

ВНИМАНИЕ!

Сотрудниками лаборатории экологической биохимии Черниговского

пединститута разработаны методики для определения критериев прогнозирования зимовки молоди карпа.

Запросы направлять по адресу: 250013, г. Чернигов, ул. Свердлова, 58, пединститут, кафедра химии.

Ответственный за издание зам. директора ЦНТЭИ А. П. Гончаренко

Редактор Л. С. Осипович

Подписано к печати 19.10.93. Формат 60x84 1/16. Бумага тип.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 0,23. Уч.-изд. л. 0,16.

Тираж 200 экз. Заказной. **Зак. 535.**

Подразделение ОП ЧНЦНТЭИ, 250000, г. Чернигов, ул. Урицкого, 39.

УДК 639.311 + 574.64 + 546.171.1

ВГАСНГК 70-94 94



Украинская
информационная корпорация "УкрНТИ"
Черниговский центр
научно-технической и экономической
информации

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК

№ 28_93

Чернигов

1993

НОВЫЕ МЕТОДЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ АММИАЧНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ

Загрязнение водоемов аммиаком /аммонием/ в результате значительного сброса неочищенных сточных вод - коммунальных, промышленных и сельскохозяйственных производств, а также из-за интенсивной биодеструкции органических веществ в зоне действия последствий аварии на ЧАЭС в настоящее время является одной из важных экологических проблем. Избыток аммиака в воде также является проблемой рыбоводства из-за высокой плотности посадки рыб в зимовальных прудах. Кроме того, установлено, что любое токсичное загрязнение воды вызывает в организме гидробионтов интенсивную деградацию азотсодержащих веществ и накопление аммиака в тканях в опасных концентрациях. Для контроля за содержанием аммиака в водной среде и организме промыслово значимых гидробионтов, как правило, применяются точные и хорошо воспроизводимые химические методы /фенол-гипохлоритный, Несслера/. Однако уровень содержания аммиака не является критерием его биологического действия на животных. Во-первых, различные организмы имеют различную чувствительность к токсиканту /разные

© Черниговский МТЦНТИ, 1993

пороговые уровни; во-вторых, токсичность аммиака зависит от ряда физико-химических факторов среды: температура, pH, гидрохимический состав среды и др. Аммиак может находиться в двух формах: ионизированной - NH_4^+ и неионизированной - NH_3 (более токсичной). Под действием среды равновесие реакции $\text{NH}_4^+ \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{H}^+$ может сдвигаться - при высоких суммарных концентрациях вещества, но преобладании ионизированной формы, он может быть малотоксичен и наоборот.

В связи с этим проблема индикации аммиачного токсикоза методом химического мониторинга не всегда адекватно отображает биологическую опасность токсиканта. Известные методы биондикации, основанные, как правило, на морфофизиологических показателях гидробионтов, констатируют уже видимые изменения в организмах (повреждения, вызывающие летальный исход. Более важной является биондикация на уровне отклонений, т.е. начальных изменений, которые могут быть адаптивными и неопасными для организма.

В лаборатории экологической биохимии Черниговского пединститута определены некоторые критерии опережающего прогноза опасности аммиачного действия. Установлено, что адаптивные механизмы на действие аммиака у гидробионтов выражаются глубокими молекулярно-метаболическими биохимическими перестройками. У водных животных включаются специфические только для данного токсиканта метаболические системы, происходит синтез высокоспецифических белков, осуществляющих своеобразную направленность обменных реакций. При этом активируется ряд ферментов связывания аммиака: MADP -зависимая глутаматдегидрогеназа (в мышцах, печени и мозге); глутаминсинтетаза (в мышцах, печени, мозге и кишечнике); глутаминаза (в жабрах и почках); ряд ферментов гликолитического пути окисления углеводов и цикла трикарбоновых кислот. Отмечено значительное увеличение в печени, мышцах, крови и кишечнике гидробионтов содержания амидов (глутамин, аспарагин), а также амидированности белков.

Высокоспецифичный ответ на аммиачный токсикоз найден для основного фермента связывания аммиака - глутаминсинтетазы (глутамат + $\text{NH}_3 \xrightarrow[\text{ATP}]{\text{Mg}^{2+}}$ глутамин + $\text{ADP} + \text{P}$).

В зависимости от концентрации аммиака в среде в мышцах и печени рыб изменяется спектр изоферментов глутаминсинтетазы. При низких концентрациях (до 0,05 мг/л) в тканях присутствует одна изоформа электрофоретически менее подвижная с большой молекулярной массой, локализована в митохондриях клеток. При концентрации аммиака от 0,05 до 0,1 мг/л синтезируется дополнительная адаптивная форма фермента (элек-

трофоретически более подвижная с меньшей молекулярной массой, локализована в цитоплазме). Дальнейшее увеличение содержания аммиака вызывает репрессию синтеза цитоплазматической формы фермента. При этом митохондриальная форма остается. Такие изменения характерны только для аммиачного действия. Поэтому электрофоретический спектр фермента является высокоспецифичным биотестом, позволяющим прогнозировать по его адаптивному отклонению не только аммиачное загрязнение среды, но и отравление организма.

Другим высокоспецифичным тестом организма гидробионтов на токсичное действие среды является активирование у них глицероаланинового цикла, заключающегося в связывании пируватом аммиака в аланин в мышцах, транспорте аланина в печень с последующим переаминированием на 2-оксоглутурат, выведением аммиака и синтезом из пирувата глицерола. Активацию данного метаболитического цикла, отделимые параметры которого определяются доступными методами, также можно использовать для индикации аммиачного действия.

Кроме того, выявлены характерные особенности поведения гемоглобина крови рыб при аммиачном токсикозе. Установлено смещение кривой диссоциации гемоглобина и показателя P_{50} кривых кислотной /эритропоз/ и щелочной денатурации, а также увеличение амидированности этого белка и изменение изоспектра его фракций и форм (метгемоглобин, оксигемоглобин, неокисленный гемоглобин).

Названные способы оценки и критерии токсичности аммиака для рыб позволяют с высокой точностью оценить биологическую опасность аммиачного загрязнения. Большинство методик исследования указанных показателей легко воспроизводимы и доступны для лабораторий, рыбокомбинатов, а также системы учреждений охраны природы и вод.

Описание методики можно запросить по адресу: 250038, г. Чернигов, ул. Свердлова, 53, Черниговский пединститут, кафедра химии.

Материал поступил 11.10.93.

В.В. Грubbинко, канд. биол. наук
А.А. Жиденко, канд. биол. наук