данными других исследователей (Bolis, Finger, 1979) показавшими, что ФХ и ФЭА являются основными структурообразующими фосфолипидами плазматических мембран эритроцитов как хрящевых, так и костистых рыб.

Содержание ФХ в мембранах эритроцитов исследованных рыб существенно различалось. Так, у морского кота (*Dasyatis pastinaca L.*) содержание этого фосфолипида в мембранах красных клеток крови составляло около 39%. У морской лисицы (*Raja clavata L.*), а также и у костистых рыб его количество было более высоким и составляло 50–60%. На долю плазмалогенной формы приходилось не более 2–5% ФХ, а 95–98% этого липидного субстрата были представлены диацильной формой.

Содержание ФЭА у хрящевых рыб составляло чуть больше 30%, у костистых рыб значение этого показателя было ниже, и варьировало в диапазоне 20–26%. Половину всего ФЭА у хрящевых, было представлено в плазмалогенном виде. У костистых рыб, почти весь ФЭА состоял из диацильной формы. Соотношение плазмалогенной и диацильной форм ФЭА у хрящевых рыб было более высоким (1,1–0,8), чем у костистых (0,2–0,06). Более низкое содержание плазмалогенной формы ФЭА у холодолюбивой м. лисицы может свидетельствовать в пользу гипотезы Рутса и соавторов (Driedzic et al. 1976) показавших, что при холодовой адаптации в тканях золотой рыбки (*C. auratus*) уменьшается содержание плазмалогенной формы ФЭА. Авторы полагают, исходя из модели Брокерхоф (Brockenhoff, 1974), что уменьшение плазмалогена действует на мембрану в том же направлении, что и увеличение индекса ненасыщенности.

Фосфолипидный состав плазматических мембран эритроцитов некоторых черноморских рыб
(% от суммы фосфолипидов)

Виды рыб	Относительное содержание (% суммы ФЛ)										
	ФХ			ФЭА				ФС	МФИ	СФМ	ФК
	плаз.	диац.	сумма	плаз.	диац.	сумма	П/Д				
М.лисица	1.2	49.5	50.7	13.6	17.7	31.3	0.8	6.1	5.7	3.8	0.8
М.кот	1.8	37.0	38.8	15.8	14.3	30.1	1.1	6.2	8.5	12.1	–
Скорпена	0.8	50.3	51.1	1.8	24.2	26.0	0.07	13.1	4.3	4.3	0.1
Ставрида	1.0	60.6	61.6	1.2	19.1	20.3	0.06	8.9	2.7	6.2	–
Смаида	2.1	58.0	60.1	3.8	16.6	20.4	0.2	8.7	6.6	3.0	–