

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ

1871



ИНБЮМ

15
—
1983

HYDROCARBON COMPOSITION OF CERTAIN BENTHIC ALGAE OF THE BLACK SEA

Summary

Content and qualitative composition of hydrocarbons were determined in algae from the Black Sea two bays varying in the pollution level. It is found that algae collected in a pure bay contain one or some alkanes of normal structure. Hydrocarbon composition of alga from a polluted bay differs by a more complete series of unbranched alkanes as well as of isoprenoids which are not peculiar to macrophytes.

УДК 577.472:591.145.2:632.95.024 (26)

А. И. ТАНЕЕВА

К МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ МЕДИ НА ЧЕРНОМОРСКИХ МОЛЛЮСКОВ

Для химических методов борьбы с обрастанием широко используются различные соединения меди. Действующим началом большинства медьсодержащих препаратов, применяемых в производстве красок, является медь. Для гидробионтов более токсичны хорошо растворимые в воде хлориды, нитраты и сульфаты меди.

Наши исследования преследовали цель изучения токсического действия сульфата меди на одного из наиболее распространенных организмов обрастания — черноморскую мидию.

Влияние меди на мидий не ограничивается непосредственно ее токсическим действием. Известно [7], что небольшие количества меди нужны организму. Медь у большинства беспозвоночных входит в состав основного дыхательного пигмента — гемоцианина. Исключение составляет класс двустворчатых моллюсков, в том числе мидия *Mytilus*, у которой гемоцианины не обнаружены [1]. Велика роль меди в проявлении ферментативной активности. Медь необходима для ферментов полифенолоксидазы, лакказы, оксидазы аскорбиновой кислоты и тирозиназы. Она образует комплексы с белками [10].

Из органических веществ, входящих в состав живых организмов, наиболее важными и сложными по своей структуре являются белки. Химические вещества, в том числе соли тяжелых металлов, необратимо изменяют нативные качества белков. К группе простых белков относятся альбумины и глобулины. Они встречаются во всех животных и растительных клетках, в том числе и в такой биологически важной среде организма, как плазма крови. Некоторые сведения относительно фракций белков у черноморских мидий и других моллюсков приводятся в работах [14, 18] и др.

Изучение фракций белков (альбуминов и глобулинов) и их свойств имеет большое значение для познания сущности как физиологических, так и патологических процессов, протекающих в живом организме. Изменение содержания фракционного состава белков крови связано с функциональной деятельностью печени. Печень участвует в освобождении крови от конечных продуктов распада и поступающих извне токсических веществ, поэтому нарушение нормального ее функционирования вызывает отравление и даже гибель организма. Белковые вещества печени беспозвоночных содержат 10% растворимых альбуминов; основная масса белков представлена глобулинами. Белки синтезируются в печени, слизистой оболочке кишечника и костном мозгу [7].

Большой интерес представляет определение церулоплазмينا — белка, содержащего медь и обладающего оксидазными свойствами.

Медь-оксидаза принимает участие в окислении таких биологически активных веществ, как серотонин, адреналин и норадреналин, а также в окислении токсических продуктов обмена полифенольного ряда. Полифенолоксидазы или тирозиназы — ферменты, содержащие медь и обладающие структурой, близкой к гемоцианинам. Церулоплазмин представляет собой белковый комплекс, в котором часть α_2 -глобулиновой фракции обратимо связана с медью сыворотки крови. Сведения о связи меди в крови с белками-купропротеинами у моллюсков относятся к XIX ст. [5]. Церулоплазмин принадлежит к группе животных лакказ — окислительных ферментов, катализирующих прямое окисление соответствующего субстрата атмосферным кислородом.

Установлено [4], что при патологических состояниях, сопровождающихся гиперкупремией, активность церулоплазмينا также повышается. Была выведена формула, которая отражает связь между содержанием меди в крови и оксидазной активностью церулоплазмينا.

Чтобы выяснить особенности токсического действия сульфата меди, были изучены некоторые биохимические показатели гемолимфы и печени мидий и сопоставлены с подобными более высокоорганизованных животных. Исследовали состояние белкового обмена по данным содержания водорастворимого белка в печени, общего белка и белковых фракций (альбумины и глобулины) гемолимфы. В сыворотке крови между альбуминами и глобулинами существует определенное соотношение — альбумино-глобулиновый коэффициент (показатель А/Г).

О наличии сульфата меди в организме судили по накоплению меди в органах [15] и содержанию церулоплазмينا в гемолимфе моллюсков.

Методы исследования. Объектом исследования служил пластинчатожаберный моллюск *Mytilus galloprovincialis* L.

Для опытов использовали мидий, собранных в районе Севастопольской бухты, средним весом 10,6 г, имеющих средний линейный размер 45—50 мм. В каждую банку с 8 л раствора меди на морской воде помещали по 12—16 мидий. Раствор и воду меняли ежедневно, температура воды была 16—18° С, в отдельных сериях — 22° С. Каждая группа подопытных животных имела свой контроль (животные, не подвергавшиеся воздействию меди). Для затравки животных использовали сульфат меди в концентрациях 0,001, 0,005, 0,01, 0,1, 1,0 и 5,0 мг/л в расчете на элементарную медь. Установлено, что свыше 30 сут моллюски живут в концентрациях 0,001 и 0,005 и 0,01 (нелетальные) и до 15 сут в концентрациях 0,1, 1,0 и 5,0 мг/л (летальные). Динамику физиолого-биохимических показателей исследовали через 2, 3 (острые), 6, 10, 12, 15 (подострые), 20, 30 и 45 сут (хронические опыты) после воздействия сульфата меди.

Содержание белковых фракций (миллиграмм/миллилитр) в гемолимфе мидий определяли по В. С. Асатиани [2], водорастворимый белок в печени (миллиграмм/миллилитр) — по Лоури [21], в гемолимфе — спектрофотометрическим методом (миллиграмм/миллилитр) [6], оксидазную активность церулоплазмينا гемолимфы (в условных единицах экстинкции) — по А. М. Петрунькиной [11]. Результаты обработаны статистически. Различия между контролем и опытом считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 представлены данные о содержании белка и белковых фракций гемолимфы мидий в динамике длительного (30 сут) отравления сульфатом меди в концентрациях 0,001, 0,005, 0,01 (нелетальные) и 0,1, 1,0, 5,0 мг/л (летальные) меди.

Из рис. 1 видно, что ежедневное выдерживание животных в течение 20 сут в растворах с нелетальными концентрациями меди не изменяет содержания общего белка гемолимфы. Определенные сдвиги происходят в содержании белковых фракций. За это время количество альбуминов уменьшается, а глобулинов увеличивается. К концу опыта альбумины достигают уровня контроля. Количество глобулинов при

концентрации 0,005 мг/л оставалось повышенным на 10%. Увеличивается и альбумино-глобулиновый коэффициент.

Содержание общего белка в гемолимфе подопытных животных статистически достоверно ($P < 0,05$) уменьшалось на 30-е сутки затравки при концентрации 0,01 мг/л.

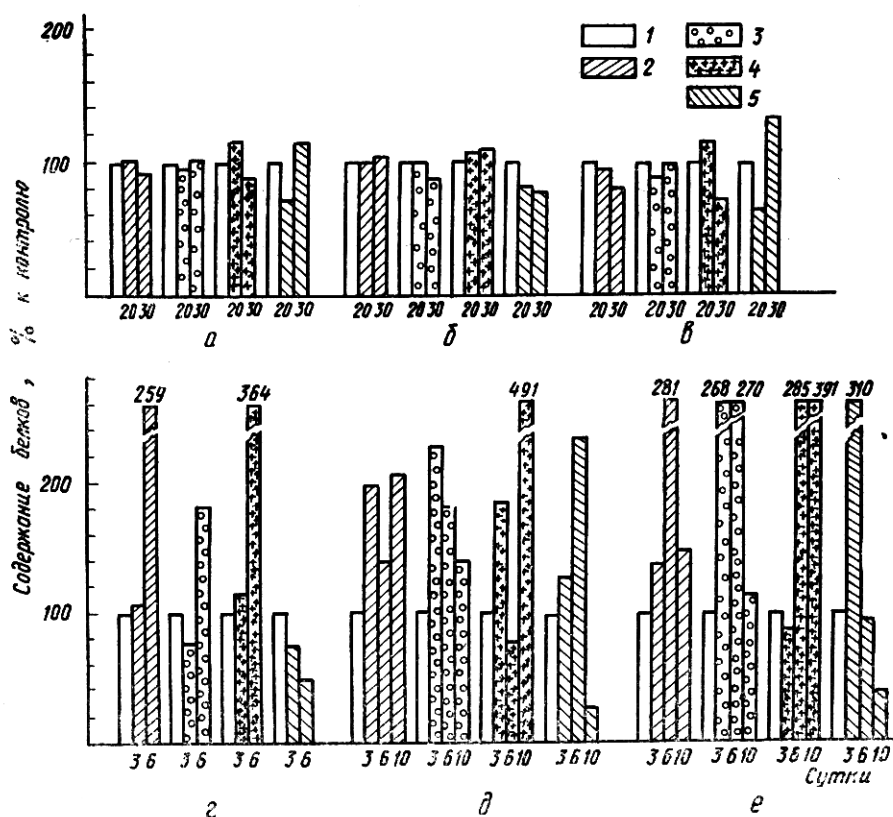


Рис. 1. Изменение содержания белков гемолимфы мидий при интоксикации сульфатом меди:

1 — контроль; 2 — общий белок; 3 — альбумины; 4 — глобулины; 5 — альбумино-глобулиновый коэффициент. Концентрация меди, мг/л: а — 0,001; б — 0,005; в — 0,01; г — 0,1; д — 1,0; е — 5,0.

При летальных концентрациях наблюдаемые изменения со стороны белковых фракций гемолимфы свидетельствуют об определенной тенденции к усилению белкового обмена в первые 3 сут отравления.

При концентрациях 1,0 и 5,0 мг/л увеличивалось количество общего белка и альбуминов. Увеличение глобулинов проявилось в меньшей степени по сравнению с альбуминами и составляло 115% при концентрации 0,1 мг/л и 185% при 1,0 мг/л меди относительно контроля.

На 6-е сутки интоксикации наступило максимальное увеличение общего белка, которое достигло 259—281%. Уровень альбуминов сохранялся прежним, а уровень глобулинов увеличивался в 2 раза. Снижился альбумино-глобулиновый коэффициент. Самый низкий коэффициент отношения альбуминов к глобулинам получен на 6—10-е сутки отравления. В концентрациях 0,1, 1,0 и 5,0 мг/л меди коэффициент равнялся соответственно 49,4, 28,8 и 39% по сравнению с контролем. Постепенно снижается содержание общего белка. Увеличение количества глобулинов достигает 491% при концентрации 1,0 и 391% при концентрации 5,0 мг/л относительно контроля.

Таким образом, дополнительное введение меди в морскую воду в количествах 0,1, 1,0 и 5,0 мг/л сопровождалось заметным увеличением глобулинов и снижением количества альбуминов и общего белка

гемолимфы двустворчатых моллюсков. Из опытов следует, что при интоксикации медью на первое место выступают расстройства обменных процессов. При этом изменяется фракционный состав белков гемолимфы мидий, что выражается в диспротеинемии с преимущественным увеличением глобулинов и уменьшением альбуминов. Перестройка фракционного состава белков под воздействием меди в высоких концентрациях можно объяснить взаимодействием яда с белками гемолимфы и денатурацией белковой молекулы. Изменение альбумино-глобулинового показателя гемолимфы под воздействием низких концентраций меди связаны с повреждающим действием на тканевые субстраты и с компенсаторными реакциями организма на это повреждение.

Степень изменения белков гемолимфы при отравлении медью в значительной мере связана с нарушением функции печени. Статистически достоверное снижение ($P < 0,05$) количества водорастворимого белка в печени мидий отмечено в концентрациях 0,01 и 0,1 мг/л соответственно на 19 (30-е сутки) и на 13% (10-е сутки). При этом диспротеинемия при затравке сульфатом меди наблюдалась за счет изменений в количестве альбуминов и глобулинов, т. е. фракций, которые синтезируются в печени [7]. Глобулинемия у мидий возникала в поздний период отравления, она обнаруживалась через 30 сут в низких концентрациях и через 6—10 сут эксперимента в высоких концентрациях (см. рис. 1). Это свидетельствует, очевидно, о повреждении печени. На избыточный синтез глобулинов при такого рода нарушении функции печени указывают авторы [16]. По-видимому, интенсивная аккумуляция меди моллюсками быстрое распределение ее и проникновение в органы приводит к повреждению печени [15]. Так, в печени отравленных моллюсков в концентрации 0,1 мг/л на 2-е сутки эксперимента было обнаружено в 1,86 раза больше меди, чем в контроле.

Уменьшение содержания общего белка, фракции альбуминов гемолимфы и водорастворимых белков печени можно считать результатом повреждающего действия меди на клетки печени. Можно полагать, что в основе нарушения указанных белков в печени и гемолимфе у мидий лежит угнетение синтеза белков за счет накопления меди в клетках печени. Считают, что при легкой степени недостаточности печени нарушается образование белков крови. Токсическое поражение печени протекает при изменении соотношения белковых фракций сыворотки крови [12, 13, 17]. Препараты меди после проникновения в клетку вступают в соединение с белками, вызывая коагуляцию протоплазмы с образованием в клетках соединений альбуминатного типа [3]. Полученные изменения в содержании белковых фракций гемолимфы у мидий не являются специфичными для действия сульфата меди. Подобного рода сдвиги у теплокровных наблюдали при интоксикации различными ядами. В условиях отравления атразином [8] и острой гипоксии у рыб отмечают снижение альбуминов и увеличение количества глобулинов [8, 20].

Церулоплазмин — медьсодержащий белок плазмы крови, регулирует обмен меди в организме высокоорганизованных животных. Синтез этого белка происходит в клетках печени [19].

Чтобы выяснить вопрос о возможности циркуляции ионов меди в организме при отравлении сульфатом меди, проведено сопоставление содержания меди в гемолимфе с активностью церулоплазмينا в ней; при этом принимали во внимание, что оба эти показателя характеризуют обмен меди у моллюсков. Оксидазная активность церулоплазмينا изменяется параллельно с изменением содержания меди в крови [4]. Полученные данные по содержанию меди в гемолимфе и печени, оксидазной активности церулоплазмينا гемолимфы у мидий при отравлении их сульфатом меди представлены в таблице.

Из таблицы следует, что через 2 сут после затравки содержание меди в гемолимфе повышалось на 122% по сравнению с контролем. На 12-е сутки отравления ее увеличение составило 150%.

«Содержание меди в гемолимфе и печени, оксидазная активность церулоплазмينا гемолимфы у мидий при отравлении их сульфатом меди

Концентрация меди, мг/л	Время за-трав-ки, сут	Накопление меди, мг/кг сухой массы зола				Активность церулоплазмينا, усл. ед. экстинкции	% к контролю
		Гемолимфа	% к контролю	Печень	% к контролю		
Контроль	2	17,54±1,04		50,00±5,07		0,33 ±0,01	
0,1	2	21,35±0,42	122	93,33±2,36	187	0,40 ±0,01	121,4
Контроль	12	33,33±5,71		61,54±2,38		0,138±0,005	
0,1	12	50,00±4,18	150	74,15±4,27	120,5	0,111±0,012	80,4
0,125	12	55,55±5,40	166,6	70,36±2,24	114,3	0,09 ±0,008	72,0

Увеличение содержания меди в печени за эти сроки составило соответственно 187 и 120,5%. Содержание меди в гемолимфе и печени оставалось повышенным с увеличением концентрации и времени действия яда.

После двухсуточной затравки оксидазная активность церулоплазмينا гемолимфы изменялась параллельно с изменением содержания меди в ней. На 12-е сутки количество меди в гемолимфе и печени снижалось, однако оно оставалось повышенным в 1,5 раза в гемолимфе и в 1,2 раза в печени. Содержание же церулоплазмينا за этот срок уменьшилось на 20—28% по сравнению с контролем.

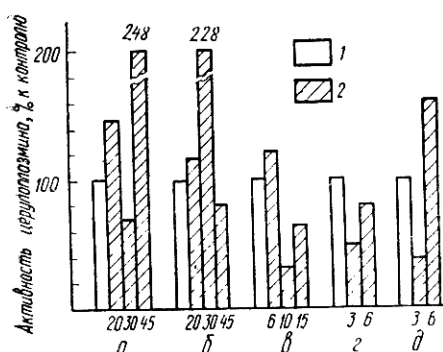


Рис. 2. Динамика изменения оксидазной активности церулоплазмينا гемолимфы мидий при интоксикации сульфатом меди;

1 — контроль, 2 — опыт. Концентрация меди, мг/л: а — 0,001; б — 0,01; в — 0,1; г — 1,0; д — 5,0.

и увеличивалась в 2,5 раза через 45 сут отравления при концентрации 0,001 мг/л. В 10 раз большая концентрация (0,01 мг/л) повышает оксидазную активность в 2,28 раза на 30-е сутки и снижает на 18,54% к концу опыта (45 сут). В концентрации 0,1 мг/л на 6-е сутки активность церулоплазмينا в гемолимфе увеличивалась на 21,38% и снижалась через 10 сут на 68,62% и через 15 сут на 37,1% по отношению к контролю. Под воздействием меди в концентрации 1,0 мг/л этот показатель снижался на 50, 60 и 19,75% соответственно через 3 и 6 сут отравления. В самой высокой концентрации 5,0 мг/л Cu^{++} снижение его активности на 3-и сутки достигало 61,2%.

Изменение оксидазной активности церулоплазмينا гемолимфы можно рассматривать, по-видимому, как проявление защитных свойств организма, направленных на предотвращение токсического действия избытка иона меди [9]. Повышение оксидазной активности церулоплазмينا у экспериментальных животных наблюдается, вероятно, тогда, когда процессы накопления и выведения меди в организме не сбалансированы.

При действии меди в концентрации 0,001 мг/л повышение активности церулоплазмينا было более продолжительным по сравнению с концентрацией 0,01 мг/л при длительной интоксикации. Через 20 сут

повышение его активности составило 146%, в дальнейшем снижение на 30-е сутки до 30% сменилось повторным увеличением на 45-е сутки отравления до 248% по сравнению с контролем. Предлетальное повышение уровня церулоплазмينا в гемолимфе можно объяснить усилением распада тканей. На увеличение активности церулоплазмينا под действием канцерогенов указывает А. И. Войнар [5].

Усиление оксидазной активности церулоплазмينا соответствовало увеличению содержания глобулинов в гемолимфе подопытных животных. Изменения показателей рассматривается как проявление защитной реакции организма и активизации окислительных процессов.

Оксидазная активность церулоплазмينا гемолимфы может быть использована в качестве объективного показателя для оценки функционального состояния организма.

Вывод. Медь нарушает синтез белков в печени, что выражается в диспротеинемии за счет снижения альбуминов и увеличения глобулинов и уменьшения общего белка в гемолимфе и водорастворимого белка в печени.

1. Алякринская И. О. Гемоглобины и гемоцианины беспозвоночных. — М.: Наука, 1979. — 154 с.
2. Асатиани В. С. Определение альбумина по Кейзеру. — В кн.: Новые методы биохимической фотометрии. — М.: Наука, 1965. — 542 с.
3. Берим Н. Г., Соколовская Р. Е. Токсическое действие препаратов меди на грибы. — В кн.: Химическая защита растений. М.: Химия, 1955, с. 53—55.
4. Борисова М. А. Активность церулоплазмينا как показателя обмена меди при болезнях печени. — Лаб. дело, 1966, 4, с. 214—215.
5. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. — М.: Высш. шк., 1960. — 543 с.
6. Гаузе Г. Г. Методы количественного определения белка. — В кн.: Методы биологии развития. М.: Наука, 1974, с. 321—322.
7. Кизеветтер И. В. Биохимия сырья водного происхождения. — М.: Пищ. пром-сть, 1973. — 422 с.
8. Комаровский Ф. Я. О некоторых патоморфологических изменениях у рыб, вызванных влиянием синезеленых водорослей. — Гидробиол. журн., 1970, 2, № 6, с. 131—133.
9. Капланский С. Я. Молекулярная патология обмена аминокислот. — В кн.: Молекулярные основы патологии. М.: Медицина, 1966, с. 13—14.
10. Проссер Л. П., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. — М.: Мир, 1967. — 766 с.
11. Петрунькина А. М. Определение оксидазной активности сыворотки по Равину. — В кн.: Практическая биохимия. Л.: Медгиз, 1961, с. 357—358.
12. Рафиков Х. С. Материалы к механизму токсического действия трихлорфенолята меди: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Уфа, 1970. — 21 с.
13. Роцин А. В. Токсикология металлов и профилактика профессиональных заболеваний. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1974, 19, № 2, с. 186—192.
14. Степанюк И. А. Биохимический состав донных беспозвоночных северо-западной части Черного моря. — В кн.: Биохимия морских организмов. Киев: Наук. думка, 1967, с. 101—117.
15. Танеева А. И., Манько Ю. В. Влияние меди на черноморских мидий в лабораторных условиях. — Биология моря, Киев, 1979, вып. 48, с. 92—96.
16. Токсические (профессиональные) поражения печени / Е. М. Тареев, Н. М. Кончаловская, Т. Б. Попова и др. — В кн.: Успехи гепатологии. Рига: Зинетне, 1966, с. 239—255.
17. Тугаринова В. Н., Миклашевский В. С. Изучение экскреторной функции печени с помощью пробы нагрузкой бромсульфалеином в модификации Тугариновой и Миклашевского. — Гигиена и санитария, 1966, № 11, с. 55—56.
18. Чухчин В. Д. Функциональная морфология рапаны. — Киев: Наук. думка, 1970. — 138 с.
19. Шапошников А. М., Зубжицкий Ю. Н., Муха Г. В. Органная и внутриклеточная локализация биосинтеза церулоплазмينا. — Биохимия, 1968, 33, вып. 3, с. 629—633.
20. Barnoud R. Recherches sur la protidemie de la tanche soumise a l'asphyxie par confinement. I. Caracteres de la proteinemie. — J. Physiol., 1963, 55, N 2, p. 110—111.
21. Lowry O. H., Resbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the folinphenol reagents. — J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.

Ин-т биологии южных морей им. А. О. Ковалевского АН УССР,
Севастополь

Получено
30.12.81

ON MECHANISM OF COPPER EFFECT
OF THE BLACK SEA MOLLUSCS

Summary

Copper disturbs protein synthesis in the liver, which is manifested in disproteinemia due to decrease in albumins and an increase in globulins as well as due to a fall in the amount of total protein in hemolymph and water-soluble protein in the liver.

УДК 594.933(265.54.04)

Ю. Е. МОРДВИНОВ

О МАНЕВРЕННОСТИ В ВОДЕ
ЗОЛОТОВОЛОСОГО ПИНГВИНА
(EUDYPTES CHRYSOLOPHUS BRANDT)

Среди птиц, экологически связанных с водой, пингвины (отр. Sphenisciformes) являются наиболее приспособленной группой. Они могут изменять направление движения в воде, резко подниматься вверх и опускаться вертикально вниз, внезапно бросаться в стороны, мгновенно останавливаться, находиться в неподвижном состоянии на поверхности воды и в толще; способны при броске развивать значительную скорость — до 10 м/с [3, 16 и др.].

В настоящее время имеется сравнительно большое число работ, в которых авторы рассматривают механизм выполнения маневров различными водными животными — рыбами, ластоногими, китообразными — в связи с их внешним строением [1, 2, 4, 6, 10, 12, 15 и др.]. Особенно хорошо данный вопрос исследован на рыбах, однако подобных сведений по водным птицам очень мало. Механика поворота некоторых водоплавающих птиц при движении на поверхности воды и в ее толще отчасти освещена в работах [9, 11, 13, 14, 17 и др.]. Что же касается вопроса маневрирования в воде пингвина, то такие работы, насколько известно, в литературе отсутствуют.

Цель настоящей работы — изучить механизмы совершения маневров в вертикальной и горизонтальной плоскостях в толще воды золотоволосого пингвина, установить роль конечностей и корпуса птицы при маневрировании, а также количественно оценить динамическую устойчивость пингвина при поворотах.

Материал и методика. Материал собран автором во время экспедиции XI рейса научно-поискового судна «Скиф» (АзЧерНИРО) в район антарктических вод в 1976—1977 гг. Подопытные взрослые птицы не были травмированы и находились в хорошем состоянии. На борту судна был установлен гидролоток длиной 6,0 м и площадью поперечного сечения $0,6 \times 0,6$ м, в котором свободно плавали пингвины. Осуществлялись визуальные наблюдения за плаванием птиц на поверхности и в толще воды. Проводилась киносъемка различных моментов движения пингвинов на 35-миллиметровую киноплёнку кинокамерой КСР-1М со скоростью 30 кадров в секунду. Противоположная съемке стенка и дно гидролотка для увеличения контрастности равномерно окрашивались в светлый тон. На дне лотка и его стенке была нанесена масштабная сетка. При рассмотрении вопроса о маневрировании в толще воды золотоволосого пингвина представляет интерес цифровое выражение динамической устойчивости птицы, что дает возможность охарактеризовать развитие тех или иных приспособлений с количественной стороны. Для этого мы использовали методику [1, 2], применявшуюся при изучении маневренности рыб. Позже